

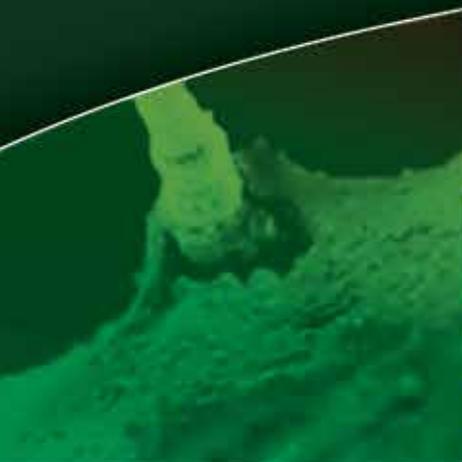
Volume 16  
Number 2  
Mar-Apr 2012  
ISSN 1517-5693

# 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*

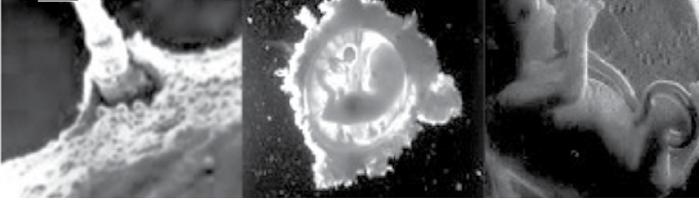
**MerckSerono**

SAC Merck Serono: **0800.113320**

Anúncio veiculado em Maio de 2011.

Merck Serono é uma divisão da Merck.

**MERCK**



# JBRA

## Assisted Reproduction

---

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

**ISSN: 1517-5693 - V. 16 | nº2 | Mar-Apr / 2012**

---

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

Compendex

PERIODICA (México)

EMBASE

Plataforma SCImago Journal & Country Rank

Excepta Médica

PORTAL DE PERIÓDICOS DA CAPES

Geobase

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: [jornalsbra@cmb.com.br](mailto:jornalsbra@cmb.com.br)  
Fone: (21) 2430-9060  
Fax: (21) 2430-9070



**Produção Editorial e Gráfica:**  
AlamTec Ciência Médica Editorial LTDA  
Rua das Roseiras, 464  
CEP 03144-090 - São Paulo-SP  
Tel/Fax: (11) 2341-8045  
e-mail: [alamtec@br.inter.net](mailto:alamtec@br.inter.net)  
[www.alamtec.com.br](http://www.alamtec.com.br)

## CORPO EDITORIAL – EDITORIAL BOARD

### Editor – Editor

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

### Editor Adjunto – Assistant Editor

Paulo Franco Taitson (ARQ / PUCMG Brasil)

### Consultor Editorial – Editorial Consultant

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

### Editores Associados – Associate Editors

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

João Batista A Oliveira (CRH SP Brasil)

Selmo Geber (Origen / UFMG Brasil)

Weydson Barros Leal (UFPE Brasil)

## CONSULTORES CIENTÍFICOS –

### Scientific Reviewers

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

Agnaldo Lopes da Silva Filho (UFMG Brasil)

Alessandro Schuffner (Conceber PR Brasil)

Álvaro Petracco (Fertilitat/ PUC RS Brasil)

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

Anne R Greenlee (OHSH EUA)

Antonio Requena (IVI Madrid Espanha)

Aroldo Camargos (UFMG Brasil)

Bela Zausner (Gênese BA Brasil)

Bruno Scheffer (IBRRA MG Brasil)

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

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

Cesar Cafatti (Clin Los Dominicos Chile)

Claudia Borrero (Conceptum Colombia)

Claudia G Petersen (CRH SP Brasil)

Cláudio Chillik (CEGYR Argentina)

Condesmar Marcondes Filho (Nucl Santista  
RH SP Brasil)

David Vantman (CER Chile)

Dirceu H Mendes Pereira (Profert SP Brasil)

Eduardo Pandolfi Passos (SEGIR / UFRGS RS Brasil)

Ernesto Gallardo Lozano (IMER México)

Fabio Firmbach Pasqualotto (Conception /  
UCS RS Brasil)

Fernando Zegers-Hochschild (Clin Las Condes Chile)

Francisco Risquez (Clin La Trinidad Venezuela)

Francisco J.B. Sampaio (UERJ Brasil)

Humberto Ikuo Shibasaki (UFMT Brasil)

Jorge Blaquier (Fertilab Argentina)

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

Joaquim Roberto C Lopes (Cenafert BA Brasil)

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

Juan Manuel Montoya (Conceptum Colombia)

Ivan Valencia Madera (CEMEFES Ecuador)

Karen Sermon (VUB Bélgica)

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

Leticia Urdapilleta (Cegyr Argentina)

Lídio Jair Ribas Centa (Androlab/ UFPR Brasil)

Luiz Fernando Dale (C Medicina RJ Brasil)

Madalena Caldas (GERAR PE Brasil)

Marcos Sampaio (Origen MG Brasil)

Mariângela Badalotti (Fertilitat PUC RS Brasil)

Marilena Correa (IMS-UERJ Brasil)

Mario Cavagna (H Perola B/ CRH SP Brasil)

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

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

Paulo Serafini (Huntington/ USP SP Brasil)

Ricardo Melo Marinho (FCMMG MG Brasil)

Roberta Wonchockier (Projeto Alfa SP Brasil)

Roberto Coco (Fecunditas Argentina)

Rose Marie M Melamed (Fertility SP Brasil)

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

Silvana Chedid Chedid-Grieco (SP Brasil)

Sergio Reis Soares (IVI Lisboa Portugal)

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

Inovação Recombinante.

# Pergoveris

(alfafolitropina e alfalutropina)

Precisão,  
pureza e  
consistência  
na associação  
das duas  
gonadotrofinas<sup>1,2</sup>



**Referências bibliográficas:** 1. Basset R.M. et al. Continued improvements in the quality and consistency of follitropin alfa, recombinant human FSH. Reproductive BioMedicine Online. 2005; 10(2): 169-177(9). 2. Gervais A, et al. Glycosylation of recombinant gonadotrophins: characterization and batch-to-batch consistency. Glycobiology 2003; 13(3):179-189.

Bula do produto no interior desta publicação. Destinado exclusivamente à classe médica. Veiculado em junho de 2012.

Inovação Recombinante.

# Pergoveris

(alfafolitropina e alfalutropina)

**Pergoveris®** alfafolitropina (r-hFSH) 150UI (11µg) alfalutropina (r-hLH) 75UI (3µg). USO SUBCUTÂNEO USO ADULTO **Indicações:** Pergoveris® é indicado para a estimulação do desenvolvimento folicular em mulheres com insuficiência grave de LH e FSH. Nos ensaios clínicos, estas pacientes foram definidas por um nível sérico de LH <1,2 UI/L. **Contra-indicações:** Hipersensibilidade à alfafolitropina, alfalutropina ou a qualquer dos excipientes; tumores do hipotálamo ou da hipófise; hipertrofia ou cistos ovarianos não originados por doença do ovário policístico; hemorragias ginecológicas de etiologia desconhecida; carcinoma do útero, ovário ou mama e nas situações em que não é possível a obtenção de uma resposta efetiva (insuficiência ovariana primária, malformações dos órgãos sexuais incompatíveis com gravidez e fibromiomas uterinos incompatíveis com gravidez). **Cuidados e Advertências:** Na mulher, a utilização segura e eficaz de Pergoveris® requer monitorização ecográfica regular da resposta ovariana, de preferência em conjunto com a determinação dos níveis séricos de estradiol. Deve ser utilizada em mulheres a dose mínima eficaz em relação ao objetivo do tratamento. As pacientes devem ser avaliadas para as seguintes situações, devendo ser instituído um tratamento específico apropriado: hipotireoidismo; insuficiência da supra-renal; hiperprolactinemia; tumores do hipotálamo ou da hipófise. A síndrome de hiperestimulação ovariana (OHSS) é uma situação clínica distinta da hipertrofia ovariana assintomática, podendo se manifestar em graus crescentes de gravidade. Uma resposta excessiva ovariana ao tratamento com gonatropinas raramente origina uma OHSS, exceto quando se administra hCG para induzir a ovulação. Portanto, em casos de hiperestimulação ovariana é prudente não administrar hCG e recomendar à paciente que se abstenha de ter relações sexuais ou utilize métodos anticoncepcionais de barreira, durante pelo menos 4 dias. Em mulheres submetidas à indução da ovulação, a incidência de gravidez e nascimentos múltiplos é aumentada quando comparada à concepção natural. A maioria das concepções múltiplas é de gêmeos. Gravidez e aleitamento: Pergoveris® não deve ser administrado durante a gravidez ou o aleitamento. **Reações adversas:** Cefaléia, exacerbação de asma, dor abdominal e sintomas gastro-intestinais, tromboembolismo normalmente associado com síndrome de hiperestimulação ovariana grave (OHSS), reações no local da injeção. Reações alérgicas sistêmicas leves (eritema cutâneo, edema, urticária, dificuldades respiratórias) e graves (reações anafiláticas). Cistos ovarianos, dor mamária, dor pélvica, OHSS, torção do ovário. **Interações medicamentosas:** Pergoveris® não deve ser administrado com outros medicamentos na mesma seringa, exceto com alfafolitropina. **Posologia:** O tratamento deve ser adaptado à resposta individual da paciente. Um regime posológico recomendado inicia-se com a administração diária de um frasco de Pergoveris®. Caso um aumento da dose de FSH seja considerado apropriado, o ajuste da dose deve ser efetuado preferencialmente após intervalos de 7-14 dias e com incrementos de 37,5 a 75 UI, utilizando um medicamento contendo alfafolitropina. Pode ser aceitável prolongar a duração da estimulação em qualquer um dos ciclos por até 5 semanas. Quando se obtém uma resposta ótima, deve ser administrada uma única injeção de 5.000 UI a 10.000 UI de hCG, 24 a 48 horas após a última injeção de Pergoveris®. Recomenda-se que a paciente tenha relações sexuais no dia da administração de hCG e no dia seguinte. Caso se obtenha uma resposta excessiva, o tratamento deve ser interrompido e hCG não deve ser administrado. O tratamento deve ser reiniciado no ciclo seguinte, com uma dose de FSH inferior à do ciclo anterior. **Cuidados de conservação:** Prazo de validade: 24 meses. Este medicamento é de uso único e deve ser utilizado imediatamente após abertura e reconstituição. Conservar em temperatura entre 15 e 30°C. Conservar na embalagem original para proteger da luz. VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA. SAC Merck Serono: 0800-113320. Registro MS: 1.0089.0360.

**Contraindicação:** carcinoma do útero, ovário ou mama. **Interação medicamentosa:** Pergoveris® não deve ser administrado com outros medicamentos na mesma seringa, exceto com alfafolitropina.

AO PERSISTIREM OS SINTOMAS, O MÉDICO DEVERÁ SER CONSULTADO.

Destinado exclusivamente à classe médica. Veiculado em junho de 2012.

---

**DIRETORIA DA SBRA - 2011/2012**


---

**PRESIDENTE**

Adelino Amaral Silva

**VICE PRESIDENTE**

Edson Borges Júnior

**SECRETÁRIO**

Paulo Franco Taitson

**TESOUREIRA**

Hitomi Miura Nakagava

---

**DEPARTAMENTO DE PUBLICAÇÕES**


---

**EDITORA**

Maria do Carmo Borges de Souza

**EDITOR ADJUNTO**

Paulo Franco Taitson

e-mail: jornalsbra@cmb.com.br

---

**Diretoria da REDLARA - 2011-2014**


---

**DIRETORA EXECUTIVA**

Maria do Carmo Borges de Souza

Brasil

E-mail: direjecutiva@redlara.com

mariadocarmo@cmb.com.br

**VICE DIRETOR EXECUTIVO**

Roberto Coco

Argentina

E-mail: robertococo@fecunditas.com.ar

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

Carlos Félix Arce

México

carfelar@infosel.net.mx

**REGIÃO:** Bolívia, Chile & Peru

Fabrizio Vizcarra Alosilla

Peru

favizcarraredlara@gmail.com

**REGIÃO:** Colômbia, Equador & Venezuela

María Teresa Urbina

Venezuela

E-mail: mturbina@hotmail.com

**REGIÃO:** Argentina, Paraguai & Uruguai

Gabriel Fiszbajn

Argentina

E-mail: fiszbajn@cegyr.com

**REGIÃO:** Brasil

Selmo Geber

Brasil.

E-mail: selmogeber@origen.com.br

**SECRETÁRIA EXECUTIVA**

Marina Diaz

México

E-mail: info@redlara.com

## INFORMAÇÕES GERAIS

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

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

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

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

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

**6.** Artigos de pesquisas clínicas (clinical trials) devem ser registrados em um dos Registros de Ensaios Clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde e pelo International Committee of Medical Journal Editors (por exemplo, [www.actr.org.au](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 nítida), ou por correio (ver instruções de envio mais adiante). Todas as figuras enviadas pelo correio devem ser identificadas no verso com o uso de etiqueta colante contendo o nome do primeiro autor, o número da figura e uma seta indicando o lado para cima.

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

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

## ENVIO/SUBMISSÃO DE ARTIGOS

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

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

## GENERAL INFORMATION

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## TYPES OF PUBLISHED ARTICLES

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

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

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

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

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

## PREPARATION OF ORIGINAL PAPERS

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

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

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

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

## TITLE PAGE

The title page should carry the following information:

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

## RESUMO AND ABSTRACT

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

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

## ACKNOWLEDGEMENTS

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

## REFERENCES

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

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

### 1. Journal Article

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

### 2. Book

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

### 3. Book Chapter

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

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

### 4. Electronic Journal Article

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

### 5. Article published in the Internet:

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

### 6. Site

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

### 7. Software

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

## TABLES AND FIGURES

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

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

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

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

Graphs should be two-dimensional only.

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

## MAILING/SUBMISSION OF ARTICLES

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

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

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

## INFORMACIONES GENERALES

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## TIPOS DE ARTÍCULOS PUBLICADOS

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

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

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

**Relatos de caso.** Artículos que representan datos descriptivos de uno o más casos, explorando un método o problema a través de ejemplo(s). Los casos elegidos deben ser de gran interés, con enfermedad o evolución anormal o sometidos a tratamientos inusitados o alternativos. Pueden involucrar humanos o animales y deben presentar las características del individuo en estudio (sexo, edad, etc.). Deben contener: hoja frontal, resumen y palabras-clave, *abstract* y *keywords*, texto (dividido en las 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 sustancia y el fabricante pueden ser informados entre paréntesis.

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

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

## HOJA FRONTAL

La hoja frontal debe contener:

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

## RESUMEN Y ABSTRACT

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

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

## AGRADECIMIENTOS

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

## REFERENCIAS

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

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

### 1. Artículo de periódico

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

### 2. Libro

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

### 3. Capítulo de libro

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

### 4. Artículo de revista electrónica

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

### 5. Artículo publicado en Internet:

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

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

---

**Editorial****Reproductive Health and Research at WHO**

Maria do Carmo B. Souza and Paulo F. Taitson .....75

---

**Artigo Original****Efeito vascular do acetato de medroxiprogesterona nas artérias uterinas: ensaio clínico randomizado, triplo-cego, placebo controlado com estudo dopplervelocimétrico**

Marco Aurélio Martins de Souza, Bruno Veloso de Souza, Selmo Geber .....76

**A personalidade jurídica no embrião humano: personalidade normativa e ontologia**

Maria de Fátima Freire de Sá, Diogo Luna Moureira .....80

**Vasectomia no sistema público de saúde de Birigui, São Paulo, Brasil**

Fábio Castilho Navarro .....86

**Viabilidade de embriões de camundongo (Mus musculus) frescos e vitrificados mantidos por tempos diferentes a temperatura ambiente**

Vinicius Bonato da Rosa, Vera Lucia Langaro Amaral, Martina Cordini, José Augusto, Lucca Neto, Alessandro Schuffner, Marcel Frajblat .....91

**A morfologia da Reprodução no JBRA**

Alexia Sampaio Teixeira, Adriana Simões Ferreira, Paulo Franco Taitson, Adelino Amaral Silva, Maria do Carmo Borges de Souza .....94

**Avaliação da atividade antioxidante da castanha-do-pará nos parâmetros espermáticos de camundongos**

José Augusto Lucca Neto, Vinicius Bonato da Rosa, Vera Lucia Langaro Amaral, Martina Cordini, Alessandro Schuffner, Marcel Frajblat .....97

---

**Artigo de Revisão****Viabilidade do CGH (Comparative Genomic Hybridization) como tecnologia de análise genética embrionária**

JuMonique Braga; Melissa Cavagnoli; Raquel Vitorino; Marcello Valle; Marcos Sampaio; Selmo Geber .....103

**Correlação entre os dismorfismos oocitários e os resultados da fertilização in vitro**

Ana Márcia de Miranda Cota, Claudia G Petersen, Joao Batista A Oliveira, Ana L Mauri, Fabiana C Massaro, Mario Cavagna, Ricardo LR Baruffi, José G Franco Jr .....108

---

**Relato de Caso****Primer embarazo en Panamá y Centroamérica por técnica de Vitrificación Ovocitaria y posterior ICSI**

Dr. Camilo Alleyne, Dr. Juan Carlos López, Lic. Miguel Córdoba .....113

---

**Eventos**

.....118

## Reproductive Health and Research at WHO

We have just been informed from Dr. Flavia Bustreo, Assistant Director-General of Family, Women's and Children's Health (June, 6th) that WHO finished a selection for a very important position: Professor Marleen Temmerman was appointed to begin in mid-October this year as the new Director for WHO's Department of Reproductive Health and Research. She is a Belgium medical doctor from Ghent University. Her profile tells us that she also holds a diploma in tropical medicine from the Institute of Tropical Medicine, Antwerp; an MPH on epidemiological, statistical and operational methods applied in public health; a PhD in obstetrics and gynaecology; and a diploma in management.

She has been involved in improvements in health care of disadvantaged populations and she has an impressive work for the reproductive and sexual health and rights of women. She became a champion for health care during her career—a pioneer for women's health and one of the few clinicians who have managed to successfully combine research, medicine and politics to improve health care. She thus brings a unique blend of clinical, research and parliamentary experience to WHO.

Currently, Professor Temmerman is active in a number of fields. She is a member of the independent Expert Review Group, the principal review group on the UN Secretary-General's Strategy on Information and Accountability for Women and Children; Senator in the Belgian Parliament; Director of ICRH; head of the Obstetrics and Gynaecology Department and member of the board of directors for the Ghent University Hospital.

Author of over 400 scientific papers and 20 books in three languages, with a wealth of international experience behind her, she will lead the work of the Department of Reproductive Health and Research and the UNDP/UNFPA/WHO/World Bank Special Programme of Research, Development and research training in human reproduction (HRP).

Good luck, Professor!

**Maria do Carmo Borges de Souza and Paulo Franco Taitson**

Editors

# Efeito vascular do acetato de medroxiprogesterona nas artérias uterinas: ensaio clínico randomizado, triplo-cego, placebo controlado com estudo dopplervelocimétrico

Medroxyprogesterone acetate vascular effect in uterine artery: randomized triple blinding placebo control trial with Doppler flow study.

Marco Aurélio Martins de Souza<sup>1</sup>, Bruno Veloso de Souza<sup>2</sup>, Selmo Geber<sup>3</sup>

<sup>1</sup>UNIMONTES - Universidade Estadual de Montes Claros - MG

<sup>2</sup>Acadêmico de Medicina da Faculdade de Medicina da UFMG -MG

<sup>3</sup>Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UFMG-MG

## RESUMO

**Objetivo:** avaliar o efeito vascular do acetato de medroxiprogesterona nas artérias uterinas.

**Métodos:** realizou-se ensaio clínico, prospectivo, longitudinal, randomizado, placebo controlado, triplo-cego, com 216 mulheres na menopausa, com 108 usando o princípio ativo acetato de medroxiprogesterona e 108 utilizando o placebo para formar o grupo-controle. No grupo A, das 108 mulheres que iniciaram o estudo, 92 retornaram após 30 dias para a realização do exame e do grupo B retornaram 93. Foram estudados através da Dopplervelocimetria os vasos uterinos, determinando-se o índice de resistência (IR), índice de pulsatilidade (IP) e relação sístole/diástole (S/D). As aferições foram feitas antes da medicação e 30 dias após.

**Análise dos dados:** foi utilizado o teste t de Student para amostras independentes na comparação das médias entre os grupos e para amostras dependentes na comparação entre as médias dentro do mesmo grupo.

**Resultados:** a comparação das características das mulheres nos dois grupos mostrou semelhanças entre elas em relação a: idade, tempo de menopausa, índice de massa corporal, pressão arterial, paridade e frequência cardíaca. O grupo que usou o princípio ativo acetato de medroxiprogesterona apresentou nas artérias uterinas, elevação dos índices de resistência, índice de pulsatilidade e relação sístole/diástole. No grupo-controle não houve aumento dos índices avaliados no segundo exame 30 dias após. **Conclusão:** o acetato de medroxiprogesterona possui efeito vasoconstritor nas artérias uterinas.

**Palavras-chave:** Acetato de medroxiprogesterona. Artéria uterina. Dopplervelocimetria.

## ABSTRACT

**Objective:** to evaluate the vascular effect of acetate of medroxyprogesterone in the uterine artery.

**Methods:** a controlled clinical trail, prospective, longitudinal, randomized, triple blind placebo controlled study, with 216 women in the menopause. 108 had been placed to use acetate of medroxyprogesterone and 108 had been placed to use placebo formed group control. In the A group of the 108 patients who had initiated the study, 92 had returned 30 days latter, for the accomplishment from the examination; and 93 in B group returned. We had studied the uterines arteries, determining the resistance index (RI), pulsatility

index (PI) and relation sistole/diastole (S/D). The examination had been made before the medication and 30 days latter.

**Analysis of the data:** we used test t of student for independent samples in the comparison of the averages between the groups and for dependent samples in the comparison inside the same group to evaluated the averages.

**Results:** the comparison of the characteristics of the women in the two groups showed that they had been similar in relation to age, time of menopause, index of corporal mass, blood pressure, parity and cardiac frequency. The group that used the acetate of medroxyprogesterone presented rise of all Doppler flow indexes: RI, PI and S/D in the uterines arteries. In the placebo group there was no increase of the Doppler flow index evaluated 30 days latter.

**Conclusion:** the acetate of medroxyprogesterone has vasoconstrictor effect on uterine artery.

**Keywords:** Acetate of medroxyprogesterone. uterines arteries. Doppler flow analyse.

## INTRODUÇÃO

A terapia de reposição hormonal combinada (estrogênio + progestogênio), seja de maneira contínua ou cíclica, tem a finalidade de impedir a hiperplasia e o adenocarcinoma do endométrio (Dickson,2012). O acetato de medroxiprogesterona (AMP) é um dos progestogênios mais usados na prática médica. Os dados do The Women's Health Initiative (WHI) demonstraram que o uso do AMP associado ao estrogênio equino conjugado para alívio dos sintomas da menopausa aumentaram o risco de acidente vascular cerebral, infarto agudo do miocárdio e câncer de mama. Os efeitos vasculares dos progestogênios variam sobremaneira de acordo com o tipo de composto, vias de administração, dose e condições de saúde prévia individual. Esses compostos têm em sua estrutura química o anel comum aos ésteres do colesterol, o cicloperidofenantreno, e são chamados de esteróides. A modificação da ligação covalente do grupo hidroxila no carbono ligante codifica o grupo ao qual pertence, geralmente ao C 21 ou C 19, estes com ações mais androgênicas (Vani et al,2008). Alguns progestogênios podem ocasionar vasodilatação ou vasoconstrição. A progesterona natural não se liga a outros receptores esteróides, ao contrário dos sintéticos. Esses, ligam-se freqüentemente a outros receptores esteróides, incluindo-se os dos androgê-

nios e glicocorticóides. Assim, dependendo da dose utilizada e do tecido alvo, é possível que os progestogênios sintéticos possam exercer ações não usuais à progesterona natural (Martens et al, 2001, Goodman, 2001, Gabriel et al, 2005, Okada et al, 2011, Beck et al, 2012 e Slonina et al, 2012).

A presença de receptores progestogênicos nos vasos sanguíneos é relevante, visto ter, além das ações genômicas clássicas, possibilidade de interações com co-fatores, os quais podem condicionar uma resposta vascular ampla, dose-dependente, via de administração dependente, tipo de progestogênio induzido, contrabalançada por fatores antiprogestínicos. Essa ação parece ser dose-dependente e o estímulo em tempo prolongado e também como por meio de progestogênio sintético, pode ter efeito adverso, com proliferação desordenada do endotélio e pode, ainda, levar à maior reatividade vascular (Wetendorf et al, 2012). Algumas observações clínicas indicam ser a progesterona vasodilatadora e alguns dos progestogênios sintéticos vasoconstritores. Os fatores responsáveis por essas discrepâncias são desconhecidos.

As artérias uterinas são de fácil acesso, com a execução simples do exame dopplervelocimétrico, tendo ausência de efeitos adversos e desconforto mínimo, além de rapidez no procedimento, o que torna o método utilizado nesse estudo, reproduzível 10. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do AMP na resistência da artéria uterina, utilizando a dopplerfluxometria para avaliar o índice de pulsatilidade.

## PACIENTES E MÉTODOS

Realizou-se estudo longitudinal, prospectivo, randomizado, triplo-cego, placebo controlado, contando com a participação de 216 mulheres menopausadas, voluntárias, provenientes do ambulatório de climatério da Faculdade de Medicina de Montes Claros (UNIMONTES-MG), as quais tinham indicação ao teste do progestogênio. O estudo teve início em outubro de 2009 e foi finalizado em janeiro de 2012. As mulheres foram selecionadas e iniciaram as avaliações após se inteirarem da pesquisa, dirimir todas as dúvidas, lerem, discutirem e assinarem o consentimento pós-informado de pesquisa em seres humanos. O estudo foi aprovado Câmara de pesquisa do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da UNIMONTES e pela comissão de ética e pesquisa da UNIMONTES. Todas as participantes foram submetidas a: anamnese completa, exame clínico e ginecológico, dados biométricos - cálculo do índice de massa corpórea pela fórmula: índice de massa corporal (IMC)=peso/(altura)<sup>2</sup> - e avaliação propedêutica complementar (hemograma, perfil lipídico, glicemia de jejum, hormônios tireoideanos, urina rotina, hormônio folículo-estimulante - FSH, citologia oncótica cervical, mamografia, ultra-sonografia endovaginal), conforme o modelo de ficha utilizada no estudo.

Foram incluídas mulheres híginas no climatério há pelo menos um ano e FSH > 40 U<sub>i</sub>/L, com idade inferior a 65 anos, sem uso prévio de medicamentos com potencial efeito vascular ou hormonal há um ano, com ultra-som prévio indicando espessura endometrial maior 6 mm e menor que 9 mm, com indicação ao teste de progesterona, que leram e assinaram o consentimento pós-informado, após se inteiraram da pesquisa. Foram excluídas mulheres em tratamento de diabetes mellitus, com histórico de hipertensão arterial ou com PA ≥ 160/90mmHg, com histórico de neoplasia maligna, coronariopatia, insuficiência renal ou hepática, com tromboflebite ativa ou

distúrbio tromboembólico e história de doenças vasculares (vasculopatia diabética, acidente vascular cerebral, aterosclerose), tabagistas e com IMC > 30kg/m<sup>2</sup>.

Foram randomicamente distribuídas em grupos pela tabela de números aleatórios computadorizada, sendo orientadas a usarem o medicamento do lote 021 ou 041 grupo A e B, respectivamente, por período de 30 dias. Antes de iniciarem o uso da medicação, foram submetidas ao estudo Dopplervelocimétrico das artérias uterinas, na tomada de tempo zero, sempre pela manhã, após 15 minutos de repouso, para diminuir a frequência cardíaca do exercício físico inicial de caminhada até a clínica e padronizar a aferição. Após a obtenção da frequência cardíaca e da pressão arterial, iniciou-se o exame dopplervelocimétrico.

O equipamento usado para o exame foi de alta resolução, da marca Medison Acuvix V10 - KOREA; com transdutor endocavitário 3D4-8ET eletrônico de frequência variável. O ângulo de insonação da amostra volume da dopplervelocimetria foi sempre aferido preferencialmente em 0 graus, com filtro de 50Hz, frequência de repetição de pulso (PRF) de 125kHz e amostra volume de 2mm. O tempo médio descrito para a execução do exame foi 5 a 8 minutos para as duas artérias uterinas. O exame foi realizado por via transvaginal com a participante sempre em decúbito dorsal. O transdutor era posicionado no fundo da vagina. O examinador realizava movimentos no sentido transversal, longitudinal, cranial e caudal, a fim de identificar os vasos uterinos.

A artéria uterina era identificada lateralmente ao útero, logo após a sua emergência na artéria hipogástrica. O registro da artéria foi feito sempre no mesmo local de insonação em cada mulher, para evitar viés de medidas por modificação do sítio de estudo dopplervelocimétrico. Essa localização era a no máximo 5 cm da sua origem. Os ajustes do aparelho eram efetuados para avaliar as velocidade de fluxo em ambas as artérias uterinas, direitas e esquerda com média de três valores para cada variável Doppler. Foram avaliados o índice de resistência (IR), índice de pulsatilidade (IP) e relação sístole e diástole (S/D).

Após o primeiro exame, as mulheres eram orientadas a iniciar a medicação, devendo tomá-la sempre pela manhã, ininterruptamente e, após 28 a 30 dias, retornar à para serem submetidas ao segundo exame, ainda em uso da medicação. O exame foi feito entre 8.00 e 10.00h, para evitar-se o viés do ciclo circadiano, pelo mesmo examinador, utilizando-se o mesmo aparelho, para evitar-se viés interobservador e interaparelhos (Delorme et al, 1995). Uma vez identificado o melhor traçado Doppler, coletavam-se três medidas de cada índice para, em seguida, considerar a média aritmética. Com o propósito de avaliar as diferenças observadas entre as artérias uterinas direita e esquerda, utilizou-se o teste t de Student para amostras pareadas (dependentes). Trata-se de um teste paramétrico que tem como objetivo comparar medidas realizadas no mesmo indivíduo. O teste avalia se a diferença média entre as medidas é ou não significativamente diferente de zero, isto é, se existem ou não diferença entre a primeira e a segunda medidas (lado direito e esquerdo).

No intuito de investigar a influência das outras variáveis, como paridade, pressão arterial, idade da menopausa, idade do grupo, utilizou-se o teste t de Student para amostras independentes. Esse teste paramétrico compara, também, médias das variáveis de interesse realizadas em dois grupos distintos. A igualdade de variância, conhecida como homocedasticidade, é

um pressuposto importante para aplicar-se o teste t de Student, fazendo com que os resultados tenham conclusões mais apropriadas. Ao considerarem-se os grupos A e B, lotes 021 e 041, respectivamente, rejeitou-se a hipótese nula ( $H_0: M_1 = M_2$ ) se no grupo A o valor obtido foi estatisticamente diferente do grupo B, representado por um valor, no teste t, de  $p < 0,05$  (5%) como ponto de corte para significância, ou seja, nível necessário para rejeição da hipótese.

Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância inferior a 5% ( $p < 0,05$ ), tendo, portanto, pelo menos 95% de confiança nas conclusões apresentadas.

## RESULTADOS

Um total de 216 mulheres foi selecionado para começar o estudo, sendo 108 no grupo A e 108 no grupo B. No grupo A, disponibilizaram-se os medicamentos dos lotes 021 (AMP); e no grupo B, os medicamentos dos lotes 041 (placebo). No grupo que usou AMP, das 108 que iniciaram o estudo, 92 retornaram após 30 dias para a realização do segundo exame; no grupo que utilizou o placebo, 93 retornaram. Foram, portanto, retiradas 16 do grupo A e 15 do grupo B, em virtude de não terem comparecido na data agendada para o segundo exame. Nenhuma apresentou queixa relativa ao exame doppler.

As características gerais das mulheres de ambos os grupos estão descritas na tabela 1. Com o objetivo de avaliar se havia ou não diferença entre a resistência vascular na artéria uterina direita e esquerda, compararam-se as médias obtidas para ambas, dentro do mesmo grupo, para todas as 185 mulheres. Após ter-se demonstrado que as médias nas artérias uterinas direitas e esquerda não mostravam diferenças significativas entre os dois lados da mesma pessoa, utilizou-se então a média de ambas uterinas para as demais análises. A média para todas as 185 mulheres do IP na artéria uterina direita foi de 2,05 e a esquerda foi de 2,02 ( $p=0,58$ ); o IR direita foi de 0,86 e a esquerda de 0,78 ( $p=0,19$ ); o S/D da artéria uterina direita foi de 9,61 e para a esquerda de 6,81 ( $p=0,19$ ). Os resultados observados quando se mediu o índice de pulsatilidade das artérias uterinas das mulheres do grupo AMP apresentaram aumento significativo quando comparado o pós-tratamento com o pré-tratamento. Nas mulheres do grupo placebo, entretanto, o IP foi semelhante nas duas fases do tratamento. Em relação ao IR, no grupo AMP houve aumento significativo no pós-tratamento comparado ao pré-tratamento. No grupo placebo, o IR manteve-se semelhante quando

**Tabela 1.** Características gerais dos dois grupos de estudo

Variáveis	AMP	Placebo	P
Idade (anos)*	54 ± 6,5	55 ± 6,5	0,71
Menopausa (anos)*	47 ± 4	48 ± 4,8	0,55
Paridade	5 ± 2	4 ± 3	0,14
Frequência cardíaca ( bpm)	69 ± 10	70 ± 11	0,80
PA sistólica (mmHg)	132 ± 22,4	135 ± 22,9	0,39
PA diastólica (mmHg)	85 ± 15,1	84 ± 12,1	0,34

Teste t Student-Valores são média ± desvio-padrão-\*valores são mediana

**Tabela 2.** Distribuição das variáveis dopplervelocimétricas nas artérias uterinas no grupo usando acetato de medroxiprogesterona

Variáveis	Antes da medicação	30 dias após a medicação	Valor p
IR	0,85 ± 0,14	0,93 ± 0,10	0,004
IP	2,05 ± 0,51	3,09 ± 0,59	0,0001
S/D	7,35 ± 3,35	15,1 ± 9,45	0,011

Teste t Student - Valores são média ± desvio-padrão

avaliado em ambas as fases do tratamento. A análise da relação sístole/diástole mostrou aumento significativo no exame realizado pós-tratamento em relação ao pré-tratamento nas mulheres do grupo AMP. Nas participantes do grupo placebo, não foi constatada diferença entre as duas fases analisadas (TAB. 2 e 3). Os resultados demonstraram que as mulheres do grupo AMP tiveram aumento significativo nos índices de resistência vascular das artérias uterinas, sugerindo que essa droga possui efeito vasoconstrictor. As do grupo placebo não apresentaram diferenças nos índices de resistência vascular, em ambas as artérias estudadas, após o uso da medicação.

## DISCUSSÃO

O propósito do presente estudo foi avaliar a ação do acetato de medroxiprogesterona nas artérias uterinas, descrevendo os efeitos dessa substância na resistência vascular. A artéria uterina é ramo da hipogástrica e irriga um território altamente influenciado por flutuações hormonais. Ela é anatômica e funcionalmente responsiva aos hormônios esteróides. Como as mulheres estavam em menopausa, sem influência do estradiol, as modificações captadas no presente estudo podem ser atribuídas à medroxiprogesterona. Provavelmente, em condições normais, o que ocorre nesse território vascular pode ser, em parte, transposto para outros vasos, em virtude das características das ações vasculares sistêmicas

Considerando-se o tempo da medicação, alguns trabalhos na literatura oferecem respaldo de que 30 dias de uso é suficiente para apreciar-se o efeito da intervenção (Pirhonen et al, 1993, Chataigneau et al, 1994). Todos os exames foram realizados pelo mesmo examinador, no mesmo aparelho e por via vaginal, eliminando-se, assim, as chances de variação interobservador e entre técnicas (Steer et al, 1995, Mikkonen, 1998 e Souza et al, 2005). Por se tratar de mulheres na menopausa, sem usar estrogênio ou qualquer outra medicação hormonal, esta pesquisa permitiu avaliar o efeito puro, in natura, da medroxiprogesterona nas artérias uterinas.

**Tabela 3.** Distribuição das variáveis dopplervelocimétricas nas artérias uterinas no grupo usando placebo

Variáveis	Antes da medicação	30 dias após a medicação	Valor p
IR	0,71 ± 0,07	0,72 ± 0,07	0,35
IP	1,94 ± 0,24	2,01 ± 0,26	0,31
S/D	9,51 ± 0,75	8,62 ± 0,92	0,20

Teste t Student - Valores são média ± desvio-padrão

O estudo do fluxo uterino é importante, pela facilidade de captação dos índices, e pela possibilidade de se inferir a respeito de outros compartimentos vasculares que tenham ação direta do AMP. Isso pode representar um importante avanço na abordagem de síndromes mais complexas, pois, por uma via de mais fácil acesso, onde se estudam as artérias uterinas, poder-se-ia universalizar outras ações vasculares (rins, coração, músculo, aparelho digestório, etc.).

Nosso resultados demonstram que a medroxiprogesterona apresenta uma ação vasoconstritora uma vez que, em todas as variáveis dopplervelocimétricas, foi observado um aumento significativo dos índices de resistência. Um dos estudos que mais negativamente influenciou a TH foi o WHI (Speroff, 2004). Os dados observados indicaram aumento da incidência de infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral. Isso ocorreu apenas no grupo usuárias de AMP. Provavelmente o AMP teve efeito vasoconstritor dentro outros nocivos ao sistema vascular dessas mulheres. Na nossa pesquisa, encontramos ação vasoconstritora do AMP nas artérias uterinas. O efeito vasoconstritor da AMP pode ter impacto relevante no risco cardiovascular. Os progestogênios tem várias ações que diferem em decorrência de inúmeros fatores. A progesterona natural tem um efeito vasodilatador, enquanto algumas sintéticas, como o AMP, tem ação vasoconstritoras (Cochrane et al,2012). O efeito vascular do AMP pode ser explicado, em parte, por ter ação antagônica aos efeitos estrogênicos. O estrogênio induz o aumento na resposta do progestogênio ao promover elevação na concentração de receptores progestínicos intracelulares (A e B) e, por outro lado, a progesterona diminui parcialmente a ação estrogênica em tecidos alvos ao inibir a síntese de novos receptores a partir do bloqueio do mecanismo de reabastecimento intracelular. Outra situação na qual a progesterona exerce seu efeito antiestrogênio é acelerando a recaptação dos receptores já existentes, ao estimular a síntese da enzima 17-OH esteróide-diidrogenase e sulfotransferase, que converte o forte estradiol em sulfato de estrona que, por sua vez, é eliminado da célula. Além disso, a partir de recurso genômico, a progesterona inibe a expressão do ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) induzido pelo estrogênio.

Em resumo, podemos concluir que o acetato de medroxiprogesterona tem ação vasoconstritora nas artérias uterinas. Mais estudos são necessários para dirimir todas as dúvidas e questionamentos a respeito de outras prováveis ações do AMP.

#### Correspondência:

Marco Aurélio Martins de Souza  
Av cel Prates n 377-Centro  
Montes Claros-MG – CEP 39 400215  
Tel (38) 32211771 – cel. 99868910 fax 3222 83 97  
e.mail : inomedsuporte@yahoo.com.br, inomed@drmarcoarelio.med.br

#### REFERÊNCIAS

- Beck KD, Wasserman MC, Furst SJ, Pang KC, Servatius RJ. Differential effects of progesterone and medroxyprogesterone on delay eyeblink conditioning in ovariectomized rats. *Neurobiol Learn Mem.* 2012; 97:148-55.
- Chataigneau T, Zerr M, Chataigneau M, Hudlett F, Hirn C, Pernot F, Schini-Kerth VB. Chronic treatment with progesterone but not medroxyprogesterone acetate restores the endothelial control of vascular tone in the mesenteric artery of ovariectomized rats. *Menopause.* 2004; 11:255-63.
- Cochrane DR, Jacobsen BM, Connaghan KD, Howe EN, Bain DL, Richer JK. Progesterone regulated miRNAs that mediate progesterone receptor action in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol.* 2012; 355:15-24.
- Delorme S, Weisser G, Zuna I, Fein M, Lorenz A, van Kaick G. Quantitative characterization of color Doppler images: reproducibility, accuracy, and limitations. *J Clin Ultrasound.* 1995; 23:537-50.
- Dickson GM. Menopause management: how you can do better. *J Fam Pract.* 2012; 61:138-45.
- Gabriel SR, Carmona L, Roque M, Sánchez GL, Bonfill X. Hormone replacement therapy for preventing cardiovascular disease in post-menopausal women. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2005; 18:2.
- Goodman, L.S. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10th edition. New York: McGraw-Hill; 2001.
- Mertens HJ, Heineman MJ, Theunissen PH, de Jong FH, Evers JL. Androgen, estrogen and progesterone receptor expression in the human uterus during the menstrual cycle. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001; 98: 58-65.
- Mikkonen, R. Incidence and risk factors for delayed allergy-like reactions to X-ray contrast media in adult and pediatric populations. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 1998; 7 Suppl 1:S11-5.
- Okada H, Okamoto R, Tsuzuki T, Tsuji S, Yasuda K, Kanzaki H. Progesterone inhibit estradiol-induced vascular endothelial growth factor and stromal cell-derived factor 1 in human endometrial stromal cells. *Fertil Steril.* 2011; 96:786-91.
- Pirhonen JP, Vuento MH, Mäkinen JJ, Salmi TA. Long-term effects of hormone replacement therapy on the uterus and on uterine circulation. *Am J Obstet Gynecol.* 1993; 168:620-30.
- Slonina D, Kowalik MK, Kotwica J. Expression of Progesterone Receptor Membrane Component 1, Serpine mRNA Binding Protein 1 and Nuclear Progesterone Receptor Isoforms A and B in the Bovine Myometrium During the Estrous Cycle and Early Pregnancy. *J Reprod Dev.* Jan 25, 2012 [Epub ahead of print]
- Souza, MAM, Caldeira H, Caracas RR, Biondi L, Duarte R, Prates FPA. Influência do local de análise dopplervelocimétrica na artéria cerebral média Rev Bras Ginecol Obstet. 2005; 27:32-35.
- Speroff, L. A clinician's review of the WHI-related literature. *Int J Fertil Womens Med.* 2004; 49: 252-67.
- Steer CV, Williams J, Zaidi J, Campbell S, Tan SL. Intra-observer, interobserver, interultrasound transducer and intercycle variation in colour Doppler assessment of uterine artery impedance. *Hum Reprod.* 1995; 10:479-8.
- Vani S, Critchley HO, Fraser IS, Hickey M. Endometrial expression of steroid receptors in postmenopausal hormone replacement therapy users: relationship to bleeding patterns. *J Fam Plann Reprod Health Care.* 2008; 34:27-34.
- Wetendorf M, Demayo FJ. The progesterone receptor regulates implantation, decidualization, and glandular development via a complex paracrine signaling network. *Mol Cell Endocrinol.* 2012; 357:108-18.

# A personalidade jurídica no embrião humano: personalidade normativa e ontologia

## The legal personality of the human embryo: normative personaity and ontology

Maria de Fátima Freire de Sá<sup>1</sup>, Diogo Luna Moureira <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Doutora em Direito pela Universidade Federal do Estado de Minas Gerais. Mestre em Direito pela PUC Minas. Professora Adjunta da PUC Minas. Pesquisadora do Centro de Estudos em Biodireito – CEBID.

<sup>2</sup>Doutorando e Mestre em Direito Privado pela PUC Minas. Professor Adjunto da Fundação Comunitária de Ensino Superior de Itabira e da Faculdade Pitágoras Belo Horizonte. Pesquisador do Centro de Estudos em Biodireito – CEBID.

### RESUMO

O artigo pretende apresentar como a personalidade do nascituro é tratada pela teoria clássica do Direito e verificar se tal fundamentação poderia ser aplicável ao embrião. Pretende, também, apresentar a personalidade jurídica como referencial de imputação normativa. O embrião humano é passível de tutela, porém o ordenamento jurídico não lhe imputa situações jurídicas.

**Palavras-chave:** Personalidade – nascituro – embrião centro de imputação.

### ABSTRACT

The article aims to present how the personality of the unborn child is treated by the classical theory of law and determine whether such reasoning could be applied to the embryo. It also intends to provide the legal framework and allocation rules. The human embryo is subject to guardianship, but the law does not impute legal situations.

**Keywords:** Personality - the unborn - the embryo - the center of imputation.

### INTRODUÇÃO

A problemática referente à personalidade jurídica do embrião humano é, por certo, uma das mais intrincadas no Direito Moderno. Saber se o embrião tem ou não personalidade jurídica é uma questão que revolve uma série de justificações que, de uma forma ou de outra, revelam o modo como compreendemos a espécie a qual pertencemos.

Desta forma, por detrás dos argumentos que se referem ao tratamento jurídico dos embriões repousam dois fundamentos que merecem ser destacados: a) pelo fato de o embrião carregar consigo toda uma carga genética do ser, ele é considerado, potencialmente, um ser humano e por tal razão merece respeito tanto quanto este; de outro lado b) o embrião não pode ser considerado potencialidade alguma, uma vez que o seu desenvolvimento natural está limitado, necessitando de um ato médico para efetivá-lo.

Eis aqui uma ambivalência, pois muito embora o embrião possa carregar consigo toda uma carga genética do ser, o seu desenvolvimento natural está de fato limitado, porquanto mantido fora do útero materno. De outro lado, ainda que o embrião tenha o seu desen-

volvimento natural limitado, é ele o marco representativo da fronteira inicial da vida, na medida em que é do embrião que surge o ser humano.

Portanto, a forma como lidamos com a proteção do ser humano decorre do modo como tratamos a espécie a que pertencemos. Assim, quaisquer métodos científicos tendentes a modificar a estrutura sensível da espécie pressupõem a modificação daquilo que somos por natureza (seres humanos). É nesse sentido que se justifica a proibição de manipulação de células reprodutivas para fins de clonagem ou mesmo produção de quimeras. A lei n.11.105/2005, por exemplo, veda a engenharia genética em célula germinal humana, zigoto humano e embrião humano, bem como a clonagem humana (art. 6º, incisos III e IV).

Jürgen Habermas defende a “moralização da natureza humana”, no sentido de ser necessária uma auto-afirmação da autocompreensão ética da espécie, pois é por meio desta que os indivíduos continuam a se compreenderem como únicos autores de sua vida e podem se reconhecer mutuamente como pessoas que agem com autonomia<sup>1</sup>. Segundo Habermas a manipulação genética poderia alterar esta autocompreensão ética da espécie “de tal maneira que, com o ataque às representações do direito e da moral, os fundamentos normativos e incontornáveis da integração social poderiam ser atingidos.”<sup>2</sup>

Os argumentos sustentados por Habermas no sentido de moralizar a natureza humana são preponderantemente políticos, e se justificam na medida em que visam manter certo equilíbrio entre a autonomia da geração presente face à geração futura. A todo o momento Habermas deixa transparecer sua preocupação com as possibilidades biotecnológicas e o meio pelo qual tais práticas podem ser limitadas. Isto porque,

O uso metodicamente correto do argumento significa que agimos bem ao levar em consideração, para fazer o julgamento normativo dos desenvolvimentos atuais, questões que um dia poderiam ser confrontadas com desenvolvimentos de técnicas genéticas teoricamente possíveis (ainda que especialistas nos assegurem que hoje eles estão totalmente fora de alcance)<sup>3</sup>.

De outro lado, a proteção da pessoa humana pressupõe a tutela normativa daquilo que o ser humano foi capaz de se tornar, isto é, um sujeito detentor de autonomia, autoconsciência, e capacidade de cons-

truir uma personalidade em um contexto de vivência compartilhada, no qual atribui conteúdo à sua dignidade, com o outro.

O início do processo de se fazer pessoa se dá a partir do momento em que a pessoa é capaz de atribuir valor ao seu ato de viver, atribuindo conteúdo ao termo dignidade. E isto gira em torno da ideia de que a pessoa não é um dado a priori, mas ao contrário, pressupõe uma construção de valores que são assumidos para si, em um processo dialético no qual pessoalidades se entrelaçam e se constituem e reconstituem.

De acordo com Habermas, o ser humano nasce biologicamente "incompleto", necessitando do auxílio de outros indivíduos para o suprimento de carências que não pode sozinho satisfazer. Nesse contexto de interação intersubjetiva é que se inicia o processo de "individualização social", através do qual os traços biográficos do indivíduo humano começam a ser determinados, posto ser um "eu" e um "outro", ainda que não possa ter consciência plena de si: "aquilo que, somente pelo nascimento, transforma o organismo numa pessoa, no sentido completo da palavra, é o ato socialmente individualizante de admissão no contexto público de interação de um mundo da vida partilhado intersubjetivamente".

A existência do indivíduo humano como pessoa pressupõe a esfera de relações para o seu reconhecimento enquanto tal. Não somos pessoas apenas pelo fato de termos dados genéticos ou um organismo vivo como um coração e um fígado, mas só somos pessoas "na medida em que nos movemos num certo espaço de indagações, em que buscamos e encontramos uma orientação para o bem", e mais, só podemos ser pessoas no meio dos outros, pois "um self nunca pode ser descrito sem referência aos que o cercam".

Assim, tratar de embrião humano não implica tratar de pessoa humana, nem tampouco conferir-lhe dignidade, tal como se confere à pessoa humana nascida e socialmente individualizada no mundo da vida partilhado intersubjetivamente.

Para além dessa representatividade do embrião para a espécie humana, a questão que propomos revolver no presente artigo é: o embrião humano tem personalidade jurídica?

Por personalidade jurídica entende-se a possibilidade operacional construída pela pessoa humana, ou outro(s) ser(es) ou ente(s) que não seja(m) propriamente humano(s), agir em determinada situação jurídica enquanto titular de direitos e deveres e, assim, exercer ou efetivar atos próprios de uma personalidade operacionalmente jurídica.

A partir desses conceitos interdependentes (personalidade jurídica e situação jurídica), o que analisaremos em seguida refere-se a um estudo comparativo do modo como os entes por nascer (nascituro e embrião) são tratados pelo Direito, no que tange à realização de personalidade jurídica.

## 2. Problemáticas acerca da Personalidade Jurídica dos entes por nascer

A concepção clássica da personalidade jurídica sempre esteve conectada a uma visão naturalizante do que é ser pessoa, de modo que a condição de sujeito de direitos foi, em uma concepção jusracionalista, atrelada à percepção de ser humano.

Ainda hoje percebemos certa tendência teórica em se vincular a personalidade jurídica à visão naturalizante do que é ser pessoa. O autor português Paulo Otero, por exemplo, convoca seus leitores na obra *Personalidade e identidade pessoal e genética do ser humano* a repensar a personalidade do seu início, a começar

pela relativização do dogma da personalidade jurídica, como ele próprio diz<sup>9</sup>. A posição assumida por Otero, apesar de ser passível de críticas, é interessante e define, com precisão, a controvérsia que comumente se enfrenta com a influência do humanismo personalista, ou mesmo da perspectiva naturalista, no conceito de personalidade jurídica.

Já no início das suas ponderações, Paulo Otero deixa transparecer a sua preocupação em vincular a personalidade jurídica com a tutela do ser humano, afirmando que

a personalidade jurídica, isto é, o reconhecimento pelo Direito de que determinada realidade é susceptível de ser titular de direitos e estar adstrita a obrigações, traduzindo o cerne do tratamento do ser humano como pessoa e não como coisa – isto no que respeita às pessoas físicas, sem se tomar em consideração as pessoas colectivas – levaria, numa primeira observação, a pensar que o Direito somente tutelaria o ser humano após o seu nascimento<sup>9</sup>.

Nesse aspecto, a crítica apresentada por Otero, acerca do início da personalidade jurídica, parte do art. 66, nº 1 do Código Civil português que prevê que a personalidade jurídica do ser humano é adquirida no momento do seu nascimento completo com vida. A este respeito, diz Otero que "nada existe, porém, de mais falso", uma vez que "o Direito não faz depender a tutela do ser humano da aquisição de personalidade jurídica". Segundo ele, o Direito não pode restringir a tutela do ser humano à aquisição da personalidade jurídica, pois antes mesmo do nascimento "o Direito pode e deve intervir na tutela do ser humano, circunstância esta que é independente do reconhecimento da personalidade jurídica".

Assim, afirma que a tutela jurídica do ser humano antes do nascimento não pode ser resolvida pelas disposições normativas do Código Civil, de forma que não é a personalidade jurídica que justifica a tutela dispensada ao ser humano, mas "é a circunstância desse ser ter natureza humana, o que justifica que o Direito lhe reconheça personalidade jurídica".

Em linhas conclusivas, Paulo Otero aduz que "a personalidade jurídica é um conceito que se move no âmbito dos valores constitucionais inerentes à vida humana e não estes últimos que têm a sua tutela dependente das regras de direito ordinário referentes à personalidade jurídica". Entretanto, será que a previsão do Código Civil português de que a personalidade jurídica do ser humano se adquire no momento do nascimento completo com vida implica em não tutela jurídica do ser humano antes do nascimento? Não haveria, na proposta de Otero, uma confusão conceitual entre personalidade jurídica e qualidade de ser homem (e aqui poder afirmar a existência da dignidade da vida humana, juridicamente tutelada)? E mais, será que antes do nascimento o nascituro não teria a personalidade jurídica referida no art. 66, n. 1 do Código Civil Português?

O positivismo jurídico, tentando distanciar-se dessa visão jusnaturalista, concebeu categorias normativas generalizantes que compreenderam a personalidade como "atribuição ou investidura do direito" (Amaral, 2003); ser pessoa, portanto, significa ter aptidão para titularidade de direitos e deveres. Em consequência, a concepção de personalidade jurídica não mais se vincula ao ser humano, mas pressupõe a abstratividade da norma jurídica que pode conceder, não apenas ao indivíduo humano, mas a outros seres, a possibilidade de agir no mundo jurídico enquanto pessoas jurídicas.

Diante dessas duas vertentes, a personalidade dos entes por nascer mostrou-se uma problemática, pois,

ao mesmo tempo que não se tinha uma base concreta para identificar um indivíduo humano – mas apenas uma potencialidade; a própria norma, restrita à sua abstratividade, não previa a personalidade jurídica do ente por nascer (embrião e nascituro).

No Direito Civil brasileiro, ao que parece, vingou a ideia de que a personalidade é determinada pelo nascimento. Assim, tanto o Código Civil de 1916, no artigo 4º, quanto o Código de 2002, em seu artigo 2º, tal como o Código Civil português acima mencionado, filiaram-se à teoria natalista, ressaltando, entretanto, desde a concepção, os direitos do nascituro. Nada, porém, foi dito com relação ao embrião.

A práxis jurídica, no entanto, demonstrou incongruências acerca do condicionamento da personalidade jurídica do nascituro ao nascimento, colocando-se em questionamento a proposta do positivismo em restringir à personalidade jurídica ao aspecto formal da norma jurídica. Ora, se o nascituro pode receber doação; ser legatário; ver-se representado por um curador ao ventre em caso de conflito de interesses com a mãe ou mesmo em caso de incapacidade dessa; possuir capacidade de ser parte em ação judicial – sendo autor em ação de alimentos e ação de investigação e reconhecimento de paternidade, e réu em ação anulatória de testamento ou de contrato de doação que o contemple –; como não lhe atribuir personalidade jurídica? Tal pergunta não é nova, porque foi trabalhada pela teoria concepcionista. E em relação ao embrião, será se podemos dizer o mesmo? Há, pois, personalidade jurídica do embrião?

Abaixo, de forma sucinta, as teorias que explicam o início da personalidade jurídica do ser humano, dando-se ênfase à personalidade jurídica dos entes por nascer, a começar pelo nascituro para, em seguida, tratar da personalidade do embrião.

### 3. A Personalidade do Nascituro na Fundamentação Clássica

Dividimos em três grandes grupos as teorias que explicam a situação do nascituro: a) teoria natalista; b) teoria da personalidade condicional; e c) teoria concepcionista. Os natalistas (a) fazem surgir a personalidade do nascimento. Logo, nascituro não é pessoa, ainda que receba alguma proteção legal. Fundamentam, inclusive, que sua realidade biológica é distinta dos seres nascidos. Mas, para nós, esse argumento não passa de uma ontologização, uma vez que trazem os natalistas uma essência única para o ser humano, diferenciando-o daquele em formação. Ora, a personalidade não se define em si mesma, mas é uma construção histórico-argumentativa.

Podemos perceber, na doutrina natalista, algumas justificativas para a proteção do nascituro, sem, no entanto, outorgar-lhe personalidade, quais sejam: o nascituro não teria personalidade, mas tão somente expectativa de direito; o nascituro seria tutelado em virtude de um interesse público na proteção da vida. Criticamos a primeira concepção amparados em Francisco Amaral:

Ora, expectativa de direito é direito subjetivo com eficácia suspensa ou em formação. Nesse sentido, o disposto no § 2º do art. 6º da LICC. Falar-se em condição ou em expectativa de direito é reconhecer-se o nascituro como titular de direitos em formação, o que pressupõe titularidade, obviamente, personalidade. [...] só pode ser titular de direitos quem tiver personalidade, donde concluir-se que, formalmente, o nascituro tem personalidade jurídica. Não se pode, assim, de modo lógico, negar-se ao nascituro a titularidade jurídica. O nascimento não é condição para que a personalidade exista, mas para que se consolide. (Amaral, 2003)

A doutrina da personalidade condicional (b) defende o início da personalidade a partir da concepção, desde que a criança nasça com vida. Segundo tal teoria, a aquisição de direitos pelo nascituro seria feita pelo implemento da condição resolutiva “nascer sem vida”. Ora, condição é a cláusula voluntariamente aposta em negócio jurídico que subordina seus efeitos a evento futuro e incerto. Sendo resolutiva, a condição faz cessar esses mesmos efeitos. Assim, se nascesse sem vida, não se poderia falar em aquisição de direitos. Ao contrário, nascendo vivo, seus direitos se confirmariam. Vemos, pois, uma impropriedade terminológica, pois se considera condição algo que a mesma doutrina ensina ser um pressuposto legal ou uma *conditio iuris*. Condição e *conditio iuris* não se confundem e não se pode explicar esta por aquela.

Finalmente, pela doutrina concepcionista (c), a personalidade se inicia desde a concepção. O nascituro é pessoa, pois gerado, embora não nascido

### 4. A Personalidade como Centro de Imputação Normativa

Se as teorias natalista, concepcionista e da personalidade condicional não são suficientes para resolver incongruências normativas acerca da personalidade jurídica do nascituro, como resolver a problemática da personalidade jurídica do ente por nascer? Na construção de uma proposta argumentativa, propomos revolver a concepção clássica de relação jurídica para, ao retratarmos a superação desta pela teoria da situação jurídica, afirmar o que se propõe como personalidade como centro de imputação normativa.

Pois bem. A concepção tradicional de relação jurídica está intimamente ligada à de direito subjetivo, por ser este um aspecto daquela. É que a relação jurídica é o vínculo entre dois ou mais sujeitos, estabelecido em virtude de um objeto. Ressalte-se que são elementares à constituição da relação jurídica a presença de sujeitos em contraposição.

Para essa concepção personalista ou intersubjetiva, são sujeitos da relação jurídica aqueles entes dotados de personalidade jurídica, que estabelecem entre si um vínculo reconhecido pelo ordenamento como vicissitude ou efeito jurídico. Dessa forma, para tal corrente, os sujeitos são os entes a que o ordenamento outorga direitos e deveres, sendo denominado sujeito ativo aquele que detém o poder de exigir determinado comportamento e sujeito passivo aquele que possui o dever de observá-lo.

A relação jurídica constituir-se-ia, então, de construção dogmático-jurídica, que elege conceitos formais e técnicos, mas também seria formada pela historicidade do Direito, abandonando a falsa busca por ontologias jurídicas.

Assim, além da relação jurídica, haveria situações anômalas, que dispensam a intersubjetividade. Seriam as situações subjetivas, quais sejam o direito potestativo, o ônus, o interesse legítimo, o poder, a faculdade, a sujeição, além do direito subjetivo e do dever jurídico.

Em uma concepção mais contemporânea, Pietro Perlingieri, em sua obra *Perfis do Direito Civil*, esboça uma teoria da situação jurídica subjetiva e a confronta ao conceito de relação jurídica. A situação jurídica subjetiva é categoria geral de avaliação do agir humano; é um centro de interesses tutelado pelo ordenamento jurídico. Sempre há, na situação jurídica, um interesse que se manifesta em comportamento. Esse é o elemento essencial da situação. O sujeito é elemento acidental, pois há interesses tutelados pelo Direito

que ainda não possuem um titular. Para Perlingieri, esta é a situação dos nascituros, que podem até receber doação (artigo 542 do Código Civil). Há, no caso, um interesse tutelado, mas seu titular ainda não existe, pois só se constitui "sujeito", a partir do nascimento com vida (Perlingieri, 1999).

Já a relação jurídica é relação entre situações subjetivas. Não há necessidade de dois sujeitos, mas de centros de interesses. "O sujeito é somente um elemento externo à relação porque externo à situação; é somente o titular, às vezes ocasional, de uma ou de ambas as situações que compõem a relação jurídica." (Perlingieri, 1999)

Uma relação jurídica poderia ser a relação entre a situação jurídica de direito subjetivo e a situação jurídica de dever jurídico. Assim, a relação jurídica, segundo esse autor, é a normativa harmonizadora das situações jurídicas, ou seja, a ligação entre duas situações jurídicas.

Todo o esforço de Perlingieri acaba por remeter-nos a uma visão ainda axiológica do Direito, porquanto se manifesta na valoração subjetiva do interesse. Mas o interesse corresponde à medida da utilidade de um bem, o que é muito perigoso a uma aplicação do Direito comprometida com a realização da democracia, em razão de se deixar ao legislador ou à própria coletividade o poder de determinação sobre aquilo que se configura utilidade e, por consequência, interesse jurídico para todos nós, abstratamente.

Embora Perlingieri se liberte da noção clássica de direitos subjetivos e de relação jurídica, acaba por se prender à concepção de situação como interesse, o que por si só não conduz à normatividade necessária à construção de soluções jurídicas.

Todavia, concordamos com Perlingieri quando reconhecemos que o Direito não pode limitar-se a afirmar como partícipes de situações jurídicas apenas os entes nascidos. Acrescentamos: o reconhecimento de iguais liberdades pressupõe a inclusão daqueles que, na argumentação, podem assumir posições jurídicas, o que, no caso do nascituro, é suficiente para outorgar-lhe personalidade. Ora, se o sistema cria um rol de categorias e lá inclui apenas certos entes, detentores de direitos subjetivos, também cria um rol paralelo de entes que foram abstratamente excluídos de participar do fenômeno jurídico, sem que isso seja necessariamente verdade. Uma vez mais, afirmamos: o nascituro pode receber doação; ser legatário; ver-se representado por um curador ao ventre em caso de conflito de interesses com a mãe ou mesmo em caso de incapacidade dessa; possuir capacidade de ser parte em ação judicial – sendo autor em ação de alimentos e ação de investigação e reconhecimento de paternidade, e réu em ação anulatória de testamento ou de contrato de doação que o contemple. Portanto, não há como lhe negar personalidade.

Superando a tradição, poderemos enxergar que a personalidade, vista como um centro de imputação de liberdades e não-liberdades, não se restringe a direitos e deveres correlatos, abrangendo até mesmo situações já mencionadas como o ônus e a sujeição. Pensemos em uma situação hipotética em que o nascituro, devidamente representado, proponha ação judicial de reconhecimento de paternidade. No caso, haverá um direito subjetivo de ação, mas não necessariamente um direito subjetivo material, que deverá ser comprovado quando o nascituro desincumbir-se do ônus da prova. Ou, em caso de transmissão de herança, o princípio da *saisine* atribui aos herdeiros, de pleno direito, todos os

direitos sucessórios no momento da morte, independentemente da vontade ou mesmo do conhecimento dos herdeiros. Logo, o nascituro adquire a herança, ficando pendente apenas o ônus do registro a partir do nascimento. Nem se argumente que, nesse caso, trata-se de expectativa de direito porque, para a existência desta, imprescindível o sujeito. O nascituro, portanto, é centro de imputação, e as situações jurídicas das quais participa, seja como direito, dever, ônus, sujeição e faculdade, dependerão do caso concreto.

O distanciamento entre teoria e prática torna-se claro quando constatamos as razões inseridas em vários acórdãos pesquisados por nós. No Rio Grande do Sul, Estado com tradição de vanguarda, magistrados vêm decidindo por deferir aos genitores o seguro-obrigatório por acidente (DPVAT), ao fundamento, dentre outras razões, de que

não tem o nascituro somente expectativas de direitos, sendo, no tocante aos mesmos [direitos da personalidade], de forma efetiva, sujeito de direito. Todos os fatos relacionados à sua vida (direito de personalidade), desde o momento da concepção, geram consequências jurídicas<sup>14</sup>.

Outro acórdão, mais inovador, enfrenta questão relativa ao registro de natimorto. A discussão se verificou em razão de aborto espontâneo, ocorrido na 14ª semana de gravidez. O Tribunal rechaçou a alegação do Ministério Público e do Magistrado singular que se ampararam em um critério médico ao afirmarem que natimorto é o nascituro que vem a morrer após a 22ª semana de gestação. Em razão disso, deram provimento ao apelo dos pais para que lhes fosse confeccionada certidão de natimorto, conforme artigo 33, V e artigo 53, § 1º, da Lei n. 6.015/73.

O fato de a idade gestacional ser de 14 semanas (fls. 08 e 41) quando da sua interrupção não pode conduzir ao juízo de que não se trata de um nascituro com personalidade jurídica, porque a medicina, conforme exposto pelo Ministério Público e pelo Magistrado singular, caracteriza como natimorto somente após a 22ª semana de gestação. [...] A verdade é que o conceito de natimorto colhido da medicina – a partir da 22ª semana de gestação – não pode afastar a pretensão em exame, se a nova legislação civil confere personalidade jurídica ao nascituro desde a concepção<sup>15</sup>.

Embora os acórdãos trabalhados refiram-se expressamente à teoria concepcionista, em suas fundamentações não a entendemos necessária no discurso de aplicação da norma. Ora, sendo o nascituro um centro de imputação, como já afirmamos, despendianda a filiação a alguma teoria para atribuir-lhe personalidade. Esta se faz diante de situações jurídicas a ele previstas normativamente. Por fim, refutamos possíveis críticas que possam advir de autores que afirmam ser o nascituro detentor apenas de capacidade processual. Ora, se há direitos reclamáveis a via própria é a jurisdicional. Assim, a *legitimatío ad processum* só se faz presente na análise do caso concreto, não se sustentando sua distinção em relação à *legitimatío ad causam* (Chamon Júnior, 2006). A *legitimatío ad processum* implica, no mínimo, na possibilidade de ter direitos. Se não há essa possibilidade fática, não haverá tal legitimação. E sabemos que apenas à pessoa pode-se atribuir direitos. Logo, se há a possibilidade judiciária de se discutir situações jurídicas, ao nascituro não cabe apenas capacidade processual, mas personalidade civil.

##### 5. O embrião é pessoa em sentido jurídico?

Ora, se ao nascituro é possível atribuir personalidade jurídica, a depender do caso concreto como mencionado no item anterior, o mesmo pode ser dito em

relação ao embrião? Deveras a questão apresentada guarda certas particularidades que não nos permite a conclusão de que ambos os entes por nascer teriam a mesma possibilidade.

Não raras são as posições doutrinárias que defendem que sendo os embriões humanos pessoas por nascer, se assemelhariam às pessoas nascidas, por possuírem a mesma natureza. Em consequência de tal afirmação, há quem conclua no sentido de que o fundamento da dignidade humana previsto no art. 1º, inciso III da CR/88 poderia ser estendido à categoria dos seres embrionários. Não menos interessante se mostra a tese da titularidade difusa do embrião, que se reportaria a todos os seres humanos, indistintamente. Isso significa dizer que não há como se permitir o descarte e a manipulação de embriões, ainda que esta última se verificasse com fins terapêuticos<sup>16</sup>.

Não são tais questões que devem postas em discussão quando se trata da personalidade jurídica do embrião. É inegável que o modo de tratamento a ser dispensado ao embrião, para fins de seleção ou melhoramento, por exemplo, não pressupõe a compreensão da sua manifestabilidade ontológica, mas sim a sua representatividade em um contexto de convivência social.

A questão que propomos para reflexão no presente artigo é a seguinte: o embrião é "pessoa" em sentido jurídico? Como já dissemos acima, o artigo 2º do Código Civil estabelece que a personalidade tem início do nascimento com vida. No entanto, sua interpretação não é tão simples se analisarmos sua disposição final quanto ao nascituro: "Art. 2º A personalidade civil da pessoa começa do nascimento com vida; mas a lei põe a salvo, desde a concepção, os direitos do nascituro." Dessa forma, passamos agora a comparar a posição do nascituro e do embrião na ordem jurídica brasileira e a consideração do que venha a ser personalidade. Personalidade jurídica é centro de imputação normativa (Chamon Júnior, 2006) e, como tal, pode congrega situações jurídicas de direito subjetivo, dever jurídico, direito potestativo, sujeição, poder, ônus e faculdade. Não podemos, no entanto, dizer que o ordenamento jurídico nacional protege o nascituro apenas como "algo tutelável". Em várias situações o Código Civil coloca-o como partícipe de situações jurídicas, como nos casos em que reconhece ao nascituro o direito de ter sua paternidade reconhecida (parágrafo único do artigo 1.609), receber doação (artigo 542), herança e legado, ter nomeado um curador (artigo 1.779). Assim, o nascimento não seria condição para a existência da personalidade, mas para sua consolidação (Amaral, 2003). Diferente é a situação do embrião não gestado. É certo que o embrião humano é passível de tutela, porém o ordenamento jurídico não lhe imputa situações jurídicas. Assim, não há como o considerar detentor de direitos subjetivos, deveres jurídicos, direitos potestativos, sujeição, poderes, ônus ou faculdades. Não basta, portanto, ser passível de tutela, como o são vários bens jurídicos a que o legislador protege. Animais e vegetais são protegidos; situações jurídicas dizem respeito a eles, no entanto não podemos dizê-los "pessoas", pois a norma jurídica não lhes imputou a possibilidade de participarem do universo jurídico. Não são, pois, dotados de personalidade. Podemos dizer o mesmo do embrião não gestado. Assim como se torna dificultoso atribuir ao embrião humano dignidade – tal como se confere à pessoa humana nascida e socialmente individualizada no mundo da vida partilhado intersubjetivamente – também é difícil atribuir-lhe personalidade jurídica, tanto que as células que

o compõe podem ser utilizadas para fins de pesquisa, conforme decidido pelo Supremo Tribunal Federal na Ação Direta de Inconstitucionalidade n. 3510. A corroborar com tal perspectiva, segundo o STF, "[...] o embrião é o embrião, o feto é o feto e a pessoa humana é a pessoa humana. Onde não existir pessoa humana embrionária, mas embrião de pessoa humana. O embrião, referido na Lei de Biossegurança ('in vitro' apenas), não é uma vida a caminho de outra vida virginalmente nova, porquanto lhe faltam possibilidades de ganhar as primeiras terminações nervosas, sem as quais o ser humano não tem factibilidade como projeto de vida autônoma e irrepitível. O Direito infraconstitucional protege por modo variado cada etapa do desenvolvimento biológico do ser humano. Os momentos da vida humana anteriores ao nascimento devem ser objeto de proteção pelo direito comum. O embrião pré-implante é um bem a ser protegido, mas não uma pessoa no sentido biográfico a que se refere a Constituição." (ADI 3510, Relator(a): Min. Ayres Britto, Tribunal Pleno, julgado em 29/05/2008, DJe-096 Divulg 27-05-2010 Public 28-05-2010 Ement Vol -02403-01 PP-00134 RTJ VOL-00214- PP-00043). Isso não significa dizer, contudo, que o embrião é coisa (Moureira, 2010). Embora, historicamente, o ordenamento civil tenha trabalhado com a dicotomia pessoa/coisa, isto é, considera os seres corpóreos ou como integrantes da categoria de pessoas em sentido jurídico, ou parte da categoria de bens, não podemos localizar os embriões nesta última categoria, pelo menos não dentro da categoria de bens formulada sobre os moldes dos códigos oitocentistas.

<sup>16</sup>Habermas Jürgen. O Futuro da Natureza Humana. São Paulo: Martins Fontes; 2004, p. 36.

<sup>2</sup>Habermas Jürgen. O Futuro da Natureza Humana. São Paulo: Martins Fontes; 2004, p. 37.

<sup>3</sup>Habermas Jürgen. O Futuro da Natureza Humana. São Paulo: Martins Fontes; 2004, p. 28.

<sup>4</sup>Habermas Jürgen. O Futuro da Natureza Humana. São Paulo: Martins Fontes; 2004, p. 49.

<sup>5</sup>Habermas Jürgen. O Futuro da Natureza Humana. São Paulo: Martins Fontes; 2004, p. 49.

<sup>6</sup>Taylor Charles. As fontes do Self: a construção da identidade moderna. São Paulo: Edições Loyola; 1997, p. 52.

<sup>7</sup>Taylor Charles. As fontes do Self: a construção da identidade moderna. São Paulo: Edições Loyola; 1997, p. 53.

<sup>8</sup>Otero Paulo. Personalidade e Identidade Pessoal e Genética do Ser Humano: um perfil constitucional da bioética. Coimbra: Almedina; 1999, p. 31.

<sup>9</sup>Otero Paulo. Personalidade e Identidade Pessoal e Genética do Ser Humano: um perfil constitucional da bioética. Coimbra: Almedina; 1999, p. 31.

<sup>10</sup>Otero Paulo. Personalidade e Identidade Pessoal e Genética do Ser Humano: um perfil constitucional da bioética. Coimbra: Almedina; 1999, p. 32.

<sup>11</sup>Otero, Paulo. Personalidade e Identidade Pessoal e Genética do Ser Humano: um perfil constitucional da bioética. Coimbra: Almedina; 1999, p. 32.

<sup>12</sup>Otero, Paulo. Personalidade e Identidade Pessoal e Genética do Ser Humano: um perfil constitucional da bioética. Coimbra: Almedina; 1999, p. 33.

<sup>13</sup>Otero Paulo. Personalidade e Identidade Pessoal e Genética do Ser Humano: um perfil constitucional da bioética. Coimbra: Almedina; 1999, p. 44.

<sup>14</sup>RIO GRANDE DO SUL. Tribunal de Justiça. Apelação Cível n. 70010345999. Ação de indenização. Seguro DPVAT. Direito de a mãe receber a indenização correspondente ao nascituro. Apelante: Novo Hamburgo Companhia de Seguros Gerais. Apelado: Poliana Belo de Lima. Relator: Dr. Ney Wiedemann Neto, Porto Alegre, 24 nov. 2005. Disponível em: <<http://www.tj.rs.gov.br>>. Acesso em: 21 nov. 2006.

<sup>15</sup>RIO GRANDE DO SUL. Tribunal de Justiça. Apelação Cível n. 70013955192. Certidão de natimorto. Confeção indeferida

em razão da idade gestacional. Apelantes: Iolanda Elizabete Carvalho da Silva e Francisco de Assis da Rosa Costa. Apelação: a Justiça. Relator: Dr. José S. Trindade, Porto Alegre, 22 jun. 2006. Disponível em: <<http://www.tj.rs.gov.br>>. Acesso em: 21 nov. 2006.

<sup>18</sup>Este posicionamento foi adotado no livro *Filiação e Biotecnologia*, da Editora Mandamentos, em parceria com a Professora Ana Carolina Brochado Teixeira. Outro artigo sobre o tema encontra-se no livro "Desafios Jurídicos da Biotecnologia", intitulado *Princípios éticos e jurídicos da manipulação genética*, p. 107-146, Editora Mandamentos, 2007, de autoria de Maria de Fátima Freire de Sá e Gustavo Pereira Leite Ribeiro.

#### **Correspondência:**

Maria de Fátima Freire de Sá  
Endereço: Av. Bernardo Monteiro, 1300/503. Bairro Funcionários. Belo Horizonte – Minas Gerais.  
CEP. 30.150-281.  
Telefone: (31) 8741-3579  
Email: mfatimasa@uol.com.br

#### **REFERÊNCIAS**

Amaral F. *Direito civil: introdução*. 5. ed. rev. aum. e atual. Rio de Janeiro: Renovar; 2003.

Chamon Junior LA. *Teoria geral do direito moderno: por uma reconstrução crítico-discursiva na alta modernidade*. Rio de Janeiro: Lumen Juris; 2006

Habermas J. *O Futuro da Natureza Humana*. São Paulo: Martins Fontes; 2004.

Moureira DL. *Seleção Terapêutica de Embriões: questões éticas e jurídicas acerca da nossa autocompreensão enquanto seres da espécie humana*. *Revista IOB de Direito de Família*, 2010; 59:74-104.

Otero P. *Personalidade e Identidade Pessoal e Genética do Ser Humano: um perfil constitucional da bioética*. Coimbra: Almedina; 1999.

Perlingieri P. *Perfis do direito civil: introdução ao direito civil constitucional*. Tradução de Maria Cristina De Cicco. Rio de Janeiro: Renovar; 1999.

Sá MFF de, Naves BTO. *Manual de Biodireito*. 2ª ed. Belo Horizonte: Del Rey; 2011.

Taylor C. *As fontes do Self: a construção da identidade moderna*. São Paulo: Edições Loyola; 1997.

# Vasectomia no sistema público de saúde de Birigui, São Paulo, Brasil

## Vasectomy within the public health service in Birigui, São Paulo, Brazil

Fábio Castilho Navarro

<sup>1</sup> Médico Especialista em Urologia, Membro Titular da Sociedade Brasileira de Urologia e pós-graduado lato-sensu pelo Instituto Sapientiae - Centro de Estudo e Pesquisa em Reprodução Humana Assistida.

Trabalho executado no Centro Médico Hospitalar de Birigui - SP  
Apoiado pela Prefeitura Municipal de Birigui - SP

### RESUMO

**Objetivo:** Este estudo objetivou caracterizar os pacientes submetidos à vasectomia no sistema público de saúde de Birigui-SP e estudar as variáveis associadas.

**Métodos:** Foram pesquisados 150 prontuários de pacientes vasectomizados e contactados por telefone para avaliação de diversas características. As variáveis verificadas para o estudo foram: idade, estado marital, escolaridade, religião, renda mensal familiar e per capita, número de filhos vivos, motivo da procura pelo método, o uso de contraceptivos, qualidade do relacionamento conjugal, tempo de decisão (data de intenção até a realização do procedimento) e a causa da não realização do procedimento. Os dados foram agrupados para análise dos resultados.

**Resultados:** A idade dos homens variou de 25 a 50 anos (média de 35,68 anos) e média de filhos vivos de 2,4. A renda familiar média mensal era de R\$ 1267,45, com renda per capita média de R\$ 302,94. A anticoncepção do casal antes do procedimento ficava por conta da mulher que utilizava de medicação anti-concepcional oral (79%). O índice de complicações com o método girou em torno de 8%, sendo a maior complicação a deiscência (83,3% dos casos de complicações), sendo estes principalmente nos 50 primeiros casos.

**Conclusão:** A vasectomia é um método contraceptivo bastante eficaz, com baixo índice de complicações e baixo custo, devendo ser estimulado pelo sistema público de saúde como forma de política de planejamento familiar.

**Palavras-chave:** Vasectomia, anticoncepção, esterilização reprodutiva, planejamento familiar

### ABSTRACT

**Objective:** This study aimed to characterize candidates undergo vasectomy in the public health system, Birigui-SP and to study related variables.

**Methods:** We surveyed 150 medical patients and vasectomized contacted by telephone to assess several characteristics. The variables analyzed for the study were age, marital status, education, religion, monthly family income and per capita, number of living children, reason for seeking treatment method, contraceptive use, marital relationship quality, decision time (date of intent to perform the procedure) and not because of the procedure. Data were pooled for the analysis of results.

**Results:** The age of the candidates ranged from 25 to 50 years (mean 35.68 years) and average 2.4 living sons. The average monthly family income was R\$ 1.267,45, with average per capita income of R\$ 302,94. The couple's contraception before the procedure was on account of

the woman who used oral anti-conception (79%). The complication rate with the method was around 8%, the biggest complication was deiscence (83,3% of cases of complications), these being mainly the first 50 cases.

**Conclusion:** Vasectomy is a very effective contraceptive method, with low complication rate and low cost, should be encouraged by the public health system as a means of family planning policy.

**Keywords:** vasectomy, contraception, reproductive sterilization, family planning

### INTRODUÇÃO

A esterilização cirúrgica masculina (vasectomia) é a forma mais efetiva, segura e com baixo custo (Trollip, 2009; Eisenberg, 2009), principalmente quando comparada a laqueadura. O temor de alguns homens em relação à satisfação sexual pós vasectomia é irreal, já que alguns estudos reportam melhora do orgasmo (Arratia-Maqueo, 2010).

Apesar dessas vantagens, a laqueadura é mais realizada que a vasectomia em nosso país (Datusus), bem como ocorre nos Estados Unidos, que estimam em 300000 casos por ano e 700000 casos de laqueadura tubária (Shih, 2010; Eisenberg, 2010). Apesar de ser um procedimento ambulatorial, a razão da incidência de laqueadura ser maior que a de vasectomia é indefinida. Na China, há uma política de incentivo governamental ao controle de natalidade, estimulando o uso do Dispositivo intra-uterino (DIU), laqueadura e vasectomia, além de proporcionar recursos para a pesquisa nesta área (Wu, 2010).

Apesar da garantia constitucional do controle de natalidade, a oferta na saúde pública é escassa (Vieira, 2001). Em maio de 2009 foi iniciado um programa de controle de natalidade na cidade de Birigui-SP, até então inédito, com incentivo municipal e federal através do SUS (Sistema Único de Saúde), proporcionando acesso a homens carentes.

Este estudo objetivou descrever as características reprodutivas, demográficas e sócio-econômicas dos homens submetidos à vasectomia no sistema público de saúde de Birigui-SP.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os candidatos eram avaliados por um urologista em uma UBS (Unidade Básica de Saúde) e aqueles que se enquadravam a legislação eram encaminhados para psicólogo e assistente social, para que houvesse desencorajamento da esterilização precoce. Caso isso não ocorresse, entrava em uma lista única e era submetido à vasectomia, nunca antes de 60 (sessenta) dias da indicação.

Os procedimentos foram todos realizados no Centro Médico Hospitalar de Birigui no período de Maio de 2009 a Abril de 2011.

As variáveis verificadas para o estudo foram: idade, estado marital, escolaridade, religião, renda mensal familiar e per capita, número de filhos vivos, motivo da procura pelo método, o uso de contraceptivos, qualidade do relacionamento conjugal, tempo de decisão (data de intenção até a realização do procedimento) e a causa da não realização do procedimento.

Além disso, foram avaliados tempo cirúrgico, complicações pós-operatórias, uso ou não de medicação no pós-operatório, arrependimento e grau de satisfação com o procedimento.

O procedimento era ambulatorial e o paciente recebia as medicações prescritas (cefalexina, diclofenaco e dipirona) para fazer uso por 7 (sete) dias, devido ao risco de infecção pelo baixo nível sócio-econômico. Eram realizadas orientações de higiene local e recebiam 03 (três) dias de repouso (CID - Z30.2). Era fornecido um pedido de espermograma para ser realizado 60 (sessenta) dias após o procedimento. Na constatação de azoospermia, o paciente era liberado para relação sexual sem métodos anticoncepcionais.

Todos os pacientes foram submetidos à cirurgia ambulatorial pelo mesmo cirurgião e reavaliados 07 (sete) dias após o procedimento. Aqueles que não retornavam eram automaticamente excluídos do estudo.

Os pacientes foram informados pelo cirurgião sobre os riscos, dificuldade da reversão e da esterilização permanente e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido e registro de expressa manifestação de vontade.

### Técnica Operatória

Isolamento do ducto deferente com a técnica dos três dedos, bloqueio local com lidocaína 2%, com volume de 3 ml e abertura da pele e fâscias com bisturi lâmina 15. Utilizava-se uma pinça de apreensão de deferente e o mesmo era dissecado com pinça de Kelly curva.

Quando totalmente isolado o ducto era seccionado com bisturi. Os cotos deferentais eram ligados com fio inabsorvível (nylon 3.0). Após revisão da hemostasia, a pele era fechada com catgut 2.0 simples. Procedimento semelhante era realizado no ducto deferente contra-lateral e finalizado com curativo com micropore.

### Avaliação per-operatória

O tempo foi contado a partir do bloqueio anestésico até o curativo. O tamanho da incisão foi em média menor que 1 cm e em muitas vezes puntiforme, sendo suturadas. Em nenhum paciente foi necessária a ampliação da incisão.

### Avaliação pós-operatória

Realizada após sete dias do procedimento no mesmo local da cirurgia, sendo avaliadas a presença de hematoma, infecção, orquiepididimites, dor e/ou incômodo e deiscência. Foram avaliados uso de analgésicos e tempo de repouso. Os pacientes que não retornaram em sete dias foram excluídos do estudo.

Os dados foram coletados em Outubro de 2011 pelo pesquisador através de questionário realizado via telefone e levantamento dos prontuários dos pacientes pela enfermeira (anexo 1). Os pacientes tinham em média 280 dias de operados (183-500 dias).

Pacientes com espermatozoides no espermograma, eram submetidos a nova análise seminal em 40 dias e os que permaneciam férteis na segunda amostra eram submetidos à nova vasectomia. A causa da falha não foi avaliada.

## RESULTADOS

Todos os 150 pacientes submetidos a cirurgia foram incluídos no estudo, pois todos retornaram para avaliação no 7º dia de pós operatório.

Características socioeconômicas e demográficas

A Tabela 1 mostra as características sócio-demográficas dos homens vasectomizados. A idade dos homens variou de 25 a 50 anos, sendo a idade média 35,68 anos; 78,67% eram casados, 2,66% viviam em união consensual e 18,67% se diziam solteiros. Quanto ao número de casamento/relacionamento estável, 85% estavam no 1º. e 15% no 2º. Em relação à escolaridade, 11,34% tinham primeiro grau incompleto, 52% tinham o primeiro grau completo, 10% o segundo grau incompleto e 26,66% o 2º. Grau completo. Nenhum paciente estava cursando ou tinha terminado o grau superior. A renda familiar média mensal calculada foi de R\$ 1267,45, sendo a mínima de R\$ 465,00 e a máxima R\$ 3.317,00 mensais. A renda familiar per capita média mensal calculada foi de R\$ 302,94, sendo a mínima R\$ 77,50 e a máxima de R\$ 829,50. O número médio de filhos vivos foi 2,4, variando de 1 a 5. Em relação à religião, a maioria (66%) identificou-se como católica.

**Tabela 1.** Características sócio-demográficas dos 150 homens vasectomizados

Características		
Idade	N	%
<30	24	16
30-39	93	62
>=40	33	22
Escolaridade		
1º grau incompl	17	11,34
1º grau compl	78	52
2º grau incompl	15	10
2º grau compl	40	26,66
Religião		
Católica	99	66
Evangélica	40	26,67
Outra/Nenhuma	11	7,33
Renda per capita		
Até R\$ 300,00	87	58
R\$301,00-450,00	46	30,67
> R\$ 450,00	17	11,33

Os indivíduos com 2 ou 3 filhos apresentaram renda per capita de até R\$ 300,00, havendo diferença estatisticamente significativa (Tabela 2).

Além disso, houve diferença significativa em homens vasectomizados segundo idade e renda per capita familiar até R\$ 300,00, exceto nos indivíduos maiores de 45 anos (Tabela 3).

### Contracepção

O uso anterior de anticoncepcional oral pela esposa foi relatado por 79% dos homens e 11% referiram o uso do preservativo masculino. O coito interrompido foi encontrado em 1% dos casos e o uso de mulheres com anticoncepcional injetável 9%.

**ANEXO 1** – Questionário de Avaliação pós-operatória

Dados adquiridos pelo prontuário pela enfermeira:	
Número do prontuário: _____	Iniciais: _____ Idade: _____ Número de filhos vivos: _____
Estado civil: _____	Data da procura pelo serviço: _____ Data da cirurgia: _____
Escolaridade: _____	Religião: _____ Renda Mensal: _____ Renda Per Capita: _____
Dados adquiridos pelo telefone pelo médico cirúrgico:	
1) Como o Sr. Classifica a forma de relacionamento com a atual parceira: bom, regular, ruim, conflituoso ou outro ?	
2) A realização do procedimento foi devido a problemas de saúde da esposa, número satisfatório de filhos do casal, dificuldade financeira ou outro?	
3) Houve alguma complicação no período pós-operatório, como infecção, inchaço local, hematoma, abertura dos pontos ou outra?	
4) Qual a forma de evitar filhos que vocês utilizavam antes do procedimento, anti-concepcional oral, preservativo, anti-concepcional injetável, tabelinha, coito interrompido ou outro?	
5) O Sr. se arrependeu de ter feito o procedimento? Se sim, qual o motivo?	
6) O Sr. usou a medicação prescrita pelo médico no pós-operatório?	
7) Qual o grau de satisfação com o procedimento: muito contente, contente, insatisfeito, desapontado ou outro?	

**Tabela 2.** Distribuição dos 150 homens vasectomizados, segundo número de filhos e renda per capita

Renda per capita (R\$)	Número de filhos							
	1		2		3		4 ou mais	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Até 300,00	3	2	32	21,33	36	24	15	10
301,00–450,00	4	2,66	33	22	6	4	-	-
> 450,00	9	6	12	8	-	-	-	-
TOTAL	16		77		42		15	

**Tabela 3.** Distribuição dos 150 homens vasectomizados, segundo idade e renda per capita

Renda per capita (R\$)	Idade									
	< 30		30-35		35-40		40-45		> 45	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Até 300,00	19	12,66	28	18,66	26	17,33	9	6	4	2,66
301,00–450,00	6	4	13	8,66	17	11,33	3	2	5	3,33
> 450,00	2	1,33	7	4,66	4	2,66	4	2,66	3	2
TOTAL	27		48		47		16		12	

**Motivo da procura do método cirúrgico**

Dos homens que procuraram os métodos cirúrgicos, 82% o fizeram por estarem satisfeitos com o número de filhos que tinham; 15% pelas esposas terem problemas de saúde; 3% revelou não querer mais filhos por dificuldades financeiras. Todos os casais candidatos referiram ter bom relacionamento conjugal.

**Aconselhamento**

O tempo médio entre a intenção e a realização do procedimento foi 123,6 dias. Excluindo-se este, o tempo mais curto entre a manifestação da vontade e o procedimento foi 61 dias, e o mais longo, 241 dias. O tempo médio vem apresentando queda nos últimos casos, sendo de 114 dias nos últimos 50 casos.

**Procedimentos realizados**

O tempo cirúrgico médio nos 150 casos foi de 13,6 minutos (6-39), sendo que inicialmente chegou a 24,3 minutos e nos últimos 50 casos está em 12,4 minutos. Apenas 6 pacientes (4%) referiram dor ou desconforto no per-operatório. O índice de complicações foi de 8%; destes 83,3% era deiscência, 8,3% hematoma e 8,3% infecção local; nenhum paciente necessitou de intervenção cirúrgica para correção de complicações. 81% das complicações ocorreram nos primeiros 50 casos, vindo a apresentar decréscimo. Noventa e nove por cento dos pacientes utilizaram a medicação prescrita no pós-operatório. O grau de satisfação foi de 27% muito contente, 73% contente. Nenhum paciente demonstrou-se insatisfeito ou desapontado. Nenhum paciente se arrependeu do procedimento.

### Espermograma pós-operatório

Quarenta e seis por cento dos pacientes não fizeram o espermograma de controle, sendo orientados a fazê-lo e fornecido novo pedido. Destes, apenas 5% retornaram com o espermograma para reavaliação. O índice de falha do procedimento foi de 0,66 %, sendo este paciente reoperado com sucesso.

### DISCUSSÃO

A esterilização masculina (vasectomia) é a forma mais efetiva de contracepção masculina. Quando comparada à laqueadura tubária, apresenta-se mais eficaz, com melhor custo-benefício e com baixas taxas de complicações. Apesar disso, ela continua sendo sub-utilizada; dados norte-americanos de 2002 indicam que cerca de 300.000 vasectomias são realizadas por ano, sendo bem inferior, quando comparada às laqueaduras que superam os 650.000 casos (Eisenberg, 2010).

No Brasil as estatísticas não são diferentes. Dados do Ministério da Saúde indicam que apesar do crescimento de 79% do número de vasectomias entre 2003 e 2009, esta representa apenas metade do número de laqueaduras por ano no Brasil, quando se relaciona o ano de 2009 (34144 vasectomias X 61847 laqueaduras). ([www.datasus.gov.br](http://www.datasus.gov.br)). Há de se relatar que cerca de 50% desses casos concentra-se no Estado de São Paulo, denotando uma maior dificuldade de acesso em outras regiões do país, apesar das políticas públicas de incentivo ao controle de natalidade.

Os resultados deste estudo demonstram que a esterilização masculina é feita em casais estáveis, de baixa renda e escolaridade, que se apresentam satisfeitos com o número de filhos. A maior parte destes já havia tentado limitar a prole fazendo uso de métodos anticoncepcionais reversíveis, corroborando estudo anterior em outra localidade regional. (Navarro, 2011). Quanto ao método utilizado antes da cirurgia e o motivo pela vasectomia, observa-se uma tendência comum de responsabilizar a anticoncepção para a mulher através do uso de medicação oral, como denota outros estudos (Marchi, 2003).

Quando o paciente opta pelo procedimento cirúrgico, isto ocorre porque essencialmente o número de filhos está adequado ao casal, mas também por algum efeito maléfico do uso de medicação pela esposa, de forma a protegê-la e evitar sofrimentos e desgastes ao convívio familiar. Algo que se observou foi a certeza da realização do método pelo homem, que já chega ao serviço de saúde decidido por fazê-lo, dificultando dessa forma a oferta a outros métodos anticoncepcionais reversíveis e apresentando uma resistência a mudança ao método, o que pode levar a um maior risco de arrependimento. Estudos comprovam que esses homens e também suas parceiras já tentaram diversas formas de anticoncepção antes de decidir por uma esterilização definitiva e que o homem decide quando é sua hora de intervir, preferindo submeter-se à vasectomia ao invés da mulher ser laqueada (Marchi, 2005).

A vasectomia e a laqueadura seguem a Lei 9263 de 12 de Janeiro de 1996 provendo cirurgia a solicitantes com capacidade civil plena e maiores de 25 anos ou com 2 filhos vivos, sendo que deve-se haver um período de 60 dias de desaconselhamento do casal pelo serviço público, visando desencorajar esterilização precoce. Há de se levar em conta que a lei vigente proporciona o direito de esterilização a um indivíduo com 25 anos e sem filhos, ou então um indivíduo mais jovem e com 2 filhos, o que pode levar a arrependimento precoce do procedimento (podendo chegar

até 11%), levando a reversão cirúrgica em alguns casos, o que pode onerar o sistema público de saúde. É muito comum atualmente o homem vasectomizado separar-se e arrumar uma nova parceira que exija prole, levando o homem a reversão ou a métodos de reprodução assistida. Embora exista uma tendência a Técnicas de Reprodução Assistida pós-vasectomia, a vaso-vasostomia ainda continua sendo o padrão-ouro (Tournaye, 2010).

Estudos apontam o fator idade como sendo o mais importante fator de arrependimento, acompanhado pelo relacionamento conjugal ruim (Jamieson, 2002). Apesar disso, deve-se estimular o acesso aos serviços públicos de saúde para planejamento familiar, com ações educativas, oferta de diversos métodos de contracepção, equipe multidisciplinar capacitada, visando desencorajar a esterilização precoce. Apesar disso, Osis e cols (2006) discriminou problemas quanto à assistência, disponibilização de métodos anticoncepcionais, ações educativas e equipes treinadas, de tal forma que o casal que procura a UBS vai para retirar seu anticoncepcional oral ou buscar preservativo, apenas isso. Na China a contracepção é uma política de estado básica, com objetivo de controle de natalidade e qualidade de vida da população, sendo o acesso de forma gratuita, com cerca de 90% dos casais em período fértil usando algum método. (Wu, 2010). Destes, apenas 6,1% optam pela vasectomia. Além disso, o governo incentiva a pesquisa em tecnologia de contracepção. Diversos pesquisadores tentam descobrir uma droga anticoncepcional masculina (pílula masculina), de forma a minimizar a chance de procedimento cirúrgico no homem (Manetti, 2010), o que poderia trazer um método anticoncepcional reversível, bem tolerado e com baixos efeitos-colaterais, como alternativa a vasectomia, já que 3 a 5% dos homens com vasectomia, eventualmente, vão solicitar a reversão, geralmente devido a um novo casamento (Awsare, 2005). As taxas de gravidezes na reversão variam de 30-60%, estando principalmente relacionados à técnica microcirúrgica e o intervalo de tempo entre a vasectomia e a cirurgia de reversão (Myers, 1997; Nagler, 2009; Robb, 2009).

Talvez ainda um dos grandes problemas que impede a realização da vasectomia seja o preconceito quanto à possibilidade de alteração na função sexual. Não há alteração quanto a esse quesito, já validado por diversos estudos com questionários internacionais de avaliação da função sexual (Arratia-Maqueo, 2010).

O tempo de espera que era em média de 123,6 dias vem caindo progressivamente (atualmente é de 114 dias), o que denota eficiência do processo, mesmo se tratando de serviço público e com grande volume, corroborando outros estudos semelhantes (Navarro, 2010; Marchi, 2010), sendo que levando em conta o período de arrependimento de 60 dias, acreditamos que a espera é aceitável. Berquó (2002) descreve que a realidade brasileira é um pouco diferente, caracterizada pela longa fila de espera, aumentando assim o risco de gravidez indesejada.

Alguns estudos tentam estabelecer o tempo necessário para azoospermia pós-vasectomia, relatando que ao redor de 41% de homens apresentam raros espermatozoides imóveis após 6 meses de procedimento (Luján, 2010). Apesar disso, outros estudos questionam a importância destes espermatozoides no ejaculado quanto ao risco de contracepção ou mesmo ainda se o fator tempo seria mais importante que o número de ejaculações no pós-operatório (Singh, 2010), necessitando estudos adicionais.

O estudo demonstra que a idade média do candidato a vasectomia fica em torno de 35,68 anos e apresenta em média 2,4 filhos, corroborando com outros estudos que demonstram 32,2 anos (Osís, 2005) e 37,8 anos (Vieira, 2005). Além disso, o objetivo do acesso aos pacientes com baixo nível sócio-econômico esta sendo contemplado no programa, observado através da baixa escolaridade e baixa renda per capita dos candidatos. A taxa de complicações da vasectomia é similar a de outros estudos (8%) (Adams, 2009). Esta foi principalmente observada nos 50 primeiros casos, denotando queda com a melhora na experiência do cirurgião. Trata-se de procedimento seguro, eficaz, com taxa de falha baixa (1%) (Awsare, 2005), o que vem estimulando cada vez mais homens a procurar o procedimento. Isso faz com que o retorno a atividade laboral seja precoce (cerca de 3 dias após o procedimento), não acarretando em afastamento prolongado e perdas financeiras no ambiente de trabalho. Apesar da orientação exaustiva, pouco mais da metade dos pacientes preocupou-se em realizar o espermograma de controle (54%), corroborando outros estudos (Navarro, 2011), o que pode levar a gravidez indesejada por falha no método, levando a acionamentos judiciais dos profissionais envolvidos no programa. Sendo assim, reforçamos a necessidade da orientação junto a esses profissionais no sentido de aumentar o índice, já que não se trata de método infalível. Não se identificou nenhum caso neste estudo até o momento de gravidez indesejada. Devemos estimular o controle de natalidade em nosso país, bem como capacitar profissionais interessados em desenvolver trabalhos na área pública, beneficiando principalmente a população de baixo nível sócio-econômico, de forma a diminuir as desigualdades em nosso país, já que a esterilização masculina cirúrgica é método consagrado pela alta segurança, baixo custo e exequível em qualquer local, mesmo que os recursos locais sejam esparsos.

### Correspondência

Fábio Castilho Navarro  
Av da Saudade, 999 – ap 52  
CEP 16020-070  
Fone/Fax (18) 3625-6367  
Araçatuba - SP  
e-mail: fabio\_navarro@uol.com.br

### REFERÊNCIAS

Adams CE, Wald M. Risks and complications of vasectomy. *UrolClin North Am.* 2009 Aug;36(3):331-6.

Arratia-Maqueo JA, Cortés-González JR, Garza-Cortés R, Gómez-Guerra LS. Evaluation of male sexual satisfaction after vasectomy. *Actas Urol Esp* 2010 Nov; 34(10): 870-3.

Awsare NS, Krishnan J, Boustead GB, Hanbury DC, McNicholas TA Complications of vasectomy. *Ann R Coll Surg Engl.* 2005; 87:406-410.

Berquó E, Cavenaghi S, Oliveira V. Estudo multicêntrico sobre o impacto da nova legislação brasileira a respeito da esterilização voluntária. Pesquisa de Campo em Campinas, 2002

Brasil, Constituição, 1988. Constituição da República Federativa do Brasil: 7º parágrafo do artigo 126. Disponível em <<http://www.providafamilia.org.br>>.

Duarte GA, Alvarenga AT, Osís MJD, Faúndes A, Sousa MH. Participação masculina no uso de métodos contraceptivos. *Cad Saúde Pública.* 2003; 19(1): 207-216.

Eisenberg ML, Henderson JT, Amory JK, Smith JF, Walsh TJ. Racial differences in vasectomy utilization in the United States: Data from the National Survey of Family Growth. *Urol.* 2009 Nov; 74(5): 1020-1024.

Eisenberg ML, Lipshultz. Estimating the number of vasecto-

mies performed annually in the United States: data from the National Survey of Family Growth. *J Urol.* 2010 Nov; 184(5): 2068-72. Epub 2010 Sep 20.

Jamieson DJ, Kaufman SC, Costello C, Hillis SD, Marchbanks PA, Peterson HB. A comparison of women's regret after vasectomy versus tubal sterilization. *Obstet Gynecol.* 2002; 99(6):1073-9.

Luján M, Vigil A, Turo J, Pascual C, Nevado M, Martín C, Chiva V. The performance of vasectomy in an urban municipality. Practical considerations for follow-up. *Arch Esp Urol.* 2010 Nov; 63(9): 797-802.

Marchi NM, de Alvarenga AT, Osís MJ, Bahamondes L. Opção pela vasectomia e relação de gênero. *Cad Saude Publica.* 2003 19(4); 1017-1027.

Marchi NM, de Alvarenga AT, Osís MJ, de Aguiar Godoy HM, Simões E Silva Domeni MF, Bahamondes L. Vasectomy within the public health services in Campinas, São Paulo, Brazil. *Int Nurs Rev.* 2010 Jun;57(2):254-9.

Manetti GJ, Honig SC. Update on male hormonal contraception: is the vasectomy in jeopardy? *Int J Impot Res.* 2010 May-Jun; 22(3): 159-70. Epub 2010 Mar 25.

Minella LS. A produção científica sobre esterilização feminina no Brasil nos anos 80 e início dos anos 90: um debate em aberto. *Revista Brasileira de Estudos Populacionais* 1998; 15:3-22.

Myers SA, Mershon CE, Fuchs EF Vasectomy reversal for treatment of the post-vasectomy pain syndrome. *J Urol.* 1997; 157:518-520.

Nagler HM, Jung H. Factors predicting successful microsurgical vasectomy reversal. *UrolClin North Am.* 2009 Aug; 36(3):383-90.

Navarro FC, Pasqualotto FF, Borges Jr E. Vasectomia no sistema público de saúde: Características dos candidatos e variáveis associadas. *JBRA Assist. Reprod.* 2011; Jan-Feb; 15: 19-23.

Osís MJD, Faúndes A, Sousa MH, Duarte GA, Bailey P. Fertility and reproductive history of sterilized and non-sterilized women in Campinas, São Paulo, Brazil. *Cad Saúde Pública* 2003; 19(5): 1399-1404.

Osís MJD, Faúndes A, Makuch MJ, Araujo MJO. Atenção ao planejamento familiar no Brasil hoje: reflexão sobre os resultados de uma pesquisa. *Cad Saúde Pública* 2006; 22(11): 2481-2490.

Page ST, Amory JK, Bremner WJ. Advances in male contraception. *Endocr Rev.* 2008 Jun; 29(4):465-93. Epub 2008 Apr 24. Review.

Robb P, Sandlow JI. Cost-effectiveness of vasectomy reversal. *UrolClin North Am.* 2009 Aug; 36(3):391-6. Review.

Shih G, Turok DK, Parker WJ. Vasectomy: the otter (better) form of sterilization. *Contraception.* 2011 Apr; 83(4):310-5. Epub 2010 Oct 8.

Singh D, Dasila NS, Vasudeva P, Dalela D, Sankhwar S, Goel A, Singh V, Singh A, Jain A, Singh BP, Ahmed N. Intraoperative distal vasal flushing--does it improve the rate of early azoospermia following no-scalpel vasectomy? A prospective, randomized, controlled study. *Urology.* 2010 Aug;76(2):341-4. Epub 2010 May 7.

Tournaye H. Update on surgical sperm recovery-the European View. *Hum Fertil (Camb).* 2010 Dec; 13(4): 242-6.

Trollip GS, Fisher M, Naidoo A, Theron PD, Heyns CF. Vasectomy under local anaesthesia performed free of charge as a family planning service: complications and results. *S Afr Med J.* 2009 Apr; 99(4): 238-42.

Vieira EM, Fabio SV, Gueleri W, Picado MP, Yoshinaga E, Souza L. Característica dos candidatos à esterilização cirúrgica e os fatores associados ao tipo de procedimento. *Cad Saúde Pública* 2005; 21(6): 1785-1791.

Vieira EM. A implementação da Lei 9.263/planejamento familiar no Município de Ribeirão Preto: a esterilização feminina. Ribeirão Preto: Departamento de Medicina Social, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2001. (Relatório Final de Pesquisa).

Wu SC. Family planning technical services in China. *Front Med China.* 2010 Sep; 4(3):285-9. Epub 2010 Aug 12.

# Viabilidade de embriões de camundongo (*Mus musculus*) frescos e vitrificados mantidos por tempos diferentes a temperatura ambiente

## Viability of mouse embryos (*Mus musculus*) fresh and vitrified exposed to different times at room temperature

Vinicius Bonato da Rosa<sup>1</sup>, Vera Lucia Langaro Amaral<sup>2</sup>, Martina Cordini, José Augusto Lucca Neto<sup>1</sup>, Alessandro Schuffner<sup>1</sup>, Marcel Frajblat<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Conceber – Centro de Medicina Reprodutiva - Curitiba, Paraná

<sup>2</sup> Universidade do Vale do Itajaí – UNIVALI - Itajaí, Santa Catarina

Trabalho realizado na Universidade do Vale do Itajaí – SC

### RESUMO

**Introdução:** A manutenção de embriões é um fator importante para o transporte a distâncias variadas e sua posterior utilização.

**Objetivo:** Testar a viabilidade de embriões de camundongo frescos e vitrificados/aquecidos expostos à temperatura ambiente por diferentes períodos.

**Métodos:** Fêmeas de camundongo foram estimuladas por dois dias com eGH, receberam hCG ao final do segundo dia e colocadas com machos, após a confirmação da cópulas os embriões foram lavados da tuba uterina no terceiro dia de desenvolvimento e separados em 6 grupos.

**Resultados:** Embriões frescos expostos à temperatura ambiente por 12 horas (grupo 2) tiveram taxa de blastocisto igual ao controle (grupo 1). Já ao manter embriões por 24 horas (grupo 3) houve uma pequena queda na viabilidade. O processo de vitrificação não ocasionou redução na taxa de blastocisto, quando comparado com o grupo 1. Porém, ao manter embriões vitrificados por 12 ou 24 horas (grupos 5 e 6) a taxa de blastocisto teve uma redução, quando comparado ao controle (grupo 4). Quando embriões frescos ou vitrificados/aquecidos foram expostos à temperatura ambiente por 24 horas (grupos 3 e 6), a taxa de blastocisto foi menor do que embriões mantidos por 12 horas (grupos 2 e 5). Este método de preservação por curtos períodos se mostrou adequado para transporte de embriões frescos por 12 a 24 horas e para embriões vitrificados por 12 a 24 horas, mesmo que com taxas de blastocisto reduzidas.

**Conclusão:** Este estudo mostra que é viável manter embriões frescos por 12 horas com nenhuma perda de viabilidade, enquanto manter embriões vitrificados/aquecidos acarreta em uma pequena perda de viabilidade, porém sem prejudicar o desenvolvimento *in vitro*.

**Palavras-chave:** Reprodução animal, Embrião, Blastocisto, Temperatura ambiente, Transporte.

### ABSTRACT

**Introduction:** The maintenance of embryos is an important factor for the transport distances between them and their subsequent use.

**Objective:** To test the viability of mouse embryos fresh and vitrified/warmed exposed at room temperature for different periods.

**Methods:** Female mice were stimulated for two days with eGH, received hCG at the end of the second day and placed with males, after confirmation of mating, embryos were flushed from the oviduct on the third day of development and separated into six groups.

**Results:** fresh embryos exposed to ambient temperature for 12 hours (group 2) had the same blastocyst rate (group 1). To keep the embryos for 24 hours (group 3) there was a slight decrease in viability. The vitrification process did not reduce the rate of blastocyst compared with group 1. However, by maintaining vitrified embryos for 12 or 24 hours (groups 5 and 6) the rate of blastocyst was reduced when compared to control (Group 4). When fresh or vitrified/warmed embryos were exposed to room temperature for 24 hours (groups 3 and 6), the blastocyst rate was smaller than embryos kept for 12 hours (group 2 and 5). The preservation method for short periods is adequate for the transport of fresh embryos for 12-24 hours and for embryos vitrified for 12-24 hours, even with a small reduction in blastocyst rates.

**Conclusion:** This study shows that it is possible to keep fresh embryos for 12 hs with no loss of viability, Meanwhile, maintaining vitrified/warmed ones leads to a small loss of viability but without harming the development *in vitro*.

**Keywords:** Animal reproduction, embryo, blastocyst, Ambient, Transportation.

### INTRODUÇÃO

A produção de embriões murinos é fundamental para o desenvolvimento de diversas áreas da ciência através do aprimoramento de técnicas e protocolos. O intercâmbio de embriões é mais vantajoso do que enviar e receber animais, pois facilita a logística envolvida e apresenta custo menor (Bilton & Moor, 1977). Porém quando o laboratório receptor não possui o domínio das técnicas de aquecimento ou não dispõe de equipamentos para manter os embriões estocados, é conveniente o envio de embriões frescos. Além disso, esses procedimentos requerem uma infraestrutura mínima e conhecimento técnico para serem realizados (Tada et al., 1990; Nakagata e Takeshima 1992).

Uma vantagem do domínio dos métodos de criopreservação é a possibilidade de formar bancos de embriões, com isso é possível preservar o material genético de espécies com alto valor zootécnico (Kuleshova & Lopata, 2002). Porém o processo de criopreservação tem normalmente efeitos

negativos como a perda da viabilidade do embrião (Gordon, 1994). Outro efeito negativo é causado pelos crioprotetores usados nos processos de vitrificação é por vezes efeito tóxico sobre os embriões (Rall & Fahy, 1985). Desta maneira, processos de resfriamento e manutenção de embriões à temperatura ambiente são alternativas que atendem a certas necessidades, possibilitando o transporte a distâncias variadas, reduzindo os custos e dispensando os processos de criopreservação, além de minimizar a perda da qualidade embrionária (Leibo & Wittinger, 1986).

O objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade dos embriões expostos à temperatura ambiente após criopreservação e a fresco, buscando alternativas para o transporte de embriões para finalidades diversas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Superovulação e coleta dos embriões

Foram utilizadas fêmeas de camundongo F1 (C57bl/6 x Swiss). Os animais foram mantidos a temperatura de 22+ 2°C e ciclo de luz 12/12h (claro/escuro). Fêmeas com 4 a 5 semanas foram superovuladas através da administração intraperitoneal de 5 UI eCG (Novormon - Synthex) e após 48h com 5 UI hCG (Vetecor - Calier). Após a injeção de hCG, as fêmeas foram colocadas com machos da linhagem swiss durante a noite. Na manhã do dia seguinte, após observação da presença do tampão vaginal foram separadas dos machos. No dia +3 as fêmeas foram sacrificadas por deslocamento cervical. Os embriões foram lavados da tuba uterina com meio HTF-Hepes + 10% de SFB (soro fetal bovino). Os embriões foram selecionados utilizando-se como critério de avaliação sua morfologia, regularidade dos blastômeros e grau de compactação. Após a seleção, os embriões foram separados em seis grupos.

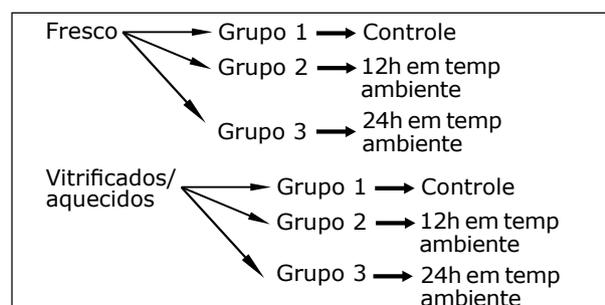
### Grupos (Figura 1):

Grupo 1: Após a coletas os embriões deste grupo foram separados em gotas e imediatamente transferidos para a placa de cultura.

Grupo 2: Os embriões deste grupo permaneceram expostos a temperatura ambiente por 12 horas envasados em palhetas de 250 µl com meio HTF-Hepes + 10% de SFB. As palhetas foram colocadas em um recipiente de isopor à temperatura ambiente (25°C ± 2°C) por 12 horas. Após este período, os embriões foram desvasados e transferidos para cultura em incubadora de CO<sub>2</sub>.

Grupo 3: Os embriões deste grupo foram envasados e permaneceram sob as mesmas condições ambientais do grupo anterior porém, por um período de 24 horas sendo transferidos para a incubadora de CO<sub>2</sub> logo após o desenvase.

Grupo 4: Este grupo teve seus embriões vitrificados/aquecidos. Após este procedimento os embriões foram transferidos para gotas em placas de cultura e levados à incubadora.



**Figura 1.** Divisão dos grupos e delineamento experimental.

Grupo 5: Para este grupo os embriões foram vitrificados e aquecidos. Após o aquecimento, foram envasados em palhetas de 250 µl com meio HTF-Hepes suplementado com 10% de SFB. As palhetas foram colocadas em um recipiente de isopor à temperatura ambiente (25°C ± 2°C) por 12 horas. Após este período, os embriões foram desvasados, agrupados em 15 e transferidos para cultura em incubadora de CO<sub>2</sub>. Grupo 6: este grupo passou pelo mesmo processo de vitrificação/aquecimento que o grupo 5 porém ficou exposto a temperatura ambiente por 24 horas e só depois deste período foi transferido para placas de cultura e colocado em incubadora de CO<sub>2</sub>. Todos os embriões foram cultivados em grupos de 15 embriões por gota.

### Vitrificação

Os embriões foram expostos à solução de equilíbrio VS1 (10% EG +10% DMSO e 0,25M sacarose em HTF-hepes + 10% de SFB) em um volume de 150µl, por 2 minutos. Logo após, transferidos para uma gota de 50µl da solução VS2 (20% de EG + 20% DMSO + 0.5M de sacarose em HTF-hepes + 10% de SFB) por 30 segundos. Foram envasados e imediatamente mergulhadas em N2L.

### Aquecimento

As palhetas foram retiradas do nitrogênio líquido, expostas por 20 segundos ao ar ambiente e banhadas em água a temperatura aproximada de 25°C por 40 segundos. Os embriões foram desvasados em placas de Petri (35mm) contendo gotas de 100µl de solução de sacarose 0,3M por 5 minutos, em seguida passados a uma gota de 100µl de solução de sacarose 0,15M e por fim ao meio HTF-Hepes + 10% SFB.

### Teste de viabilidade in vitro

Os embriões foram colocados em microgotas (40µl) de meio Global (Lifeglobal) + 10% de SFB, sob óleo mineral e mantidos em incubadora a 37°C com 5% CO<sub>2</sub> e umidade alta (?). A capacidade de desenvolvimento embrionário até blastocistos foi observada nas primeiras 24 e 48 horas.

### Análise Estatística

A taxa de formação de blastocistos in vitro entre os grupos foram comparadas utilizando o teste de chi-quadrado (MINITAB INC., 1996). Diferenças com probabilidade menor que 0,05 foram consideradas significativas. A associação entre o desenvolvimento in vitro e tempo de exposição a temperatura ambiente foi avaliada calculando-se a razão de chance (Odds ratio).

## RESULTADOS

A taxa de formação de blastocisto foi semelhante para os grupos 1 e 2 (p> 0,09, tabela 1). Contudo esta taxa foi menor no grupo 3 quando comparado ao grupo 1 (73,7 vs 97,7% respectivamente), tabela 1.

A vitrificação dos embriões não alterou a taxa de formação de blastocistos quando comparado com a do grupo 1 (96,2% vs 97,7% respectivamente). Embriões vitrificados/aquecidos, mantidos em temperatura ambiente por 12 ou 24 horas (grupo 5 e 6) tiveram taxas de blastocisto semelhantes, porém, menores que o grupo 4.

A permanência de embriões dos grupos 3 e 6 por 24 horas à temperatura ambiente apresentou taxas de blastocisto semelhantes, porém menores que os embriões dos grupos 2 e 5.

**Tabela 1.** Taxa de desenvolvimento in vitro de embriões vitrificados e não vitrificados expostos à temperatura ambiente por diferentes períodos.

Grupos	Embriões coletados	Embriões recuperados	Embriões envasados	Blastocisto (%)	
				24h	48h
Grupo 1	131	131	131	35 (26,7%) <sup>a</sup>	128 (97,7%) <sup>a</sup>
Grupo 2	106	106	101	41 (31,0%) <sup>b</sup>	99 (98,0%) <sup>a</sup>
Grupo 3	103	103	99	13 (13,1%) <sup>c</sup>	73 (73,7%) <sup>b</sup>
Grupo 4	106	106	106	32 (30,2%) <sup>a</sup>	102 (96,2%) <sup>a</sup>
Grupo 5	105	99	88	25 (28,4%) <sup>a</sup>	59 (61,0%) <sup>b</sup>
Grupo 6	106	104	91	36 (36,2%) <sup>a</sup>	69 (75,8%) <sup>b</sup>

## DISCUSSÃO

Pomar et al. (2004) manteve embriões suínos por 24 horas a 25°C não obteve resultados satisfatórios (taxa de blastocisto de 13,0%). Oócitos de camundongo preservados a 5°C por 48 horas apresentaram taxa de fertilização de 66,5% (Tsuchiya et al., 2001). Neste mesmo estudo, oócitos preservados por 24 ou 48 horas a temperatura de 37° apresentaram taxas de fertilidade de 9,6 e 1,6%, respectivamente. Porém, embriões suínos mantidos a 18°C tiveram uma taxa de degeneração maior que embriões mantidos a temperaturas de 25 ou 38°C (Pomar et al. 2004). A adição de 0,5 - 0,75 M de um açúcar no meio manutenção pode aumentar a taxa de blastocisto em embriões mantidos a 0°C (Kasai 1986). Taxas de nascimento vivo de 37%, 32,8% e 29,9% foram observadas quando embriões foram armazenados a 0° C por 24, 48, 72 horas respectivamente (Miyoshi, et al 1992). Outra opção foi demonstrada por Kamimura et al, 2003, onde embriões murinos de duas células foram mantidos dentro da tuba uterina por 36 horas a 4°C e depois de cultivados foram observadas taxas de 68,3% de blastocisto. Portanto, os resultados do presente estudo somam-se aos já existentes e indicam a possibilidade de conservação de embriões em temperatura ambiente, sem perda significativa de sua viabilidade.

Nos grupos 4, 5 e 6 onde os embriões foram expostos a temperatura ambiente após o aquecimento observamos que o processo de criopreservação não foi um fator determinante na taxa de formação de blastocistos já que esta foi semelhante ao grupo 1. Provavelmente um somatório dos efeitos do tempo de permanência em temperatura ambiente e a criopreservação causaram a redução observada nas taxas de blastocistos dos grupos 4 e 5.

De acordo com Pedro et al. (2005), embriões no estágio de 8 células e mórulas são mais susceptíveis à penetração de EG e Glicerol e menos ao DMSO. Ao mesmo tempo em que os crioprotetores penetram na célula com facilidade, também tendem a sair com facilidade. O uso de EG associado com DMSO pode ter contribuído para as altas taxas de blastocistos obtidos nos grupos vitrificados. Segundo Kasai (1986), a adição de açúcares em uma concentração mais elevada às presentes neste estudo pode levar a melhores taxas de blastocisto pós vitrificação.

Desta forma, este estudo demonstrou que é possível manter embriões criopreservados e quando necessários, aquecê-los e mantê-los em temperatura ambiente por até 24 horas com uma pequena perda da sua viabilidade. Os resultados deste estudo demonstram que é possível manter embriões murinos por até 12 horas em temperatura ambiente com uma viabilidade semelhante ao controle (grupo 1 e 4). Mesmo quando são

mantidos à temperatura ambiente por 24 horas (grupo 3 e 6) sua viabilidade diminui, mas ainda com taxas significativas de formação de blastocistos. Esta opção de manutenção de embriões em condições ambientais mostra-se eficiente para transporte a distância com permanência da qualidade embrionária.

### Correspondência:

Vinicius Bonato da Rosa  
Av. República Argentina, 210, 17º andar  
CEP 80240-210  
Curitiba, PR - Vinicius@clinicaconceber.com.br

### REFERÊNCIAS

- Bilton RJ, Moor NW. Successful transport of frozen cattle embryos from New Zealand to Australia. *J. Reproduction.* 1977;50:363-4.
- Gordon I. Laboratory production of cattle embryo. Wallingford: CAB International; 1994.
- Kamimura E, Nakashima T, Ogawa M, Ohwada K, Nakata N. Study of low-temperature (4°C) transport of mouse two-cells embryos enclosed in oviducts. *Comparative Medicine.* 2003;53:393-6.
- Kasai M. Nonfreezing technique for short-term storage of mouse embryos. *J In Vitro Fert Embryo Transf.* 1986;3:10-4.
- Kuleshova LL, Lopata A. Vitrification can be more favorable than slow cooling. *Fertil Steril.* 2002;78:449-54.
- Leibo SP, Winninger D. Production of bovine pregnancies from embryos transported at 0°C by air. *Theriogenology.* 1986;25:164.
- Minitab. Minitab for Windows, release 11.13; 1996.
- Miyoshi I, Ishikawa K, Kasai M, Kasai N. Useful short-range transport of mouse embryos by means of a nonfreezing technique. *Laboratory Animal Science.* 1992;42:198-201.
- Nakagata N, Takeshima T. High fertilizing ability of mouse spermatozoa diluted slowly after cryopreservation. *Theriogenology.* 1992;37:1283-91.
- Pedro PB, Yokoyama E, Zhu SE, Yoshida N, Valdez DM Jr, Tanaka M, Edashige K, Kasai M. Permeability of mouse Oocytes and embryos at various developmental stages to five cryoprotectants. *Journal of Reproduction and Development.* 2005;51:235-46.
- Pomar FJ, Ducro-Steuerink DW, Hazeleger W, Teerds KJ, Colenbrander B, Bevers MM. Development, DNA fragmentation and cell death in porcine embryos after 24 h storage under different conditions. *Theriogenology.* 2004;61:147-58.
- Rall WF, Fahy GM. Ice-free Cryopreservation of Mouse Embryos at -196°C by Vitrification. *Nature.* 1985;313:573-5.
- Tada N, Sato M, Yamanoi J, Mizorogi T, Kasai M, Ogawa S. Cryopreservation of mouse spermatozoa in the presence of raffinose and glycerol. *Journal Reprod Fertil.* 1990;85:511-6.
- Tsuchiya H, Ogonuki N, Kuwana T, Sankai T, Kanayama K. Short-term preservation of mouse oocytes at 5 degrees C. *Exp. Anim.* 2001;50:441-3.

# A morfologia da Reprodução no JBRA

## The morphology of Reproduction in JBRA

Alexia Sampaio Teixeira<sup>1</sup>, Adriana Simões Ferreira<sup>1</sup>, Paulo Franco Taitson<sup>2</sup>, Adelino Amaral Silva<sup>3</sup>, Maria do Carmo Borges de Souza<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Alunas de graduação do ICBS/ PUC Minas.

<sup>2</sup> Editor Adjunto do JBRA.

<sup>3</sup> Presidente da SBRA.

<sup>4</sup> Editora Chefe do JBRA. Presidente da REDLARA.

### RESUMO

**Objetivo:** descrever os diferentes tipos de estudos e diferentes tipos de temáticas que são publicados em reprodução no JBRA Assisted Reproduction.

**Material e método:** Foi realizado um estudo bibliométrico com busca de artigos publicados no periódico durante os anos de 2004 a 2011. As categorias buscadas foram o tipo de publicação: artigo original, artigo de opinião, artigo de revisão, resumo de tese, comunicado, resumos apresentados em congressos e relato de caso. O outro quesito levantado foi a seção temática para inclusão do artigo, isto é: ginecologia, andrologia, embriologia, técnica de reprodução, implantação, metodologia e outros.

**Resultados:** Foram obtidas 232 publicações entre os anos de 2004-2011. A temática de ginecologia correspondeu a 33,19%. A tecnologia da reprodução 25,86%. Andrologia, 18,10%. Estudos ligados ao embrião 9,05%. Implantação 3,88%. Metodologia científica, 0,43% e outros 9,49%. Quanto ao tipo de publicação, os artigos originais totalizaram 56,48%. Artigos de revisão, 23,71%. Artigos de opinião, 7,32%. Relato de caso, 5,17%. Resumo de tese, 3,01%. Comunicados, 0,43%. Resumos em congresso, 3,88%.

**Conclusões:** A análise até este momento, o entendimento das pesquisas apresentadas, a avaliação das metodologias e a presença de pesquisadores variados no periódico já demonstram a maior abrangência da Reprodução Humana como especialidade e disciplina acadêmica.

**Palavras-chave:** Reprodução; Tecnologia reprodutiva;

### ABSTRACT

**Objective:** To describe the different types of studies and different types of issues that are published about Reproduction in JBRA Assisted Reproduction.

**Method:** We conducted a bibliometric study to search for articles published in the journal during the years 2004 to 2011. The categories searched were the type of publication: original article, opinion article, review, summary of thesis statement, Congress abstracts and case reports. Another research item was raised for inclusion in the thematic section of the articles, ie: gynecology, andrology, embryology, reproduction technique, deployment, and others.

**Results:** We found 232 publications between the years 2004-2011. The theme of gynecology accounted for 33.19%. The technology of reproduction 25.86%. Andrology, 18.10%. Studies related to the embryo

9.05%. Implantation 3.88%. Scientific methodology, 0.43% and others 9.49%. Regarding the type of publication, the original articles amounted to 56.48%. Review articles, 23.71%. Opinion articles, 7.32%. Case report, 5.17%. Summary of thesis, 3.01%. Communications, 0.43%. Congress abstracts, 3.88%.

**Conclusions:** The analysis so far, the understanding of the presented research, evaluation methodologies and the presence of various researchers in the journal already show a wider range of Human Reproduction as a specialty and academic discipline.

**Keywords:** Reproduction, Reproductive Technology.

### INTRODUÇÃO

A busca constante de afirmação como ciência, faz com que a reprodução humana seja uma das áreas com maior número de publicações constantes na base de dados do MEDLINE na última década, mesmo sabendo da necessidade de melhora nos índices de sucesso das alternativas atuais de tratamento. Infertilidades masculina e feminina, implantação, desenvolvimento embrionário e fetal são temáticas ainda que necessitam de fortes esclarecimentos, pesquisas e, particularmente maior desenvoltura de políticas de incentivo (Dantas, 2004, Braile et al., 2007).

A reprodução humana não é considerada atualmente, uma especialidade da medicina, enfermagem, psicologia ou mesmo da biologia. Esforços tem sido feitos para melhor se promover esta inserção, sabendo que a infertilidade conjugal é uma das doenças de maior incidência na população em geral, com diversas implicações na saúde, na sociedade e no modo de pensar do ser humano. Recentemente tem-se debatido a sua inserção como sub especialidade em áreas como ginecologia e obstetrícia, urologia, etc. O único avanço na última década foi o reconhecimento da reprodução humana como área de atuação do biólogo, o que abre portas a possibilidades vindouras (Bicas, 2002; CFBio, 2012).

Os estudos em saúde que militam na temática baseada em evidências (TBE) tem, ao longo dos anos, empregado melhor evidência disponível em um determinado momento e contexto para resolver diversos problemas clínicos específicos, promovendo novas aberturas e interpretações. O TBE é uma parte integrante na formação do profissional de saúde na graduação e pós-graduação, bem como na prática clínica diária. Neste contexto, os conceitos dos níveis de evidência e graus de recomendação gerados por eles devem ser estendidos para a prática moderna das ciências da

saúde. O propósito desta forma de prática em saúde é tentar alcançar um conhecimento mais aplicável, válido e verdadeiro a partir de pesquisa científica, que é mais adequado e confiável para tomada de decisão. Isso tudo nos reporta a necessidade de reflexões sobre o uso sistemático da estatística na saúde (Upshur, 2003; Atkins et al, 2004).

Atualmente, a avaliação da comunidade científica com base nesta forma de prática em saúde foi estendida para quase todas as áreas de ensino envolvidas, no entanto, a reprodução humana, que desempenha um papel fundamental na formação dos profissionais da saúde, parece manter-se fora deste paradigma. Quais são as fontes de conhecimento em reprodução? A literatura clássica na reprodução humana foi essencialmente derivada do francês, alemão, e mais tarde, as escolas norte-americanas, enquanto o estudo ultra-estrutural demonstrou uma forte influência alemã, inglesa e espanhola (Taitson & Souza, 2008; Pereira, 2011).

Antigamente, a educação nos cursos de formação básica e de formação clínica para construir formas valiosas do acervo e de contextualizar o conhecimento clássico era geralmente com base em livros textos antigos que eram passados de geração e geração (a fonte mais utilizada pelos estudantes para consolidar o seu conhecimento). Hoje, a literatura científica é representada por revistas indexadas sendo acessadas através de promotores de busca, bases de dados eletrônicas (estes têm tido um crescimento explosivo em todas as áreas do conhecimento, conseqüentemente, resultando no desenvolvimento de TBE). No entanto, a importância de fornecer esses bancos de dados de conhecimentos atualizados, utilizando a última fonte de conhecimento sobre a reprodução, não foi devidamente desenvolvido e aplicado no ensino em áreas clínicas, retardando o progresso deste paradigma nesta área da ciência.

Um estudante precisa adquirir esta visão ampla, este conhecimento que será útil em inúmeras situações clínicas. Um primeiro passo na prática baseada em evidência no que diz respeito à reprodução humana é reconhecer os tipos de estudos mais realizados, seguido pela avaliação do nível de evidências que eles fornecem. Assim, o objetivo deste estudo é observar e descrever os diferentes tipos de estudos e diferentes tipos de temáticas que são publicados em reprodução humana com levantamento no principal periódico latino americano e brasileiro específico da área, o JBRA Assisted Reproduction.

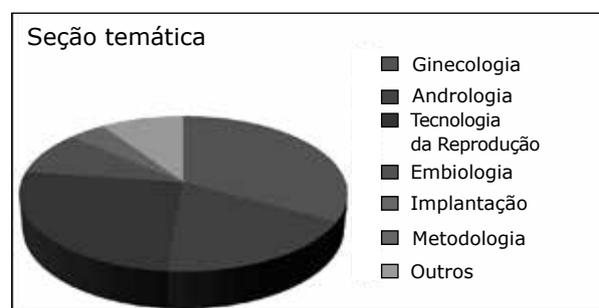
## MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo bibliométrico com busca de artigos publicados no periódico JBRA Assisted Reproduction, com acesso aos textos em línguas portuguesa, inglesa e espanhola durante os anos de 2004 a 2011. O periódico está indexado em bases de dados brasileiras, como no portal de periódicos da CAPES, e em bases internacionais: Compendex, EMBASE, Excerpta Médica, Geobase, PERIODICA, Plataforma SCImago Journal & Country Rank e a Scopus Elsevier. Foram excluídos do estudo publicações como temas livres e pôsteres. As categorias de estudo foram: O tipo da publicação: artigo original, artigo de opinião, artigo de revisão, resumo de tese, comunicado, errata do congresso e relato de caso. O outro quesito levantado foi a seção temática para inclusão do artigo. Para tal baseou-se na fórmula básica utilizada pelo periódico europeu Human Reproduction e pelo periódico americano Fertility and Sterility. Isto é: gineco-

logia, andrologia, embriologia, técnica de reprodução, implantação, metodologia e outros. Concomitantemente, utilizou-se os mesmos critérios de inclusão e exclusão dos artigos, realizando uma filtragem destes. A amostragem não-probabilística da revista acima mencionada foi realizada. Apenas artigos de reprodução humana foram selecionados, que foram classificados e analisados por operadores de investigação principais, utilizando a classificação dos níveis de evidência e graus de recomendação de Evidence-Based do Centro de Medicina da Universidade de Oxford, que foi atualizado em março de 2009 (CEBM, 2009). O parâmetro outros incluiu artigos que não se encaixam em nenhuma das categorias desta classificação, como resenhas de livros, resumos de conferências, etc. Plano de análise: Os dados foram registrados em uma tabela, e após uma análise exploratória de dados, a estatística descritiva foi utilizada para calcular as porcentagens.

Foram obtidas 232 publicações entre os anos de 2004-2011. Nos anos de 2004 quatro números foram avaliados. Com o crescimento anual da revista chegou-se a seis números em 2011. A temática de ginecologia correspondeu a 33,19%. A tecnologia da reprodução 25,86%. Andrologia, 18,10%. Estudos ligados ao embrião 9,05%. Implantação 3,88%. Metodologia científica, 0,43% e outros 9,49%. Entre os anos de 2004 e 2005 a tecnologia da reprodução era a temática com maior número de publicações. Após esta data artigos ginecológicos tem apresentado maioria substancial. Somente nos anos de 2005 e 2009 a temática de embriologia foi capaz de superar os artigos vinculados a investigação do fator masculino.

Estudos vinculados a implantação embrionária triplicaram nos últimos dois anos. Todavia, ainda ocupa o quarto lugar de destaque entre as temáticas de observadas. Este impacto das temáticas apresentadas é destoante ao que se observa nos congressos internacionais e brasileiros de reprodução. As temáticas de ginecologia sobressaem, embora em última análise representem temas de ginecologia reprodutiva. Todavia, mesas redondas, cursos e palestras na área de andrologia são superados pelos temas de embriologia e tecnologia da reprodução (**Figura 1**).



**Figura 1.** Seção temática

Quando ao tipo de publicação, os artigos originais totalizaram 56,48%. Artigos de revisão, 23,71%. Artigos de opinião, 7,32%. Relato de caso, 5,17%. Resumo de tese, 3,01%. Comunicados, 0,43%. Resumos apresentados em congressos (Erratas), 3,88%. O número de artigos originais triplicou desde 2004, mostrando uma tendência de aprimoramento da qualidade dos artigos publicados. Os relatos de casos tem se mantido na média de três ao ano. O convite para a escrita dos artigos de opinião tem valorizado o público internacional, assim como a parceria com a Rede Latino-

-americana de Reprodução Assistida, que aumenta progressivamente o número de trabalhos dos centros à ela associados (**Figura 2**).



**Figura 2.** Tipos de publicação

## DISCUSSÃO

Os aspectos conceituais referentes à reprodução humana apresentam uma instância em processo de construção e consolidação. Portanto, as definições atuais sinalizam, mais do que campos fechados, uma construção teórica multidisciplinar, em aberto, em face do acelerado dinamismo dos eventos tecnocientíficos e ao lento acompanhamento e compreensão da reprodução humana em diferentes áreas, sobretudo, das ciências humanas e sociais.

A população humana vem crescendo em todo o planeta. Os efeitos desta situação preocupam vários especialistas que estudam 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. A reprodução humana tem como lógica buscar a obtenção de uma gravidez, manutenção adequada de uma gestação e, conseqüentemente, estabelecer a viabilidade de geração de novos indivíduos. Para tal, necessita-se conhecer mais, a cada dia, a dimensão das infertilidades masculina e feminina, suas barreiras e formas de integração. A cada década, barreiras têm sido transpostas como a melhoria da qualidade diagnóstica dos casais e primazia dos estudos genéticos aplicáveis (Taitson & Souza, 2008; Souza et al., 2010).

O número crescente de artigos publicados a cada dia em várias bases de dados bibliográficas torna cada vez mais difícil manter um conhecimento atualizado em qualquer área, incluindo o campo da reprodução humana. No entanto, acredita-se que tudo o que já foi descrito, e que tenha sido determinado a cerca da reprodução humana, é mantido dentro dos limites possíveis para tratar um fato, o que permite o desenvolvimento de estudos como o nosso estudo. Além disso, o espaço ocupado pelas publicações sobre a reprodução ainda é restrito, haja vista que as principais revistas específicas internacionais da área não ultrapassam índice 5,0 de fator de impacto (Manterola et al., 2009; JCR, 2012).

Existem 140 periódicos brasileiros com fator de impacto na SCImago acima de 0 e menor que 0,50, mas sem fator de impacto no JCR-ISI (ou seja, não foram listados neste indexador). Ressalte-se que não são periódicos de impacto nitidamente mais baixo que os da coleção do JCR-ISI. Outro ponto interessante ocorre entre SCImago e SciELO.

De início, vale notar que existe extensa concordância: a coleção SCImago contém 235 títulos brasileiros e a coleção SciELO, 223. As inclusões não são 100%

concordantes: a coleção SCImago contém 69 periódicos ausentes da coleção SciELO. Entre elas o JBRA Assisted reproduction, estando atualmente com índice 0,10 no SCImago. Espera-se que em breve seja incluído na base SciELO (Mendes et al., 2011).

O tipo especial de cenário em que uma série de casos pode fornecer um melhor nível de evidência constitui os estudos prospectivos e randomizados, que a cada ano tem aumentado substancialmente na revista. Entretanto, o valor dos dados transmitidos não se reflete, necessariamente, no nível de evidências que eles fornecem. Daí, não se pode concluir que os estudos publicados que utilizaram revisão bibliográfica sistematizada sejam menores, dado que mantém uma apreciação sobre os temas.

A análise apenas se inicia. O entendimento das pesquisas apresentadas, a avaliação das metodologias e a presença de pesquisadores variados no periódico já demonstram a maior abrangência da Reprodução Humana como especialidade e disciplina acadêmica.

## Correspondência:

Paulo Franco Taitson Ph.D

Chefe do Grupo de Pesquisa Anatomia Funcional do Aparelho Urogenital CNPq/PUC Minas.

Av. Dom José Gaspar, 500/25 ICBS.

30535-920 – Belo Horizonte – Brasil.

Tel: (31) 3337-1960

## REFERÊNCIAS

- Atkins D, Best D, Briss PA, Eccles M, Falck-Ytter Y, Flottorp S, Guyatt GH, Harbour RT, Haugh MC, Henry D, Hill S, Jaeschke R, Leng G, Liberati A, Magrini N, Mason J, Middleton P, Mrukowicz J, O'Connell D, Oxman AD, Phillips B, Schünemann HJ, Edejer TT, Varonen H, Vist GE, Williams Jr JW, Zaza S, GRADE Working Group. Grading quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ*. 2004; 328(7454):1490.
- Bicas, HEA. Especialidades médicas e áreas de atuação. *Arq Bras Oftalmol*. 2002;65:291-2.
- Braile DM, Brandau R, Monteiro R. A importância da indexação para as revistas científicas. *Rev Bras Cardiologia Invasiva*. 2007; 15(4):341-2.
- Centre for Evidence-based Medicine (CEBM). Levels of Evidence. Available in: <<http://www.cebm.net/index.aspx?o=1025>>. Accessed July 2009.
- Conselho Federal de Biologia. Áreas de atuação do biólogo. 2012. Disponível em: <<http://www.cfbio.gov.br>>. Acesso em 01 mai. 2012.
- Dantas PEC. Indexação bibliográfica em bases de dados: O que é? Para que serve? Onde estamos? *Arq Bras Oftalmol*. 2004;67(4):569-70.
- JCR. Journal Summary List - subject categories. Available in: <[http://admin-apps.webofknowledge.com/JCR/JCR?RQ=LIST\\_SUMMARY\\_JOURNAL&cursor=21](http://admin-apps.webofknowledge.com/JCR/JCR?RQ=LIST_SUMMARY_JOURNAL&cursor=21)>. Accessed mai 2012.
- Manterola, C. Observational studies: the most frequent designs in clinic investigation. *Rev. Med. Clin. Condes*. 2009; 20:539-48.
- Mendes LCM, Souza MCB, Taitson PF. Impacto atual do periódico JBRA Assisted Reproduction e indicadores futuros. Situação Brasil e avanço para a América Latina. *JBRA Assist. Reprod*. 2011; 5(6):24-7.
- Pereira, DMP. A história da reprodução humana no Brasil. *Femina*. 2011; 39(2):59-64.
- Souza MCB, Mancebo ACA, Santos HCN, Costa ALR, Taitson PF, Moreira MFR. Fatores Ambientais e Reprodução: Metais (chumbo e cádmio). Fundamentação da pesquisa. *J Bras Rep Assist*. 2010; 14:38-42.
- Taitson PF, Souza MCB. Incidence of male infertility by occupational factors in Minas Gerais. *J Bras Rep Assist*. 2008;12:14-8.
- Upshur, R. E. Are all evidence-based practices alike? Problems in the ranking of evidence. *CMAJ*. 2003; 169: 672-3.

# Avaliação da atividade antioxidante da castanha-do-pará nos parâmetros espermáticos de camundongos

## Evaluation of antioxidant activity of nut-stop in sperm parameters of mice

José Augusto Lucca Neto<sup>1</sup>, Vinicius Bonato da Rosa<sup>1</sup>, Vera Lucia Langaro Amara<sup>2</sup>, Martina Cordini<sup>2</sup>, Alessandro Schuffner<sup>1</sup>, Marcel Frajblat<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Conceber – Centro de Medicina Reprodutiva Curitiba, Paraná

<sup>2</sup> Editor Adjunto do JBRA. Universidade do Vale do Itajaí - UNIVALI - Itajaí, Santa Catarina

Este trabalho foi realizado na Universidade do Vale do Itajaí - SC

### RESUMO

**Introdução:** A castanha-do-pará (*Berthollitia excelsa*) é uma semente nativa do Brasil com composição química rica em proteínas e lipídios, além de uma alta concentração de selênio e vitamina E. Trabalhos indicam a associação destes últimos compostos com o aumento da função reprodutiva em machos. O objetivo deste trabalho foi testar o efeito da suplementação com castanha-do-pará nos parâmetros seminais de camundongos.

**Metodologia:** Foram utilizados 27 animais mantidos isoladamente e divididos em: grupo 1: (ração + 20% de castanha), grupo 2: (ração + 30% de castanha) e grupo 3 (somente ração). O tratamento teve duração de 83 dias. Ao final do tratamento os animais foram sacrificados em câmara de CO<sub>2</sub>. A motilidade, concentração e morfologia seminal foram analisadas. O consumo médio e o ganho de peso foram registrados. A concentração de MDA dos espermatozoides foi avaliada através do teste TBARS.

**Resultados:** Não houve diferença significativa nos valores de motilidade e morfologia. A concentração do grupo 2 foi superior à encontrada no grupo 3, porém a do grupo 1 foi inferior. A concentração de MDA no grupo 2 foi maior quando comparada ao 1, e semelhante ao 3, enquanto a do grupo 1 foi inferior ao grupo 2 e semelhante ao grupo 3. Houve uma tendência para uma correlação positiva entre a concentração espermática e a de MDA.

**Conclusão:** A suplementação alimentar com castanha-do-pará não alterou os valores de morfologia e motilidade em camundongos saudáveis, porém ocasionou um aumento da concentração espermática. A concentração de MDA espermático não foi alterada pela suplementação com castanha-do-pará. Para averiguar melhor a sua atividade antioxidante novos estudos deverão ser realizados com um número maior de animais.

**Palavras-chave:** Reprodução animal, castanha-do-pará, sêmen, concentração e camundongo

### ABSTRACT

**Introduction:** The Brazilian Nuts (*Berthollitia excelsa*) is a seed native of Brazil with a chemical composition rich in proteins and lipids, and a high concentration of selenium and vitamin E. Studies indicate the combination of these latter compounds with increased reproductive function in males. The objective of this study was to test the effect of supplementation with Brazilian Nuts in semen parameters in mice.

**Methodology:** A total of 27 animals kept isolated and divided into: group 1 (diet + 20% Brazilian Nuts), group 2 (ration + 30% Brazilian Nuts) and group 3 (only diet). The treatment lasted 83 days. At the end of treatment the animals were sacrificed in CO<sub>2</sub> chamber. The motility, semen concentration and morphology were analyzed. The average consumption and weight gain were recorded. The sperm concentration of MDA was measured by the TBARS assay.

**Results:** No significant difference in motility and morphology. The concentration of group 2 were higher than found in group 3, but was lower in group 1. The concentration of MDA in the second group was higher compared to 1, and similar to the third, while the lower group 1 with group 2 with group 3 and the like. There was a trend towards a positive correlation between the concentration of spermatozoa and MDA.

**Conclusion:** Supplementing with nut-stop values did not change the morphology and motility in healthy mice, but caused an increase in sperm concentration. The MDA concentration of sperm was not altered by supplementation with Brazilian Nuts. To better assess their antioxidant activity further studies should be conducted with a larger number of animals.

**Keywords:** Animal reproduction, brazilian Nuts, sperm, concentration, mice.

### INTRODUÇÃO

Espécie reativa de oxigênio corresponde a uma molécula altamente reativa, com número ímpar de elétrons na sua última camada eletrônica. No metabolismo aeróbico tais compostos estão presentes naturalmente como resultado da redução tetravalente do O<sub>2</sub>. Ao longo deste processo, vários intermediários reativos como os radicais superóxidos, hidroxila, hidroperoxila e peróxido de hidrogênio são gerados (Scandalios, 2005). Para reparar os danos causados pelas EROs (Espécies Reativas de Oxigênio) o organismo dispõe de uma série de mecanismos. Estes variam desde proteção enzimática, a atuação de micromoléculas endógenas ou exógenas (Barreiros, 2006).

A proteção dos espermatozoides é feita por enzimas antioxidantes presentes no seu protoplasma, de 40% a 88% dos homens com baixa fertilidade apresentam altas concentrações de EROs no plasma seminal (Carvalho et al., 2002; Lewis, 1995). Pesquisas em humanos mostram que concentrações elevadas de EROs levam a falha no mecanismo de correção do DNA. A presença de EROs no sêmen em quantidades controladas é fisiologicamen-

te normal e auxilia no processo de capacitação espermática e reação acrossômica (Maia, 2006; Lamirande et al., 1998). Entretanto quando esta concentração supera os níveis normais ela causará peroxidação lipídica das membranas celulares, dano na peça intermediária, dentre outros, e poderá acarretar problemas de infertilidade (Akan et al., 1997 apud Carvalho et al., 2002; Tramer et al., 1998).

As duas principais fontes de EROs no sêmen são os leucócitos e os espermatozoides. Os leucócitos produzem EROs durante o processo de fagocitose (Maia, 2006), no caso dos espermatozoides defeituosos o problema está no acúmulo de gota citoplasmática na célula (Gomez, et al., 1996; Aitken, 2002, Ollero, et al., 2001). Estudos indicam que uma alta concentração de EROs no sêmen humano pode ser conseqüente da infertilidade, porém autores demonstram a presença normal de SOD (Superóxido dismutase) e CAT (Catalase) em homens inférteis, indicando que este valor elevado de EROs não está relacionada com uma disfunção na defesa antioxidante, e sim com uma alta produção dessas substâncias (Aitken, 1995; Zini et al., 2000).

O sistema antioxidante, embora em uma quantidade inferior às outras células, também está presente dentro do espermatozoide. Ele é composto por uma série de enzimas como a SOD, CAT, GSH-Px (Glutathione Peroxidase), GSH-Rd (Glutathione Redutase), e também pelas vitaminas A e E (Aitken, 1995). Contudo, estas substâncias estão dispostas na peça intermediária, próximas às mitocôndrias, o que leva a uma proteção ineficiente das demais partes da célula. Há ainda a proteção extracelular, no plasma seminal, que conta com uma gama de antioxidantes de várias origens como o ácido ascórbico, ácido úrico, CAT, SOD, GSH e vitamina E (Zini et al., 2000).

A lipoperoxidação é um processo relacionado com a presença de radicais livres, que pode ser definida como a deterioração oxidativa de lipídios poliinsaturados (Maia, 2006; Romero et al., 1998). Contudo o excesso dos seus produtos pode acarretar problemas como alterações estruturais e na permeabilidade de membranas com conseqüente perda de seletividade em trocas e liberações de produtos celulares (Mello, 1983 apud Ferreira et al., 1997).

O Selênio é um micromineral encontrado principalmente em nozes (Pacheco et al., 2007) ligado a várias funções fisiológicas, como a de controlar os níveis de estresse oxidativo e utilizado na prevenção do câncer e doenças cardiovasculares (Foresta et al., 2002; Kryukov et al., 2003 apud Thomson et al., 2008; Ip et al., 1994). A ingestão diária de selênio recomendada pelo National Academy of Sciences em 2000 foi de 55µg/dia a 400µg/dia. Sua deficiência ocasiona queda de motilidade espermática, habilidade reprodutiva diminuída e defeito morfológico na peça intermediária (Wu et al., 1979; Chunhieng et al., 2004). Estudos sugerem que a proteção da membrana apresentada se deve a associação com a prevenção da lipoperoxidação dos lipídeos de membrana (Noguchi et al., 1973).

O termo Vitamina E refere-se a um grupo de tocoferóis e tocotrienóis que apresentam atividade antioxidante, sendo o  $\alpha$ -tocoferol é a forma com maior biodisponibilidade. Esta molécula é o principal antioxidante lipofílico, atua removendo os radicais LOO\* formados durante a fase de propagação da lipoperoxidação. Contudo já é conhecido que a vitamina E, quando em doses muito superiores às recomendadas pode ter um papel pró-oxidante. A semente da castanha do pará é constituída quimicamente principalmente por proteínas e lipídios (Venkatchalam et al., 2006; Chunhieng et al., 2004). De acordo com a USDA National Nutrient Database for Standard Reference em 2006, 100g de castanha do pará contém

cerca de 5,73 mg de  $\alpha$ -tocoferol e as concentrações de selênio variam entre 8,5 a 126mg/Kg (Souza e Menezes, 2004; Chunhieng, et al., 2004; Thomson et al., 2008).

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da suplementação de castanha-do-pará nos parâmetros seminais de camundongos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 27 camundongos machos, linhagem Swiss, com aproximadamente 23 dias de idade. Foram mantidos isolados em caixas de policarbonato com enriquecimento ambiental, temperatura  $\pm$  22°C e ciclo de claro-escuro de 12/12 horas, e água e ração ad libitum.

Os animais foram divididos em 3 grupos de 9 animais, e tiveram sua alimentação e peso corporal controlados. Os grupos foram divididos em: Grupo 1 – recebeu ração suplementada com 20% castanha-do-pará; Grupo 2 – recebeu ração suplementada com 30% castanha-do-pará; Grupo 3 (controle negativo) – recebeu somente ração.

A determinação da suplementação foi baseada no peso corporal e no cálculo do consumo alimentar individual (15g de ração/100g de animal/dia) (AMARAL et al., 2004). Os animais receberam esta dieta por aproximadamente dois ciclos espermatozôgenicos. Os animais e o consumo de ração foram pesados e medidos diariamente.

Após 83 dias de tratamento os animais foram sacrificados câmara de CO<sub>2</sub>. Os espermatozoides foram obtidos do epidídimo e ductos deferentes. As peças receberam 3 cortes e foram imersas em 400 µL de meio HTF-Hepes (Irvine) por 15 minutos a 37°C. Após este período as peças foram retiradas e os parâmetros seminais avaliados.

A concentração foi avaliada em Câmara de Neubauer. A motilidade foi avaliada colocando uma alíquota em uma lâmina previamente aquecida e 100 espermatozoides foram contados. Foram classificados como móveis (A) e imóveis (B). A morfologia foi avaliada em esfregaço corado em kit panótico (Instant-Prov Newprov®). A morfologia foi realizada de acordo com critérios utilizados por Seed, 1996.

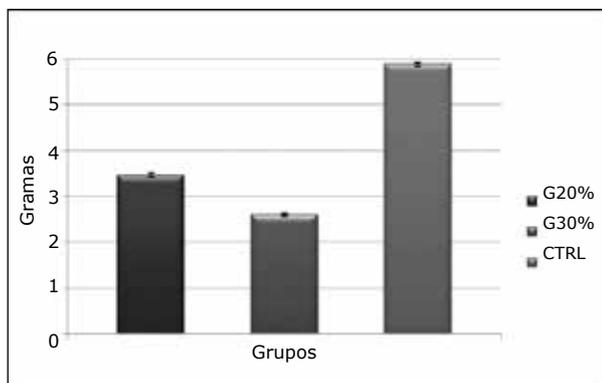
O nível de lipoperoxidação foi determinado a partir da metodologia TBARS (Buege et al., 1978). Para a análise foram adicionados em um tubo de ensaio 500 µL de amostra (300 µL de espermatozoides + 200 µL de HTF-Hepes), 1 mL do reagente TBA (15% de ácido tricloroacético; 0,25N de ácido clorídrico e 0,375% de ácido tiobarbitúrico) e 1% de BHT 50mM, sendo função deste último reagente evitar a autooxidação dos lipídios durante o aquecimento. Os tubos contendo as amostras foram incubados durante 15 minutos em banho fervente, e logo resfriados em banho de gelo. Após o resfriamento as amostras foram centrifugadas durante 15 minutos em temperatura de 5°C a 1200g. Por fim 300 µL dos sobrenadantes foram coletados e colocados em poços de placa de 96 poços para análise de absorbância (comprimento de onda 530 nm) em leitor de microplacas (TECAN – GÊNIO), contra um branco composto por 1mL do reagente TBA e 500µL de HTF-hepes.

A curva de calibração para o cálculo das concentrações de MDA das amostras foi feita utilizando uma solução de malonaldeído (MDA) como padrão, nas concentrações de 1, 2, 4, e 6 nMol/mL. Para obtenção desta curva foi preparada uma solução estoque de 10mM de MDA, através da hidrólise de 8,5µL de malonaldehyde bis (dimetil acetal) em 5mL de HCl 2N. Para obtenção das concentrações descritas acima foram diluídos 0,1, 0,2, 0,4 e 0,6µL de MDA respectivamente em quantidade suficiente para (qsp) 1mL de reagente TBA. O branco foi feito utilizando 1mL de reagente TBA. Cada ponto da curva foi feito em triplicata e lido 3 vezes em aparelho ELISA (TECAN – GÊNIO), a média destes valores foi utilizada para obtenção da curva de calibração.

Os resultados são dados em nMol/mL de amostra. Para comparar os dados obtidos de cada tratamento foi utilizada análise de variância com fator único (One-Way ANOVA). Resultados com  $p < 0,05$  foram considerados significativos. Os dados que apresentaram diferença estatística significativa foram submetidos ao teste de Tukey para determinar a diferença entre os grupos. Também foram considerados significativos os valores de  $p < 0,05$ . Para avaliar a correlação entre dados quando necessário foi realizada a regressão linear dos valores a serem analisados, foram consideradas positivas as correlações com  $p < 0,05$ . Previamente à análise de variância foi testada a normalidade dos dados por meio de simetria e kurtose, com os dados sendo considerados normais / simetria (g1) valor crítico 0,891 / kurtose (g2) valor crítico 2,185.

## RESULTADOS

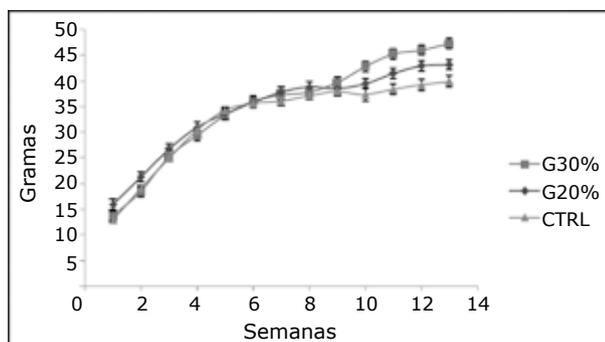
Neste estudo foram testados dois níveis de suplementação alimentar com castanha-do-pará. Os animais dos grupos suplementados tiveram um menor consumo diário de ração quando comparados com o controle ( $3,5 \pm 0,04$ g/dia;  $2,6 \pm 0,04$ g/dia e  $5,9 \pm 0,05$ g/dia respectivamente para os grupos 1, 2 e 3;  $p < 0,05$ , Figura 1).



**Figura 1.** Média ( $\pm$ EPM) do consumo alimentar de camundongos suplementados com castanha-do-pará por 83 dias ( $p < 0,05$ ).

Não houve diferença entre os grupos no ganho de peso por animal até a 9ª semana ( $p > 0,05$ ).

A partir da 10ª semana foi observado crescimento superior do grupo 2 em relação ao grupo 1, que por sua vez foi superior ao do grupo grupo 3 ( $39,4 \pm 1,2$ g;  $42,7 \pm 1,3$ g e  $37,3 \pm 1,2$ g respectivamente para os grupos 1, 2 e 3;  $p < 0,05$ ). Ao final do estudo na 13ª semana, o peso dos animais do grupo 2 foi significativamente maior que do Grupo 1 e 3 ( $43,1 \pm 1,1$ g;  $47,2 \pm 1,8$ g e  $39,9 \pm 1,0$ g respectivamente para os grupos 1, 2 e 3;  $p < 0,01$ , Figura 2).

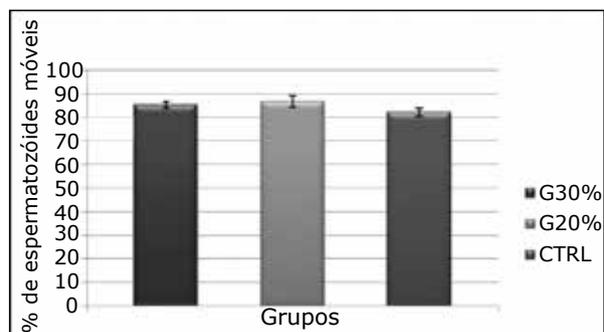


**Figura 2.** Média ( $\pm$ EPM) do consumo alimentar de camundongos suplementados com castanha-do-pará por 83 dias ( $p < 0,05$ ).

## PARÂMETROS SEMINAIS

A motilidade média de todos os animais do estudo foi de 84,6% e não houve diferença significativa neste parâmetro entre os grupos do experimento ( $85,1 \pm 1,4$ %;  $86,6 \pm 2,4$ % e  $82,1 \pm 1,8$ % respectivamente para os grupos 1, 2 e 3;  $p > 0,05$ , Figura 3). Cerca de 95% dos espermatozoides foram considerados normais em todos os animais do estudo e também não houve diferença significativa neste parâmetro. ( $p > 0,05$ , Tabela 1).

O consumo de castanha-do-pará aumentou a concentração espermática do grupo G30% quando comparado aos grupos 1 ( $p < 0,001$ ) e 3 ( $p < 0,01$ ) ( $19,9 \pm 1,5 \times 10^6$ ;  $46,28 \pm 3,31 \times 10^6$  e  $30,8 \pm 2,74 \times 10^6$  espermatozoides/mL respectivamente para os grupos 1, 2 e 3). Entretanto o grupo 1 apresentou uma concentração espermática inferior a observada no grupo 3 ( $p < 0,05$ ) (Figura 4).



**Figura 3.** Porcentagem de espermatozoides móveis ( $\pm$ EPM) de animais suplementados com castanha-do-pará no final de 83 dias de tratamento.

**Tabela 1.** Efeito da suplementação alimentar com castanha-do-pará na morfologia espermática dos animais.

Morfologia Espermática (%)						
Grupos	Normal	Sem Gancho	Amorfo	Micro-céfalo	Banana	Mega-céfalo
Grupo 1	94,9	2,11	2,56	0,22	0	0,17
Grupo 2	95,1	2,16	1,56	1,11	0,06	0
Grupo 3	93,8	3,06	2,83	0,22	0,1	0

## LIPOPEROXIDAÇÃO

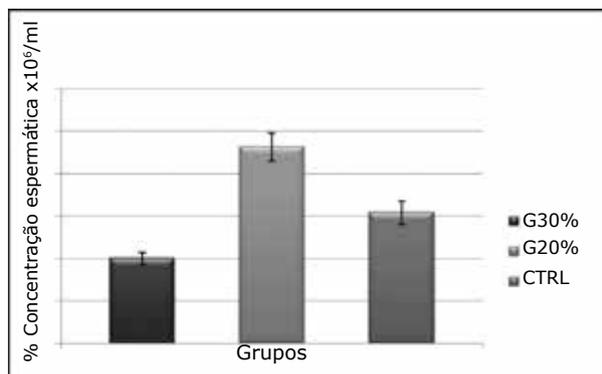
Para expressar os valores de TBARS em nMol/mL foi confeccionada uma curva padrão utilizando uma solução comercial de MDA hidrolisado em 2N de HCL com concentrações crescentes. A curva obtida apresentou um R2 de 0,983, sendo portanto válida para uso.

A concentração de MDA encontrada no grupo 2 foi estatisticamente superior à encontrada no grupo 1 ( $p < 0,05$ ), porém semelhante estatisticamente quando comparada ao grupo 3 ( $p > 0,05$ ). Os valores de MDA no grupo 1 são também não apresentaram diferença estatística quando comparados ao grupo 3 ( $p > 0,05$ ) (Tabela 2).

Após a análise isolada dos dados foi realizada a regressão linear dos valores de concentração espermática versus MDA. O resultado obtido aponta uma tendência para correlação positiva entre estes dois parâmetros ( $p = 0,0117$ ).

## DISCUSSÃO

O delineamento experimental foi feito para que a dieta pudesse agir de forma completa sobre 2 ciclos espermato-gênicos que duram aproximadamente 35 dias (RUGH, 1968). Ao receberem uma fonte extra de nutrientes os animais dos grupos 1 e 2 consumiram uma menor quantidade de ração. Esta redução indica a substituição da fonte alimentar pelo animal.



**Fig. 4.** Efeito da suplementação alimentar com castanha-do-pará na concentração espermática dos grupos. O grupo G30% apresentou uma concentração espermática superior ao controle.

**Tabela 2.** Efeito da suplementação alimentar com castanha-do-pará na concentração de MDA (nMol/mL) dos grupos.

Grupo	TBARS nMol/mL
Grupo 1	0,35 ± 0,22a
Grupo 2	1,8 ± 0,34b
Grupo 3	1,31 ± 0,54a,b

Valores ± EP.  $p < 0,05$ .

O fato era esperado, uma vez que o alimento disponibilizado como fonte extra de energia, a castanha-do-pará, é uma semente comum em ambientes naturais, e, ao contrário da ração industrializada, poderia fazer parte da alimentação selvagem destes animais.

De acordo com a empresa fornecedora da ração, o valor calórico metabolizável é de 293 Kcal/100g de ração, enquanto os valores para a castanha são de 656 Kcal/100g de semente (USDA National Nutrient Database for Standard Reference, 2006). O valor calórico médio consumido pelos grupos foi de 17,56, 18,22 e 17,2 Kcal/dia para os grupos 1, 2 e 3 respectivamente.

Houve um aumento significativo no peso corporal dos animais dos grupos 1 e 2, a partir da 10<sup>a</sup> semana, quando comparados com o grupo 3. Este aumento se manteve até o final do experimento na 13<sup>a</sup> semana. A hipótese para este fato é que devido à composição da castanha-do-pará ser predominantemente lipídica (66,71%), houve ganho de peso.

Os valores de motilidade e morfologia encontrados nos grupos 1 e 2 foram similares aos do grupo 3. Thérond et al., 1996 mostraram que em humanos a taxa de motilidade espermática está relacionada com concentração de  $\alpha$ -tocoferol presente no espermatozoide, e Keskes-Ammar et al., (2003) demonstraram que uma suplementação com 400mg de vitamina E e 225 $\mu$ g de selênio durante três meses aumentou significativamente a motilidade espermática em homens com problemas de infertilidade. Entretanto este estudo contou com animais saudáveis, alimentados de forma a receberem a quantidade correta de todos os nutrientes necessários, sem problemas relacionados à infertilidade ou submetidos a tratamentos que levariam ao comprometimento da capacidade reprodutiva. Assim como a motilidade e morfologia, a concentração espermática do grupo 3 também se manteve dentro do previsto.

O grupo 2 apresentou um aumento significativo na concentração espermática ao final do tratamento comparado ao grupo 3. Uma série de trabalhos relaciona a presença de vitamina E com a ampliação do número total de

espermatozoides (Brzezinska-Slebodzinska et al., 1995; Marin-Guzman, 1997).

Ainda não está elucidado o local onde a vitamina E é incorporada ao espermatozoide. Ao pesquisar sobre o sistema antioxidante presente no epidídimo Tramer et al., 1998 indicaram que a cauda do espermatozoide contém uma considerável quantidade de vitamina E, e ainda aponta a possibilidade de ocorrer um decréscimo na sua presença conforme a maturação espermática. Os resultados obtidos por Thérond et al., 1996, sugerem que a incorporação do  $\alpha$ -tocoferol na membrana espermática é anterior à ejaculação. Especula-se que a ação antioxidante da vitamina E é o fator que contribui para a correlação positiva entre as concentrações deste nutriente e a concentração espermática.

Outros trabalhos relacionam o aumento das quantidades de selênio com o acréscimo da concentração espermática em javalis (Marin-Guzman et al., 2000) e em ratos (Seema et al., 2007). O local mais abundante em selênio do sistema reprodutivo é o testículo, uma vez que o elevado número de mitoses e os vários estágios de meiose presentes podem causar danos aos cromossomos através das espécies reativas de oxigênio. A partir do estágio de espermatozoide secundário o selênio passa a ser incorporado na membrana mitocondrial, na forma de uma selenoproteína (Oldereid et al., 1998; Bedwal et al., 1994). Ele também apresenta papel fundamental na síntese de glutathione peroxidase (Agarwal et al., 2005), 75 – 85% do selênio encontrado no ejaculado provém do plasma seminal, mais especificamente da secreção prostática (Behne et al., 1988). Uma das explicações apresentadas para esta origem do micromineral no sêmen é que o selênio testicular está presente em outros compartimentos teciduais (Oldereid et al., 1998). No caso deste estudo o possível efeito do aumento de selênio na próstata não poderá ser considerado, uma vez que não foi coletado ejaculado, portanto não sendo influenciado pelo líquido prostático. Para realização de estudos posteriores sugere-se a coleta da próstata.

Com base no resultado apresentado e na literatura consultada é possível sugerir que o aumento da concentração espermática do grupo 2 provém do aumento nos níveis de  $\alpha$ -tocoferol disponibilizados pela dieta rica neste nutriente. O selênio entraria como elemento coadjuvante no processo, uma vez que sua ação estaria limitada a elevar os níveis de glutathione peroxidase e selenoproteínas durante o processo de espermatogênese. O grupo 1 apresentou uma concentração espermática significativamente menor quando comparada ao grupo 3. Estes resultados não eram esperados, uma vez que a dose intermediária de castanha-do-pará deveria ocasionar um aumento menos expressivo na concentração ou ainda manter este parâmetro similar ao controle. Para elucidar esta questão sugere-se o desenvolvimento de trabalhos futuros.

Os valores de MDA espermático encontrados neste experimento não estão de acordo com outros trabalhos relacionando os níveis deste composto com doses suplementares de vitamina E ou selênio. Em testes in vivo em javalis Níveis de MDA no plasma seminal diminuíram após duas semanas de tratamento com 1000 UI de  $\alpha$ -tocoferol (Brzezinska-Slebodzinska et al., 1995). Zhou et al., 2006 demonstraram o efeito antioxidante da vitamina E em ratos submetidos a estresse oxidativo através de formaldeído. Verma et al., 1999 testaram a eficácia da suplementação in vitro de vitamina E na proteção contra EROs. Os resultados mostraram uma redução dose-dependente nas concentrações de MDA relacionados aos níveis de vitamina-E. Keskes-Ammar et al., 2003 apontam que uma co-administração de 400 mg/dia e 225  $\mu$ g de selênio/dia durante 3 meses foram mais eficazes na

diminuição dos níveis de MDA no sêmen de homens inférteis quando comparado a uma suplementação de 4,5 g/dia de vitamina B.

Três hipóteses podem explicar a ineficiência da suplementação com castanha-do-pará nos níveis de MDA presentes nos espermatozoides dos animais. Uma delas é que a eficácia do tratamento foi prejudicada por terem sido analisados os espermatozoides e não o ejaculado. Além de estar envolvido na síntese de proteínas e enzimas antioxidantes que atuam durante a espermatogênese o selênio também tem importância na proteção dos espermatozoides quando estes entram em contato com o ambiente hostil encontrado na vagina (Oldereid et al., 1998). Uma importante parte do selênio presente no sêmen provém da secreção prostática (75 – 85%), e assim, mesmo que o tratamento tenha sido bem sucedido em aumentar os níveis de selênio disponíveis aos animais, ele não foi de fato colocado em contato com os espermatozoides coletados e seu papel antioxidante não pode ser descartado.

A segunda hipótese é baseada no tempo de permanência do espermatozoide nos túbulos seminíferos e vaso deferente. Autores apontam para um decréscimo gradativo nas quantidades de vitamina E presentes no espermatozoide, conforme ocorre o processo de maturação (Tramer et al., 1998). Esta diminuição pode estar associada à perda gradativa de citoplasma que ocorre durante a maturação, restando à célula madura somente as quantidades presentes na peça intermediária e cabeça. Neste estudo os animais foram mantidos em abstinência sexual, o que acarreta a um tempo de armazenamento do espermatozoide no aparelho reprodutor muito elevado. Este tempo pode estar associado a maior perda de vitamina E, além de proporcionar um maior tempo para que ocorram processos oxidantes nas membranas das células. Há ainda a possibilidade de que o ganho de peso ocasionado pelo alto teor lipídico da dieta fornecida aos grupos 1 e 2 tenha contribuído para o aumento dos valores de MDA encontrados nos animais.

Os dados sobre a correlação entre níveis de MDA e concentração espermática ainda são inconsistentes, autores descrevem uma correlação negativa entre estes parâmetros (Hsieh, et al., 2006). Nossos resultados parecem estar de acordo com o estudo de Wang et al., 1997, que aponta uma correlação positiva entre o aumento da concentração espermática e concentração de MDA em humanos.

O resultado esperado era a diminuição dos valores de MDA mediado pelo aumento da biodisponibilidade de selênio e vitamina E, independente da concentração espermática. Porém se o selênio contido na secreção prostática pode não ter exercido seu papel como antioxidante, e a atividade da vitamina E pode também ter sido saturada pelo tempo de permanência dos espermatozoides no vaso deferente sendo o resultado mais relevante esperado é o aumento da concentração espermática.

O camundongo, apesar de apresentar inúmeras vantagens para experimentos como o fácil manuseio, pequeno local para alocação e grande conhecimento de sua fisiologia, não foi o melhor animal para a execução deste estudo. Para resultados mais consistentes a coleta periódica de material é importante, assim como a necessidade da coleta de ejaculado, ambos procedimentos impossibilitados com este modelo. Para futuros estudos recomenda-se o uso de um modelo que permita estes procedimentos como cães, porcos ou mesmo humanos.

Os resultados deste trabalho indicam um possível potencial da suplementação alimentar com castanha-do-pará visando a melhoria da concentração espermática. Entretanto, próximos estudos deverão buscar a avaliação

do aumento dos valores séricos de selênio e vitamina E em animais submetidos a esta suplementação, a análise do nível de estresse oxidativo presente em amostras de ejaculado de indivíduos que tiveram sua alimentação suplementada e verificar a eficácia deste alimento na melhoria dos parâmetros seminais de indivíduos com patologias ou submetidos a danos oxidativos simulados.

#### Correspondência:

José Augusto Lucca Neto  
Av. República Argentina, 210, 17º andar  
CEP 80240-210  
Curitiba, PR  
joseaugusto@clinicaconceber.com.br

#### REFERÊNCIAS

- Agarwal A, Prabakaran SA, Said TM. Prevention of oxidative stress injury to sperm. *Journal of andrology*. 2005;26:654-60.
- Aitken RJ, Paterson M, Fischer H, Buckingham DW, van Duin M. Redox regulation of tyrosine phosphorylation in human spermatozoa is involved in the control of human sperm function. *Journal of Cell Science*. 1995;108:2017-25.
- Aitken RJ, Barker MA. Reactive oxygen species generation by human spermatozoa: a continuing enigma. *International Journal of Andrology*. 2002;25: 191-4.
- Amaral VLL, Tomás VA, Mezadri TJ. Animais de Laboratório. Cuidados na iniciação experimental. Florianópolis: UFSC; 2004.
- Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*. 2006;29:113-26.
- Bedwal RS, Bahuguna A. Zinc, copper and selenium in reproduction. *Experientia*. 1994;15: 626-40.
- Behne D, Gessner H, Wolters G, Brotherton J. Selenium, rubidium and zinc in human semen and semen fractions. *International Journal of Andrology*. 1988;11:415-23.
- Brzenzinzka-Slebodzinska E, Slebozinski AB, Pietras B, Wiczorek G. Antioxidant effect of vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in boar semen plasma. *Biological Trace Element Research*. 1995;47:69-74.
- Carvalho OF, Ferreira JDJ, Silveira NA, Freneau GE. Efeito oxidativo do óxido nítrico e infertilidade no macho. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2002;38:33-8.
- Chunhieng T, Konstantinos P, Elfakir C, Brochier J, Goli T, Montet D. Study of selenium distribution in the protein fractions of the Brazil nut, *Bertholletia excelsa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52:4318-22.
- Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Brasil*. 1997;43:61-8.
- Foresta C, Flohé L, Garolla A, Roveri A, Ursini F, Maiorino M. Male fertility is linked to the selenoprotein phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biology of Reproduction*. 2002;67:967-71.
- Gomez E, Buckingham DW, Brindle J. Development of an image analysis system to monitor the retention of residual cytoplasm by human spermatozoa: Correlation with biochemical markers of the cytoplasmic space, oxidative stress, and sperm function. *Journal of Andrology*. 1996;17:276-87.
- Hsieh Y, Chang C, Lin C. Seminal malondialdehyde concentration but not glutathione peroxidase activity is negatively correlated with seminal concentration and motility. *Int. J. Biol. Sci*. 2006;2:23-9.
- Ip C, Lisk DJ. Bioactivity of selenium from Brazil nut for cancer prevention and selenoenzyme maintenance. *Nutr Cancer*. 1994;21:203-12.
- Keskes-Amar L, Feki-Chakroun N, Rebai T, Sahnoun Z, Ghazzi H, Hammami S, Zghal K, Fki H, Damak J, Bahloul A. Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men. *Arch Androl*. 2003;49:83-94.
- Lamirande E, Tsai C, Harakat A, Gagnon C. Involvement of reactive oxygen species in human sperm acrosome reaction induced by A23187, lysophosphatidylcholine, and biological fluid ultrafiltrates. *Journal of Andrology*. 1998;19: 585.

- Lewis SE, Boyle PM, McKinney KA, Young IS, Thompson W. Total antioxidant capacity of seminal plasma is different in fertile and infertile men. *Fertil Steril*. 1995;64:868-70.
- Maia MS. Viabilidade Espermática e Geração de Metabólitos Reativos do Oxigênio (ROS) no Sêmen Ovino Criopreservado em Diluidor Aditivado de Lauril Sulfato de Sódio (OEP), Trolox-c e Catalase. 2006. 147p. Tese (doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/UNESP, Botucatu.
- Marin-Guzman J, Mahan DC, Chung YK, Pate JL, Pope WF. Effects of dietary selenium and vitamin E on boar performance and tissue responses, semen quality, and subsequent fertilization rates in mature gilts. *Journal of Animal Science*. 1997;75:2994-3003.
- National Academy of Sciences. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. 2000, [http://www.nap.edu/catalog.php?record\\_id=9810.html](http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=9810.html) (acessado em 28 de abril de 2008).
- Noguchi T, Cantor AH, Scott ML. Mode of action of selenium and vitamin E in prevention of exudative diathesis in chicks. *J Nutr*. 1973;103:1502-11.
- Oldereid NB, Thomassen Y, Purvis K. Selenium in human male reproductive organs. *Human Reproduction*. v.13, n. 8, p. 2172-2176, 1998.
- Ollero M, Gil-Guzman E, Lopez MC, Sharma RK, Agarwal A, Larson K, Everson D, Thomas Jr AJ, Alvarez JG. Characterization of subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications in the diagnosis and treatment of male infertility. *Human Reproduction*. 2001;16:1912-21.
- Pacheco AM, Scussel VM. Selenium and aflatoxin levels in raw brazil nuts from the amazon basin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007;55:11087-92.
- Thérond P, Auger A, Legrand A, Jouannet P.  $\alpha$ -tocoferol in human spermatozoa and seminal plasma: relationships with motility, antioxidant enzymes and leukocytes. *Molecular Human Reproduction*. 1996;2:739-44.
- Thomson CD, Chisholm A, Mclachlan SK, Campbell JM. Brazil nuts: an effective way to improve selenium status. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2008;87:379-84.
- Tramer F, Rocco F, Micali F, Sanori G, Panfili E. Antioxidant system in rat epididymal spermatozoa. *Biology of Reproduction*. 1998;59:753-8.
- Romero FJ, Bosch-Morell F, Romero MJ, Jareño EJ, Romero B, Marín N, Romá J. Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease. *Environmental Health Perspectives*, 1998;106:1229-34.
- Rugh R. The mouse: its reproduction and development. Burgess Publishing Company. Chapter 5, 282-289, 1968.
- Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2005;38:995-1014.
- Seema P, Swathy SS, Indira M. Protective effect of selenium on nicotine-induced testicular toxicity in rats. *Biol. Trace Element Research*. 2007;120:212-8.
- Souza ML, Menezes HC. Processamentos de amêndoa e torta de castanha-do-Brasil e farinha de mandioca: parâmetros de qualidade. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2004;24:120-8.
- Usda National Nutrient Database for Standart Reference. Nutrients values and weights for edible portion. 2006, [http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list\\_nut\\_edit.pl](http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl) (acessado em 29 de maio de 2008).
- Venkatachalam M, Sathe SK. Chemical composition of selected edible nut seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006;54:4705-14.
- Verma A, Kanwar KC. Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation in vitro. *Asian Journal of Andrology*. 1999;1:151-4.
- Zhou DX, Qiu SD, Zhang J, Tian H, Wang HX. The protective effect of vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in the testes of adult rats. *Asian Journal of Andrology*. 2006;8:584-8.
- Zini A, Garrels K, Phang D. Antioxidant activity in the semen of fertile and infertile men. *Urology*2000;55:922-6.
- Wang Y, Sharma RK, Agarwal A. Effect of cryopreservation and sperm concentration on lipid peroxidation in human semen. *Adult Urology*. 1997;50:409-13.
- Wu AS, Oldfield JE, Shull LR, Cheeke PR. Specific effect of selenium deficiency on rat sperm. *Biology of Reproduction*. 1979;20:793-8.

# Viabilidade do CGH (Comparative Genomic Hybridization) como tecnologia de análise genética embrionária

## CGH (Comparative Genomic Hybridization) viability as embryo genetic technology of analysis

JuMonique Braga<sup>1</sup>; Melissa Cavagnoli<sup>2</sup>; Raquel Vitorino<sup>3</sup>; Marcello Valle<sup>4</sup>; Marcos Sampaio<sup>5</sup>; Selmo Geber<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Especialista em Ginecologia e Obstetrícia pela FEBRASGO, especialista em Reprodução Assistida pelo Instituto Sapientiae, Médica da Clínica Origen – Rio de Janeiro (RJ).

<sup>2</sup>Especialista em Ginecologia e Obstetrícia pela FEBRASGO, Especialista em Reprodução Assistida pela Redlara, Médica da Clínica Origen – Rio de Janeiro (RJ).

<sup>3</sup>Especialista em Ginecologia e Obstetrícia pela FEBRASGO, Mestre em Pesquisa Clínica, Especialista em Reprodução Humana pela UFMG, Médica da Clínica Origen – Rio de Janeiro (RJ).

<sup>4</sup>Diretor da Clínica Origen do Rio de Janeiro - RJ

<sup>5</sup>Diretor da Clínica Origen de Belo Horizonte - MG

<sup>6</sup>Diretor da Clínica Origen de Belo Horizonte - MG

Clínica Origen, Rio de Janeiro e Belo Horizonte

### RESUMO

Nos últimos anos, o estudo genético embrionário tem sido realizado principalmente por biópsia de embriões no terceiro dia de desenvolvimento, onde um ou dois blastômeros são estudados utilizando a técnica de FISH. Porém, essa técnica, além de analisar no máximo doze cromossomos, não é capaz de descartar mosaicismos, visto que uma pequena amostra embrionária é analisada. Como o CGH (Comparative Genomic Hybridization) e aCGH (microarray analysis) promove uma avaliação de todo o genoma celular através de uma única amostra de DNA hibridizado, possibilita o diagnóstico de perdas, ganhos, deleções, translocações e amplificações genéticas. Representa, portanto, uma boa alternativa para screening genético em mulheres com idade avançada, falhas de implantação, abortamento de repetição e em casos de fator masculino grave. Para este fim, a biópsia de blastocisto é preferida. Além da seleção natural dos embriões que atingem o estágio de blastocistos, a biópsia de trofotoderma possibilita o estudo de 5 a 10 células, facilitando a detecção de mosaicismos. No entanto, assim como as técnicas anteriormente utilizadas, elas não são capazes de detectar alterações genômicas equilibradas, alterações centroméricas, pericentroméricas, defeitos gênicos e ploídias. A escolha dos embriões com menores chances de aneuploidias e melhora das taxas de sucesso dos ciclos de FIV favorece a transferência embrionária única, diminuindo os índices de gemelaridade e gravidez de risco. Contudo, apesar de promissora, mais estudos randomizados são necessários para estabelecimento desta técnica como padrão ouro na avaliação genética embrionária.

**Palavras-chave:** CGH, aneuploidia, biópsia, embrião, aCGH, genética

### ABSTRACT

In recent years, embryonic genetic analysis has been performed mainly by embryo biopsy on the third day of development, where one or two blastomeres are studied using the FISH technique. However, this technique, can not analyse the whole cell genome and can not rule out

mosaicism, since only a small sample is analyzed. As the CGH (Comparative Genomic Hybridization) and aCGH (microarray analysis) promotes an evaluation of the entire genome from a single cell DNA sample hybridized, allows the diagnosis of losses, gains, deletions, translocations and gene amplifications. Therefore, represents a good alternative to genetic screening in women with advanced age, implantation failure, recurrent abortion and in cases of severe male infertility factor. To this end, the blastocyst biopsy is preferred. Besides the natural selection of embryos reaching the blastocyst stage, the trophoctoderm biopsy allows the study of 5 to 10 cells, facilitating the detection of mosaicism. However, as the techniques previously used, it can not detect balanced genomic alterations, gene defects and ploidy. The better selection of embryos enables single embryo transfer, reducing the rates of multiple births and pregnancy risk. However, more randomized studies are needed to establish this technique as the gold standard in genetic evaluation stage.

**Keywords:** CGH, aneuploidy, biopsy, embryo, a CGH, genetic

### INTRODUÇÃO

A frequência das alterações cromossômicas nos oócitos e embriões aumenta com o avançar da idade materna, levando a uma diminuição na taxa de implantação embrionária, aumento do risco de abortamento e anormalidades cromossômicas fetais. Alguns dados estatísticos comprovam essas informações mostrando que a taxa de oócitos aneuploides é de 20% nas mulheres entre 20 a 30 anos, enquanto que nas acima de 40 anos, essa incidência é maior do que de 50% (Pellestor et al., 2003; Fragouli et al., 2006a); mais de 70% dos abortamentos no primeiro trimestre são decorrentes de alterações genéticas (Menasha et al., 2005). A incidência de anormalidades cromossômicas nos embriões provenientes da tecnologia de reprodução assistida, varia de 60% em mulheres até 35 anos à 80% em mulheres acima de 40 anos (Munné et al., 2007). Desta forma, como a aneuploidia é uma das

principais causas de insucesso nos ciclos de FIV (Fertilização in vitro), o desenvolvimento tecnológico na área de reprodução assistida tornou-se fundamental, visando o aumento das taxas de gestações geneticamente normais e sucesso do tratamento.

Antes do desenvolvimento das técnicas de biópsia embrionária para estudo genético, os embriões eram selecionados apenas pelas suas características morfológicas. Alfarawati et al (2011a) biopsiaram por CGH 500 blastocistos de mulheres com idade média de 38,5 anos. Como resultado, obteve que 56,7% dos mesmos eram aneuploides e que apenas 49,2% dos embriões classificados como grau 5 e 6 segundo os critérios de Gardner e Schoolcraft eram geneticamente normais.

Com a necessidade de melhores critérios para seleção dos embriões a serem transferidos em cada ciclo, foram desenvolvidas técnicas de screening genético pré-implantacional (PGS). A técnica mais utilizada para esse fim atualmente é o fluorescent in situ hybridization (FISH) com sondas para análise de cinco, nove ou doze cromossomos. Porém, como a análise cromossômica é específica, a informação obtida é limitada e não representa a real característica cromossômica total da célula estudada (Rius et al., 2011).

O CGH é uma técnica de análise molecular citogenética capaz de avaliar todo o genoma celular através de uma única amostra de DNA hibridizado, além de também detectar ganhos e perdas de segmentos cromossômicos. Portanto, mostra-se como uma tecnologia bastante promissora no auxílio da escolha do melhor embrião a ser transferido, visando, assim, melhores desfechos com relação à implantação embrionária e gestação saudável evolutiva.

## DISCUSSÃO

O screening genético pré-implantacional (PGS) através de biópsia embrionária tem como objetivo selecionar os embriões potencialmente viáveis para serem transferidos em um ciclo de reprodução assistida (Gutiérrez-Mateo., 2011). A análise embrionária é realizada utilizando-se as tecnologias da citogenética molecular que representa o estudo dos cromossomos ou regiões cromossômicas de interesse, pela ligação de sondas marcadas com fluorocromos à sua sequência complementar. Suas aplicações incluem a análise de ploidia, elucidação de rearranjos cromossômicos complexos, ganhos e perdas, pesquisa de microduplicações, microdeleções e mapeamento gênico. As principais indicações deste procedimento são idade materna avançada, abortamento de repetição (6 a 10% dos casais com história de abortos de repetição possuem alteração cromossômica), falha de implantação, anormalidades cromossômicas estruturais previamente conhecidas, doença genética ligada ao sexo e fator masculino grave (Sher., 2009; Harper., 2010). Diversas técnicas podem ser utilizadas com essa finalidade, como, por exemplo, o FISH, CGH e aCGH. Até o momento, nenhum estudo clínico randomizado mostrou vantagem em relação às taxas de implantação e gravidez na transferência de embriões estudados por FISH comparados com a transferência de embriões não biopsiados (Schoolcraft., 2010; Harper., 2010). Na tentativa de melhora dos resultados, outras técnicas têm sido estudadas.

O CGH é uma técnica de análise molecular citogenética capaz de avaliar todo o genoma celular através de uma única amostra de DNA hibridizado. Não depende do conhecimento prévio de regiões frequentemente afetadas e de células em metáfase do tecido em estudo, permite identificação das perdas, ganhos, deleções e duplicações cromossômicas. A técnica do CGH foi primeiramente descrita por Kallioniemi e colaboradores em 1992.

Ela consiste na marcação do DNA teste com um fluorocromo verde que é misturado em uma razão de 1:1 com DNA normal marcado com fluorocromo vermelho. Ambos são hibridizados em preparações metafásicas humanas normais. Os fragmentos de DNA marcados em verde e vermelho competem pela hibridização em seus loci de origem na preparação metafásica. A proporção de fluorescência verde e vermelha medida ao longo do eixo cromossômico é, então, analisada por um software e um sistema de análise digital de imagem capaz de identificar perdas (razão menor que 0,8) ou ganhos (razão maior que 1,2) de material genético naquela região específica. (Kallioniemi, 1992). Esta técnica fornece uma imagem de todo o genoma para aberrações desequilibradas maiores ou iguais a 10 Mbp (Landwehr et al., 2007), pode detectar a origem do material cromossômico extra ou faltante (Bryndorf et al., 1995), além de identificar deleções menores do que 10Mbp (3Mbp como a menor medida) (Kirchhoff et al., 1999). Porém, apesar da ampla capacidade diagnóstica, possui a desvantagem de não identificar rearranjos equilibrados nem poliploidias.

Nos últimos 15 anos esta técnica foi muito utilizada para classificação de tumores genéticos, caracterização de aneuploidias totais ou parciais em fetos e recém nascidos, identificação de rearranjos cromossômicos e investigação de arquivamentos placentários ou tecidos fetais mantidos em formol ou fixos em parafina (Kallioniemi., 1992; Nacheva., 1998; Lapierre., 1998; Daniely., 1999; Alviám-Goldring., 2000; Fritz., 2000; Erdel., 1997; Levy., 1997; Benzacken., 1998). Atualmente, por realizar uma análise cromossômica mais completa, tem sido utilizado como tecnologia de auxílio na reprodução humana assistida para escolha do melhor oócito e embrião a ser transferido nos ciclos de FIV.

Hoje, a citogenética molecular tem focado o estudo do CGH-array, uma tecnologia bastante promissora, variante do CGH convencional, que possui como vantagens o resultado em menos de 30 horas (Hu et al., 2004), necessidade de menor quantidade de DNA genômico para diagnóstico e maior resolução. Nesta técnica, os DNAs marcados com fluorocromos são hibridizados com um conjunto de sondas de DNA organizadas em microarranjos em uma lâmina, ao invés de cromossomos metafásicos (Schaffer et al., 2004; Wells et al., 2008; Martyn, 2010). Os sinais fluorescentes são captados por um laser de um scanner e, as intensidades de DNA em cada sequência alvo são quantificadas com a ajuda de um software de análise (Catelani, 2010; Martyn, 2010).

O primeiro relato de biópsia embrionária pré-implantacional foi feito por Handyside et al. 1989, quando embriões no terceiro dia de desenvolvimento foram analisados por PCR com o intuito de afastar doenças ligadas ao X. Porém, o primeiro nascimento após análise de blastocisto por PGD ocorreu apenas em 2002 (De Boer et al., 2002). No mesmo ano, foi realizada a primeira aplicação clínica do CGH e estudo do 1º corpúsculo polar em pacientes de 40 anos para diagnóstico genético de aneuploidia pré-implantacional (Wells et al., 2002).

A análise genética por CGH pode ser realizada em biópsia de corpúsculo polar, embriões no estágio de clivagem ou blastocisto. A pesquisa de aneuploidia em embriões no terceiro ou quinto dia de desenvolvimento têm a vantagem de favorecer a seleção biológica natural dos embriões viáveis durante as 72 a 120 horas após a injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI). Além disso, a biópsia embrionária permite a detecção de anomalias cromossômicas provenientes não só da meiose do gameta feminino, mas, também, da mitose dos blastômeros. Como o resultado do CGH não é imediato, os embriões analisados devem ser, na maioria dos casos, congelados e transferidos em outro ciclo, o que é possível com a vitrificação, que possui resultados cada vez melhores quanto

à sobrevivência no descongelamento, tanto de embriões intactos quanto de previamente biopsiados.

Como alternativa à vitrificação, o estudo embrionário por CGH pode ser realizado no terceiro dia de desenvolvimento, com transferência à fresco dos embriões em blastocisto. Da mesma forma, quando a técnica utilizada é o CGH array, o resultado mais rápido possibilita a realização da análise de blastômeros ou de trofocotoderma com transferência embrionária no sexto dia de desenvolvimento em ciclos à fresco (Harper, 2010).

Sher et al., 2009, realizaram estudo longitudinal comparando dados de 684 mulheres submetidas a transferência de blastocistos frescos e congelados entre setembro de 2006 e outubro de 2007. Neste estudo, as pacientes foram divididas em três grupos. No grupo A (139 pacientes) foi realizada biópsia embrionária e CGH no dia três, desenvolvimento in vitro até blastocisto dos embriões euploides e posterior vitrificação. No Grupo B (117 pacientes) houve transferência embrionária de blastocistos não biopsiados, previamente congelados. No grupo C (428 pacientes) as mulheres foram submetidas à transferência de blastocistos em ciclo a fresco. As indicações para realização da biópsia embrionária foram anomalias estruturais cromossômicas, abortamento de repetição, falha de implantação, idade materna avançada e síndrome dos ovários policísticos. Como resultado, observou-se que apenas 39% dos embriões eram geneticamente normais. As taxas de sobrevivência pós descongelamento foram semelhantes entre os grupos A e B (97% e 95% respectivamente). As taxas de gestação clínica e nascimentos por embrião transferido foram significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) no grupo A quando comparado com os outros grupos, assim como menores índices de abortamento e gemelares. Com relação às alterações genéticas observadas, os ganhos cromossômicos foram mais prevalentes, envolvendo principalmente os cromossomos 1, 4, 8, 16, 20 e 22. Uma conclusão importante deste estudo foi que a análise cromossômica de um blastômero por CGH falha em 12 a 15% dos casos. Entre os principais fatores limitantes estão os blastômeros anucleados, DNA degenerado e material nuclear danificado.

Apesar dos resultados satisfatórios do CGH realizado nos embriões no estágio de clivagem, não se pode assegurar euploidia, visto que, como no FISH, o mosaïcismo não pode ser afastado com a análise de apenas um a dois blastômeros. Até 60% dos embriões em estágio de clivagem exibem mosaïcismo (Vanneste et al., 2009; Johnson et al., 2010). Além disso, muitos embriões neste estágio, diagnosticados com aneuploidia pela biópsia de blastômeros, possuem a capacidade de "auto-correção" até o estágio de blastocisto (Munné et al., 2005; Frumkim et al., 2008).

Neste sentido, acredita-se que melhores resultados são alcançados com a análise cromossômica de blastocistos. Neste estágio, os embriões já passaram pela fase crítica de ativação genômica, possuem alto potencial de desenvolvimento e menores taxas de aneuploidias. Além disso, como possuem mais células, são mais resistentes e fornecem maior substrato para estudo genético através da biópsia de trofocotoderma com análise de 5 a 10 células. Contudo a técnica requer maior experiência, habilidade e laser. Além disso, caso o laboratório que irá realizar a biópsia esteja distante do laboratório que irá realizar o exame, há necessidade de domínio da técnica de vitrificação e descongelamento.

Schoolcraft et al., 2010, compararam em estudo clínico resultados de FIV em 45 pacientes submetidas ao CGH em blastocisto, vitrificação e transferência embrionária em ciclo posterior com 113 pacientes submetidas a transferência de blastocistos não biopsiados à fresco. A eficiência diagnóstica do CGH foi de 93,7% com identificação de 51,3% de aneuploidia. Como desfecho, as taxas de implantação e gestação

evolutiva foram significativamente maiores no grupo com análise genética; 72,2% e 68,9% comparados com 46,5% e 44,8%, respectivamente. Porém, neste estudo, esses resultados satisfatórios podem ter sido influenciados pela menor receptividade endometrial nos ciclos estimulados.

Wells et al., 2009, realizaram estudo clínico prospectivo onde 500 blastocistos provenientes de 115 pacientes foram analisados por CGH. As pacientes incluídas possuíam idade média de 39 anos e pelo menos uma falha de implantação em ciclo de FIV anterior (média de dois ciclos). Destas, 42 pacientes tiveram blastocistos transferidos, atingindo taxa de gestação clínica de 86% e de nascidos vivos de 80%. A taxa de implantação por embrião transferido foi de 66%, significativamente maior comparada com o grupo controle (28%). A eficácia diagnóstica da técnica foi de 93%.

Stevens et al., 2010, fizeram análise retrospectiva de 232 ciclos de FIV com blastocistos congelados. O grupo A incluiu 184 blastocistos analisados por CGH com transferência dos geneticamente normais e o Grupo B incluiu 42 blastocistos congelados e transferidos apenas conforme os critérios morfológicos. As taxas de sobrevivência dos embriões após descongelamento foram semelhantes entre os grupos (97,3% no grupo A e 95,9% no grupo B). Houve diferença estatística ( $p < 0,0001$ ) com relação à idade materna (média de 37,55 anos no grupo A e 34,85 no B) e número de blastocistos transferidos (média de 1,8 e 2,27 nos grupos A e B respectivamente). A taxa de gravidez clínica foi similar, apesar da maior idade materna e menor número de embriões transferidos no primeiro grupo, mostrando vantagem no uso do CGH para screening genético.

Além das diferenças cromossômicas observadas com relação ao estágio do desenvolvimento, Voullaire et al., 2007, mostraram diferença estatística nas taxas de aneuploidias relacionadas à idade materna e história de falha de implantação de pelo menos 10 embriões. Neste estudo, 176 embriões foram analisados por CGH no terceiro dia do desenvolvimento, encontrando-se 45% de embriões normais, 27% de aneuploidias para até dois cromossomos, 4% de aneuploidia parcial e 29% de alteração complexa, definida como alteração em três ou mais cromossomos. A taxa de aneuploidia envolvendo no máximo dois cromossomos foi significativamente maior nas pacientes com idade superior a 37 anos, quando comparadas as pacientes mais jovens. Porém, o risco de anomalia complexa, uma alteração genética aleatória, foi independente da idade e significativamente maior nas pacientes com história de falha de implantação.

Os estudos genéticos por FISH indicam que pelo menos dois terços dos embriões no dia três apresentam aneuploidia (Magli et al., 2000). Utilizando CGH, 51% dos embriões em fase de clivagem são aneuploides em todas as células, 24% são mosaicos e apenas 25% destes embriões são compostos por células normais (Wells et al., 2000). Esses dados sugerem superioridade diagnóstica do CGH em relação ao FISH.

Com o intuito de estabelecer o padrão genético dos blastocistos, Fragouli et al., 2008, analisaram por CGH 136 embriões nesta fase (média de três a dez células analisadas por embrião) com eficácia diagnóstica de 93%. Os embriões biopsiados eram normais morfológicamente e provenientes de mulheres com idade média de 36,5 anos. A incidência de aneuploidia foi de 38,8%, bem menor do que a observada no dia três, indicando gradual perda de embriões aneuploides entre esses dois estágios. Os cromossomos sexuais foram os mais afetados, seguidos dos cromossomos 22, 21, 20, 19 e 2. No total, 81 anomalias cromossômicas foram detectadas, 35 trissomias e 45 monossomias, muitas delas não detectadas pelo FISH tradicional. Se esses mesmos blastocistos tivessem sido

analisados por FISH, 36% das anomalias numéricas não teriam sido detectadas e 18,4% dos embriões teriam sido erroneamente classificados como normais. Ao analisar a taxa de aneuploidia por faixa etária, houve 48,31% de aneuploidia (principalmente complexas) nas mulheres com idade superior a 37 anos e 16,2% nas menores de 36 anos, mostrando que mesmo entre os embriões que atingem a fase de blastocisto, a frequência de aberrações cromossômicas é maior na idade materna avançada.

Neste mesmo trabalho, em um subgrupo de pacientes submetidas à biópsia embrionária no terceiro dia de desenvolvimento com análise genética por FISH 9 sondas (cromossomos 13, 15, 16, 17, 18, 21, 22, X e Y), os embriões considerados anormais pela técnica (22 embriões) foram levados à blastocisto com nova avaliação genética por FISH e CGH para confirmação. Como resultado, 41% dos embriões foram considerados normais diploides por CGH em blastocisto. Essa taxa de falso positivo, pode estar relacionada à alta taxa de mosaïcismo presente nos embriões em desenvolvimento, assim como à capacidade de auto correção embrionária.

Fragouli et al., 2011, realizaram estudo citogenético de blastocistos morfológicamente normais utilizando as técnicas de FISH, CGH e aCGH. Dos 52 embriões estudados, 32 (idade materna média de 38,3 anos) foram submetidos à biópsia de trofotoderma para CGH e 20 (idade materna média de 37,8 anos) a duas biópsias para exame por CGH e aCGH. As células remanescentes de todos os embriões foram fixadas para FISH com análise dos cromossomos 13, 15, 16, 17, 18, 21, 22, X e Y. No primeiro grupo, FISH e CGH foram concordantes em 30 dos 32 embriões estudados, sendo os dois embriões discrepantes, considerados mosaicos. No segundo grupo, FISH e aCGH foram concordantes nos 20 embriões estudados, apenas um resultado foi discordante em relação ao CGH. No total, 52% dos embriões analisados possuíam anormalidades cromossômicas, sendo as de origem pós zigótica duas vezes mais comuns que as meióticas. Destes, 32,7% foram considerados como mosaico, mostrando que esse fenômeno é comum na fase final de desenvolvimento pré implantacional. Foram observadas anomalias em todos os cromossomos, porém os mais afetados foram 22, 16, 15, 21 e X na ordem de frequência. Isso demonstra que várias monossomias e trissomias são capazes de sobreviver até os estágios finais de desenvolvimento embrionário. Novamente, foi demonstrado que a incidência de aneuploidia em blastocisto tende a aumentar com a idade materna. Neste estudo, a taxa foi de 30,4% em mulheres até 36 anos e 75,9% nas acima de 37 anos. A sensibilidade do CGH foi de 98%. Análises prévias de embriões na fase de clivagem revelaram que 75% deles são aneuploides (Voullaire et al., 2000; Wells and Delhanty, 2000). Portanto, o achado de 52% de alteração genética em blastocisto confirma a teoria de que alguns embriões aneuploides, particularmente os com mosaïcismos caóticos possuem capacidade reduzida de formação de blastocistos (Fragouli et al., 2008).

Estudos utilizando a técnica de microarray CGH também reforçam a alta taxa de aneuploidia nos embriões em estágio de clivagem. Gutiérrez-Mateo et al., 2011, validaram essa técnica através da análise de 759 embriões em clivagem selecionados para screening genético ou não transferidos em ciclos de FIV por critérios morfológicos. Todos esses embriões tiveram uma de suas células analisadas por aCGH em 24 a 30 horas. As células remanescentes dos embriões não transferidos foram analisadas por FISH (X, Y, 8, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22) para controle. Como esperado, as taxas de aneuploidias foram proporcionais à idade materna, variando de 51% a 78% em pacientes com idade inferior a 35 anos e superior a 40 anos, respectivamente. Os resultados indicaram que o aCGH é capaz de detectar 42% mais

anormalidades genéticas e 13% mais embriões anormais que o screening clássico por FISH de 12 sondas. Também observou-se que, apesar do aCGH não ser capaz de detectar poliploidias, apenas 1,7% dos embriões poliplóides ou haplóides não foram detectados, visto que a maioria dos embriões possuíam outras alterações sobrepostas.

Seguindo esse raciocínio de maior detecção de aneuploidias com o aCGH, Hellani et al., 2008, realizaram estudo sobre aplicação clínica desta tecnologia para screening genético em casais com idade materna média de 36 anos e história de no mínimo sete falhas de implantação. No total, 41 embriões provenientes de oito casais foram submetidos à biópsia no estágio de oito células, análise de dois blastômeros por aCGH e confirmação diagnóstica por FISH (cromossomos 13, 16, 18, 21, 22, X e Y) nos casos de alteração genéticas. Como desfecho, cinco pacientes tiveram gestação evolutiva no terceiro trimestre após transferência dos embriões normais. Quando analisados por FISH, apenas, 40% das alterações cromossômicas puderam ser detectadas.

## CONCLUSÕES

Diversos estudos clínicos comprovam melhores desfechos com relação às taxas de implantação e gestação em curso entre a transferência de embriões biopsiados por CGH em comparação com embriões não biopsiados. Porém, como o diagnóstico genético pelo CGH demora cerca de 72 horas para a realização da análise genética dos blastocistos, os embriões devem ser vitrificados após a biópsia e transferidos em ciclos posteriores. Este é um fator limitante desta técnica. Mesmo diante de resultados cada vez melhores de sobrevivência embrionária pós-descongelamento, observa-se que a taxa de implantação dos embriões biopsiados pós-vitrificação é menor (Landuyt et al., 2010). Neste sentido, o ideal seria o uso do microarray CGH.

O CGH representa um importante avanço tecnológico na área da reprodução humana assistida. A escolha dos embriões com menores chances de aneuploidias e melhora das taxas de sucesso dos ciclos de FIV possibilita a transferência embrionária única, diminuindo os índices de gemelaridade e gravidez de risco. Contudo, mais estudos randomizados são necessários para estabelecimento desta técnica como padrão ouro na avaliação genética embrionária.

## Correspondência:

Melissa Cavagnoli  
Rua Rodolfo de Amoedo, 140  
E-mail: melissacavagnoli@origen.com.br  
Fone: (21) 2128.5353  
Rio de Janeiro – RJ  
CEP: 22620-350

## REFERÊNCIAS

- Alfarawati S, Fragouli E, Colls P, Stevens J, Gutiérrez-Mateo C, Schoolcraft WB, Katz-Jaffe M, Wells D, Path FR. The relationship between blastocyst morphology, chromosomal abnormality, and embryo gender. *Fertil Steril*. 2011; 95: 520-4.
- Bryndorf T, Kirchoff M, Maarh J. Comparative genomic hybridization in clinical cytogenetics. *Am J Hum Genet*. 1995; 57: 1211-20.
- Catelan A L. Variação no número de cópias de segmentos de DNA (CNV) em pacientes com surdez síndrômica. Tese (Doutorado). Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- De Boer K, McArthur S, Murray C, Jansen R. First live birth following blastocyst biopsy and PGD analysis. *Reprod Biomed Online*. 2002; 4: 35.
- Fragouli E, Wells D, Doshi A, Gotts S, Harper JS, Delhanty JD. Complete cytogenetic investigation of oocytes from a young cancer patient with the use of comparative genomic hybridization reveals meiotic errors. *Prenat Diagn*. 2006a; 26: 71-6.

- Fragouli E, Lenzi M, Ross R, Katz-Jaffe M, Schoolcraft WB, Wells D. Comprehensive molecular cytogenetic analysis of the human blastocyst stage. *Hum Reprod*. 2008; 23: 2596-608.
- Fragouli E, Alfarawati S, Daphnis DD, Goodall N, Mania A, Griffiths T, Gordon A, Wells D. Cytogenetic analysis of human blastocysts with the use of FISH, CGH and aCGH: scientific data and technical evaluation. *Hum Reprod*. 2011; 26: 480-90.
- Frumkin T, Malcov M, Yaron Y, Bem- Yosef D. Elucidating the origin of chromosomal aberrations in IVF embryos by preimplantation genetic analysis. *Mol Cell Endocrinol*. 2008; 282: 112-9.
- Gutiérrez-Mateo C, Colls P, Sanchez-García J, Escudero T, Prates R, Ketterson K, Wells D, Munne S. Validation of microarray comparative genomic hybridization for comprehensive chromosome analysis of embryos. *Fertil Steril*. 2011; 95: 953-8.
- Handyside AH, Pattinson JK, Penketh RJ, Delhanty JD, Winston RM, Tuddenham EG. Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. *Lancet*. 1989; 18: 347-9.
- Hellani A, Abu-Amero K, Azouri J, El-Akoum S. Successful pregnancies after application of array-comparative genomic hybridization in PGS-aneuploidy screening. *Reprod Biomed Online*. 2008; 17: 841-7.
- Hu DG, Webb G, Hussey N. Aneuploidy detection in single cells using DNA array-based comparative genomic hybridization. *Mol Hum Reprod*. 2004; 10: 283-9.
- Johson DS, Gemelos G, Baner J, Ryan A, Cinnioglu C, Banjevic M, Ross R, Alper M, Barrett B, Frederick J. Preclinical validation of a microarray method for full molecular karyotyping of blastomeres in a 24-hour protocol. *Hum Reprod*. 2010; 25: 1066-75.
- Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, Pinkel D. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science*. 1992; 258: 818-21.
- Kirchhoff M, Gerdes T, Maahr J. Deletions below 10 megabases detected in comparative genomic hybridization by standard reference intervals. *Genes Chromosomes Cancer*. 1999; 25: 410-3.
- Landwehr C, Montag M, Vem KVD, Weber RG. Rapid comparative genomic hybridization protocol for prenatal diagnosis and its application to aneuploidy screening of human polar bodies. *Fertil Steril*. 2007; 90: 488-96.
- Landuyt LV, Verpest W, Verheyen G, Vos AD, Velde HV, Liebaers I, Devroey P, Abbeel EV. Closed blastocyst vitrification of biopsied embryos: evaluation of 100 consecutive warming cycles. *Hum Reprod*. 2011; 26: 316-22.
- Magli MC, Jones GM, Gras L, Gianaroli L, Korman I, Trounson AO. Chromosome mosaicism in day 3 aneuploid embryos that develop to morphologically normal blastocysts in vitro. *Hum Reprod*. 2000; 15: 1781-6.
- Martyn ML. Investigações de alterações cromossômicas em pacientes com malformação do corpo caloso. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- Menasha J, Levy B, Hirschhorn K, Kardon NB. Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in spontaneous abortions: new insights from a 12-year study. *Genet Med*. 2005; 7: 251-63.
- Munné S, Velilla E, Colls P. Self-correction of chromosomally abnormal embryos in culture and implications for stem cell production. *Fertil Steril*. 2005; 84: 1328-34.
- Munné S, Chen S, Colls P, Garrisi J, Zheng X, Cekleniak N, Lenzi M, Hughes P, Fisher J, Garrisi M, Tomkin G, Cohen J. Maternal age, morphology, development and chromosome abnormalities in over 6000 cleavage-stage embryos. *Reprod Biomed Online*. 2007; 14: 628-34.
- Pelleston F, Andréo B, Arnal F, Humeau C, Demaille J. Maternal aging and chromosomal abnormalities: new data drawn from in vitro unfertilized human oocytes. *Hum Genet*. 2003; 112: 195-203.
- Rius M, Daina G, Obradors A, Ramos L, Velilla E, Fernandez S, Martinez-Passarell O, Benet J, Navarro J. Comprehensive embryo analysis of advanced maternal age-related aneuploidies and mosaicism by short comparative genomic hybridization. *Fertil Steril*. 2011; 94: 413-6.
- Schaeffer AJ, Chung J, Heretis K, Wong A, Ledbetter DH, Martin CL. Comparative Genomic Hybridization-Array Analysis Enhances the Detection of Aneuploidies and Submicroscopic Imbalances in Spontaneous Miscarriages. *Am J Hum Genet*. 2004; 74: 1168-74.
- Schoolcraft WB, Fragouli E, Stevens J, Munné S, Katz-Jaffe MG, Wells D. Clinical application of comprehensive chromosomal screening at the blastocyst stage. *Fertil Steril*. 2010; 94: 1700-6.
- Sher G, Keskinetepe L, Keskinetepe M, Maassarani G, Tortoriello D, Brody S. Genetic analysis of human embryos by metaphase comparative genomic hybridization (mCGH) improves efficiency of IVF by increasing embryo implantation rate and reducing multiple pregnancies and spontaneous miscarriages. *Fertil Steril*. 2009; 92: 1886-94.
- Stevens JM, Surrey ES, Minjarez DA, Gustofson RL, Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG. Comprehensive chromosome screening significantly improves implantation rates following frozen blastocyst transfer. *Fertil Steril*. 2010; 94: O-64.
- Vanneste E, Voet T, Le Caignec, Ampe M, Konnings P, Melotte C, Debrock S, Amyere M, Vikkula M, Schuit F. Chromosome instability is common in human cleavage-stage embryos. *Nat Med*. 2009; 15: 577-83.
- Voullaire L, Slater H, Williamson R, Wilton L. Chromosomal analysis of blastomeres from human embryos by using comparative genomic hybridization. *Hum Genet*. 2000. 106: 210-7.
- Voullaire L, Collins V, Callaghan T, McBain J, Williamson R, Wilton L. High incidence of complex chromosome abnormality in cleavage embryos from patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril*. 2007; 87: 1053-8.
- Wells D, Delhanty JD. Comprehensive chromosomal analysis of human preimplantation embryos using whole genome amplification and single cell comparative genomic hybridization. *Mol Hum Reprod*. 2000; 6: 1055-62.
- Wells D, Escudero T, Levy B, Hirschhorn K, Delhanty JD, Munné S. First clinical application of comparative genomic hybridization and polar body testing for preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Fertil Steril*. 2002; 78: 543-9.
- Wells D, Alfarawati S, Fragouli E. Use of comprehensive chromosomal screening for embryo assessment: microarrays and CGH. *Mol Hum Reprod*. 2008; 14: 703-10.
- Wells D, Fragouli E, Alfarawati S, Munné S, Schoolcraft B, Katz-Jaffe MG. Highly significant improvement in embryo implantation and increased live birth rate achieved after comprehensive chromosomal screening: implications for single embryo transfer. *Fertil Steril*. 2009; 91: O-268.

# Correlação entre os dismorfismos oocitários e os resultados da fertilização in vitro

## Morfologia oocitária X Fertilização in vitro

Ana Márcia de Miranda Cota<sup>1</sup>, Claudia G Petersen<sup>1,2,3</sup>, Joao Batista A Oliveira<sup>1,2,3</sup>, Ana L Mauri<sup>2,3</sup>, Fabiana C Massaro<sup>2,3</sup>, Mario Cavagna<sup>2,3,4</sup>, Ricardo LR Baruffi<sup>2,3</sup>, José G Franco Jr<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu UNESP - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, Brasil

<sup>2</sup>Centro de Reprodução Humana Professor Franco Jr, Ribeirão Preto, Brasil

<sup>3</sup>Centro Paulista de Diagnóstico, Pesquisa e Treinamento, Ribeirão Preto, Brasil

<sup>4</sup>Centro de Referência da Saúde da Mulher, Hospital Pérola Byington, Sao Paulo, Brasil

### RESUMO

Na reprodução assistida, a seleção de gametas com o objetivo de alcançar melhores resultados clínicos é uma tarefa crucial dos embriologistas. A qualidade do oócito é um fator chave na fertilidade feminina, refletindo o potencial intrínseco de desenvolvimento do gameta, além de ter um papel crucial não só na fecundação, mas também no desenvolvimento embrionário subsequente. Os dismorfismos oocitários são classificados em 2 tipos: citoplasmáticos, que incluem a presença de granulações e/ou de inclusões citoplasmáticas (vacúolos, corpos refrativos, agregados do retículo endoplasmático) e extracitoplasmáticos (alterações na forma do oócito, alterações na zona pelúcida, no espaço perivitelino e alterações do corpúsculo polar). Variações na morfologia oocitária podem ocorrer devido a fatores como idade da mulher, problemas genéticos e alterações no ambiente hormonal a que o oócito é exposto com a hiperestimulação ovariana. A classificação da morfologia oocitária, bem como sua correlação com o desenvolvimento embrionário e taxa de gravidez são bastante controversas na literatura. Vários estudos não demonstram nenhuma associação entre os dismorfismos oocitários e os resultados da fertilização in vitro, enquanto outros relatam uma associação entre a morfologia oocitária e desenvolvimento embrionário. Essas diferenças nos resultados podem ser explicadas devido a utilização de diferentes critérios morfológicos e devido a uma falta de padronização nessa avaliação oocitária.

**Palavras-chaves:** Fertilização in vitro; dismorfismo; morfologia oocitária; reprodução assistida

### ABSTRACT

In assisted reproduction, the selection of gametes to achieve better clinical outcomes is a crucial task of embryologists. The quality of the oocyte is a key factor in female fertility, reflecting the intrinsic potential of gamete development, and has a vital role not only in conception but also in subsequent embryonic development. Oocyte dysmorphisms are classified into two types: cytoplasmic, including the presence of granules and/or cytoplasmic inclusions (vacuoles, refractive bodies, and aggregates of the endoplasmic reticulum), and extracytoplasmic (changes in the shape of the oocyte, the zona pellucida, the space perivitelline changes and the polar body). Variations in oocyte morphology may occur due to factors such as the age of women, genetic problems and changes in the hormonal environment to which the oocyte is

exposed in ovarian hyperstimulation. The classification of oocyte morphology and its correlation with embryo development and pregnancy rates are controversial in the literature. Several studies show no association between oocyte dysmorphisms and the results of in vitro fertilization, while others report an association between oocyte morphology and embryo development. These differences in the results can be explained by the use of different morphological criteria due to a lack of standardization of oocyte evaluation.

**Keywords:** In vitro fertilization, dysmorphism, oocyte morphology, assisted reproduction

### INTRODUÇÃO

Na reprodução assistida, a seleção de gametas com o objetivo de alcançar melhores resultados clínicos é uma tarefa crucial dos embriologistas. Esta questão tem especial importância quando as considerações éticas, legais ou mesmo religiosas impõem limites à seleção do embrião, consequentemente, à formação de embriões excedentes. A qualidade do oócito é um fator chave na fertilidade feminina, refletindo o potencial intrínseco de desenvolvimento do gameta, além de ter um papel crucial não só na fecundação, mas também no desenvolvimento embrionário subsequente (Gilchrist et al. 2008).

Para a apreciação da morfologia dos oócitos é necessário que seja feita a desnudação (retirada do cumulus oophorus e das células da corona radiata) para a sua execução. Após a desnudação, consegue-se definir a maturidade oocitária, com a identificação do primeiro corpúsculo polar, além de permitir a avaliação da morfologia oocitária, analisando as características da zona pelúcida, do espaço perivitelino e do citoplasma (Rienzi et al. 2008). Um oócito considerado com uma boa morfologia é um oócito de forma arredondada, com um único corpúsculo polar (CP) intacto, zona pelúcida (ZP) clara, um espaço perivitelino pequeno, um citoplasma transparente, homogêneo, sem granulações ou inclusões (Balaban & Urman 2006; Balaban et al. 1998; De Sutter et al. 1996; Rienzi et al. 2008; Xia 1997). No entanto, cerca de 60 a 80% dos oócitos maduros captados apresentam pelo menos uma alteração em sua morfologia (Balaban & Urman 2006; Van Blerkom & Henry 1992; Yakin et al. 2007).

Os dismorfismos oocitários são classificados em 2 tipos básicos: citoplasmáticos e extracitoplasmáticos.

Os distúrbios citoplasmáticos incluem a presença de grânulos e/ou de inclusões citoplasmáticas (vacúolos, corpos refrativos, agregados do retículo endoplasmático). Alterações na forma do oócito, da ZP (espessa, fina, escura), no espaço perivitelino (grande, pequeno, presença de fragmentos) e do CP (degeneração, fragmentação) são classificadas como distúrbios extracitoplasmáticos. Os distúrbios podem ocorrer devido a fatores como idade e problemas genéticos, além de fatores relacionados com o tratamento propriamente dito, como por exemplo, a hiperestimulação ovariana e o ambiente hormonal a que o oócito é exposto (de Bruin et al. 2004; Murber et al. 2009; Rashidi et al. 2005).

A classificação da morfologia oocitária, bem como sua correlação com o desenvolvimento embrionário e taxa de gravidez são bastante controversas na literatura. Alguns estudos não demonstram nenhuma associação com os resultados da fertilização in vitro (FIV) (Balaban et al. 1998), enquanto outros relatam uma associação entre morfologia oocitária e desenvolvimento embrionário (Xia 1997). Essas diferenças nos resultados podem ser explicadas devido a utilização de diferentes critérios morfológicos e devido a uma falta de padronização nessa avaliação oocitária.

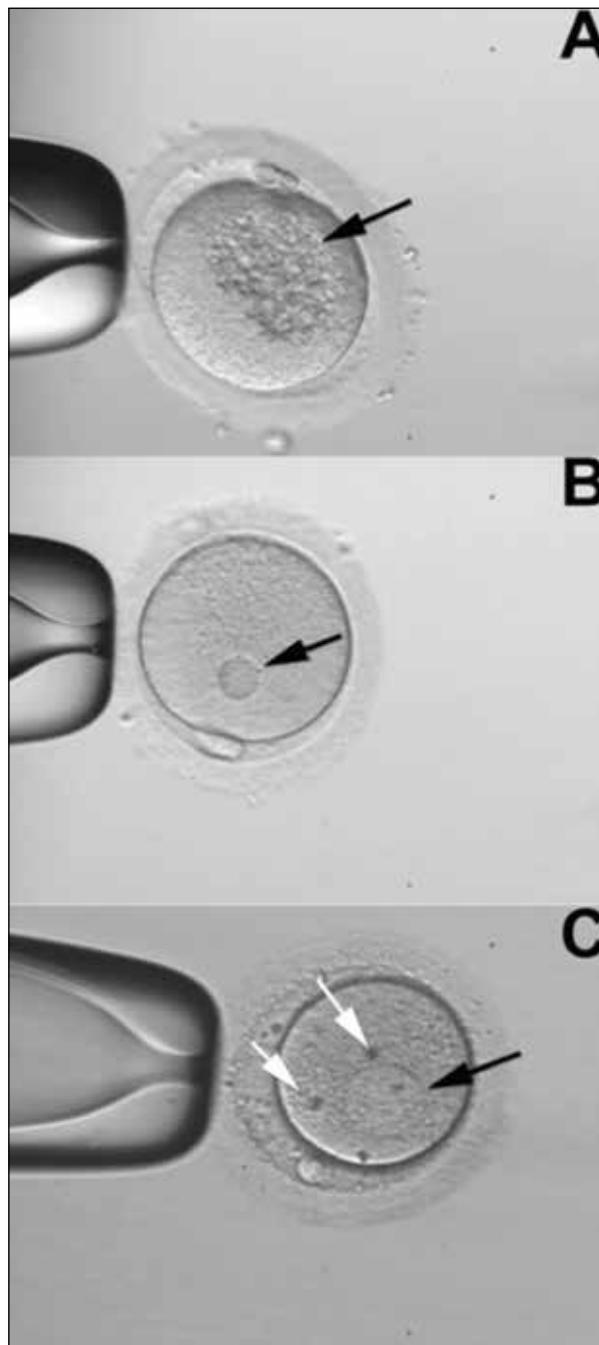
Tendo por base essas considerações, para compreender melhor o valor diagnóstico e prognóstico das alterações morfológicas, o objetivo desta revisão é avaliar os dados disponíveis na literatura a respeito da influência dos diferentes distúrbios oocitários sobre os resultados da FIV.

#### A) Alterações citoplasmáticas (Figura 1)

Para que o oócito seja capaz de ser fertilizado por um espermatozóide, é necessário que ele passe por uma série de eventos que leve tanto à sua maturidade nuclear quanto citoplasmática, eventos esses que podem ocorrer de forma independente (Figueira et al. 2010; Rienzi et al. 2008; Setti et al. 2011). Após a desnudação, é possível verificar a presença do primeiro corpúsculo polar, o que comprova a maturidade nuclear do oócito. No entanto, a avaliação da maturação citoplasmática ainda não é bem estabelecida. Alguns autores correlacionam essa maturidade citoplasmática com a ausência de inclusões citoplasmáticas, ou seja, um oócito maduro no que se refere ao citoplasma, seria aquele sem grânulos, vacúolos, com um citoplasma claro e homogêneo (Loutradis et al. 1999). Portanto, a presença de inclusões citoplasmáticas poderia significar uma imaturidade citoplasmática o que influenciaria na fertilização e desenvolvimento embrionário. Apesar dos oócitos com imaturidade citoplasmática poderem ser fertilizados, eles podem ocasionar um desenvolvimento embrionário inadequado (Loutradis et al. 1999).

Na literatura ainda não existe uma padronização em se definir e conceituar as grânulos citoplasmáticos. Existem diversas formas de se nomeá-las: grânulos, grânulos centrais, grânulos homogêneos ou grânulos heterogêneos, o que torna muito difícil uma avaliação nos dados. Em relação às inclusões citoplasmáticas (vacúolos, corpos refrativos e agregados do retículo endoplasmático) os dados também são pouco claros. Alguns estudos os avaliam de forma agrupada (Balaban et al. 2008; Xia 1997), enquanto outros analisam separadamente (Rienzi et al. 2008; Ten et al. 2007), dificultando a interpretação.

Xia (1997) evidenciou que a presença de inclusões citoplasmáticas interferia negativamente na taxa de ferti-



**Figura 1.** Alterações oocitárias citoplasmáticas: grânulos e inclusões citoplasmáticas. A- grânulos. B- vacúolo. C- Seta negra: agregado do retículo endoplasmático / Seta branca: corpo refrativo.

lização e na qualidade embrionária dos oócitos com espaço perivitelino normal e primeiro corpúsculo polar intacto. Loutradis et al. (1999) observaram que oócitos com citoplasma escuro, fragmentos e vacúolos citoplasmáticos geravam embriões de pior qualidade e consequentemente obtiveram uma menor taxa de gravidez quando comparados com embriões originados de oócitos com citoplasma normal. Além desses artigos, Ten et al. (2007) relataram que oócitos com um citoplasma escuro diminuía a chance de ter um embrião de boa qualidade em 83% (OR 0,17 95% IC 0,04 - 0,74). Em recente meta-análise, Setti et al. (2011) observaram que a presença de corpos refrativos e de vacúolos reduziam significativamente a taxa de fertilização dos oócitos (OR

0,66 95% IC 0,51 – 0,84 e OR 0,59 95% IC 0,42 – 0,83 para corpos refrativos e vacúolos respectivamente).

Em outro estudo, Balaban et al. (2008) verificaram que anormalidades citoplasmáticas severas ou múltiplas interferiam no desenvolvimento e na qualidade embrionária. Embriões de boa qualidade no dia 3 (grau 1 e 2) eram, em sua maioria, derivados de oócitos morfologicamente normais ou de embriões com apenas uma alteração extracitoplasmática. Apenas cerca de 3,5% dos embriões grau 1 e 2 no terceiro dia eram derivados de oócitos com alterações citoplasmáticas severas. Além disso, observaram que o encontro de alterações citoplasmáticas, principalmente os vacúolos e as granulações centrais, apresentaram um grande impacto negativo sobre a taxa de sobrevivência dos embriões ao congelamento e descongelamento e sua evolução para blastocisto. Somente 8,3% dos embriões originados de oócitos com presença de vacúolos ou granulações evoluíram para a formação de blastocistos de boa qualidade, sendo que nenhum deles realizou "hatching" (eclosão). Esse achado está de acordo com o encontrado em outros artigos (Balaban & Urman 2006; Yakin et al. 2007).

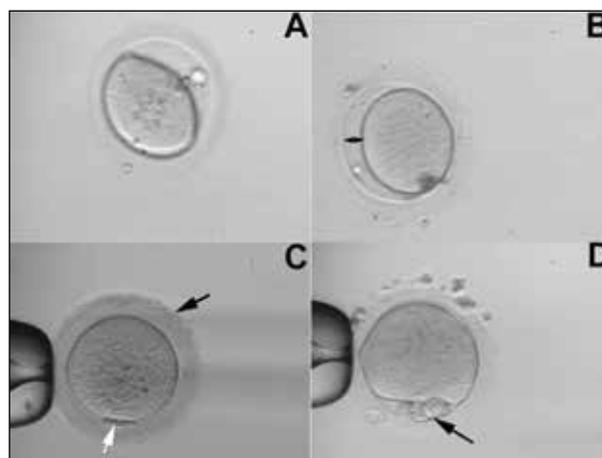
Rienzi et al. (2008) evidenciaram em seu estudo que a presença de vacúolos citoplasmáticos estavam correlacionados com um decréscimo significativo na taxa de fertilização (OR 2,09 95% IC 1,02 – 4,31,  $P = 0,04$ ) e que o único dimorfismo oocitário que influenciava negativamente na qualidade embrionária era a presença das granulações centrais. Quando um oócito apresentava granulações citoplasmáticas, a incidência de embriões de boa qualidade era significativamente diminuída (OR 2,26 95% IC 1,25 – 4,08  $P = 0,007$ ).

Yakin et al. (2007) demonstraram que oócitos com alterações citoplasmáticas obtiveram uma menor taxa de fertilização e de clivagem quando comparado com oócitos com citoplasma normal, sem no entanto haver diferença estatística. Além disso, foi demonstrado que as alterações oocitárias não tiveram nenhum efeito adverso sobre a qualidade embrionária no dia 3. Entretanto, a presença de inclusões citoplasmáticas e a associação de anormalidades tiveram um impacto significativo sobre a taxa de formação de blastocisto. Nesse mesmo estudo, foi avaliado se o dimorfismo oocitário estava relacionado ou não à aneuploidia. Foi observado que oócitos com morfologia oocitária normal e alterada geravam embriões com uma taxa de aneuploidia semelhante. Contudo, dentre as alterações morfológicas a que apresentou uma maior associação com aneuploidias, apesar de sem significância estatística, foi o dimorfismo citoplasmático.

No entanto, outros estudos (De Sutter et al. 1996; Kahraman et al. 2000; Meriano et al. 2001) não encontraram correlação entre a morfologia oocitária e a taxa de fertilização e a qualidade embrionária após a ICSI. Serhal et al. (1997) demonstraram que a taxa de fertilização e de clivagem não era afetada pelas alterações das características morfológicas do citoplasma dos oócitos. No entanto, a presença de oócitos com granulações e inclusões citoplasmáticas, tais como, vacúolos, corpos refrativos e agregados do retículo endoplasmático, reduziu significativamente a taxa de implantação. Corroborando com esse achado, Kahraman et al. (2000) não encontraram diferença significativa na taxa de fertilização, qualidade embrionária e taxa de gravidez em oócitos com ou sem granulações citoplasmáticas. Entretanto, observou-se uma menor taxa de implantação e de gravidez evolutiva com oócitos com granulações centrais.

## B) Alterações extracitoplasmáticas (Figura 2)

Balaban et al. (2008) analisaram as anormalidades extracitoplasmáticas de forma agrupada e observaram que a presença dessas não interferia no desenvolvimento embrionário. A maioria dos embriões de boa qualidade foi derivada de oócitos em metáfase II (MII) considerados morfologicamente normais ou de oócitos com uma única anormalidade extracitoplasmática. Além disso, demonstraram que a sobrevivência dos embriões após o congelamento/descongelamento e seu desenvolvimento até o estágio de blastocisto não era afetada se os embriões fossem originados de um oócito com uma única alteração extracitoplasmática.



**Figura 2.** Alterações oocitárias extracitoplasmáticas: A: oócito com forma irregular. B: espaço perivitelino aumentado. C: Seta negra - Zona Pelúcida espessa / Seta branca: alterações no corpúsculo polar. D: alterações no corpúsculo polar.

### B1) Forma do oócito

O oócito humano maduro tem uma forma arredondada e possui um diâmetro de aproximadamente 110 a 115  $\mu\text{m}$ . A maioria dos estudos não encontra uma associação entre as alterações na forma dos oócitos e os resultados da fertilização *in vitro* (Balaban et al. 2008; Balaban et al. 1998; Rienzi et al. 2008; Setti et al. 2011). De Sutter et al. (1996) não encontraram correlação entre as alterações na forma dos oócitos e taxa de fertilização e qualidade embrionária. Além disso, Yakin et al. (2007) demonstraram que a forma do oócito não teve influência sobre a taxa de formação de blastocisto. Setti et al. (2011), em sua meta-análise, não encontraram correlação entre alterações na forma dos oócitos e taxa de fertilização (OR 0,99 95% IC 0,83 – 1,17) e qualidade embrionária (OR 1,02 95% IC 0,83 – 1,25).

### B2) Espaço perivitelino

O espaço perivitelino é a região preenchida por líquido entre a membrana plasmática do oócito e a zona pelúcida, sendo considerado normal quando é pequeno e não apresenta fragmentos.

Xia (1997) demonstrou que oócitos com um espaço perivitelino normal apresentavam uma taxa de fertilização (60,3% para oócitos com espaço perivitelino normal x 37,5% para oócitos com espaço perivitelino aumentado) e um desenvolvimento embrionário significativamente melhor quando comparado com oócitos com um espaço perivitelino aumentado. Além disso, o espaço perivitelino aumentado diminuiu significativamente a taxa de sobrevivência dos embriões grau 2, ou seja, embriões de boa qualidade, ao congelamento/

descongelamento quando comparado com os embriões grau 2 originado de oócitos com morfologia normal. No entanto, a taxa de formação de blastocistos desses embriões não foi afetada. Corroborando com esses achados, Rienzi et al. (2008) evidenciaram em seu estudo que a presença de um espaço perivitelino aumentado estava correlacionado com um decréscimo significativo na taxa de fertilização (OR 1,44 95% IC 1,06 – 1,97 P = 0,02). De acordo com esses achados, recente meta-análise também demonstrou que um espaço perivitelino aumentado reduzia a probabilidade de fertilização de um oócito (OR 0,86 95% IC 0,74 – 0,99) (Setti et al. 2011). Essa interferência do espaço perivitelino aumentado sobre a taxa de fertilização e desenvolvimento do embrião poderia estar relacionada a uma excitose prematura dos grânulos corticais, sugerindo um citoplasma pós-maduro no momento da ICSI (Mikkelsen & Lindenberg 2001).

Em contrapartida, Hassan-Ali et al. (1998) não encontraram correlação entre a presença de granulações no espaço perivitelino e a taxa de fertilização, taxa de clivagem e de implantação embrionária. Esses autores concluíram que a presença de granulações no espaço perivitelino provavelmente se trata de um fenômeno fisiológico relacionado à maturidade oocitária, principalmente porque a incidência dessa alteração se mostrou significativamente mais frequente em oócitos em estágio de MII (oócitos maduros), quando comparado com oócitos imaturos (estágio de metafase I (MI) e em estágio de vesícula germinativa (VG) (34,4%; 4,4% e 0%, respectivamente). Outros estudos (Balaban et al. 2008; Balaban et al. 1998; De Sutter et al. 1996) também não encontraram associação entre alterações do espaço perivitelino e taxa de fertilização, taxa de clivagem e qualidade embrionária.

### B3) Zona pelúcida

É uma camada acelarar de glicoproteína que reveste todo o oócito, medindo aproximadamente cerca de 15 a 20µm, formada por três glicoproteínas: ZP1, ZP2 e ZP3. Tanto a ZP2 quanto a ZP3 agrupam-se em filamentos, enquanto a ZP1 entrecruza esses filamentos, formando uma rede tridimensional. Dessa forma, a ZP desempenha um importante papel desde a fertilização, através da interação entre os gametas, promove a reação acrossômica, impede a polispermia, além de manter o revestimento e fornecer proteção ao embrião em seu estágio inicial (Bertrand et al. 1995).

Diferentes estudos não observaram influência da presença de zona pelúcida escura na taxas de fertilização, clivagem e implantação e na qualidade embrionária (Balaban et al. 1998; De Sutter et al. 1996; Ten et al. 2007). Corroborando com esses autores, Setti et al. (2011) também não encontraram em sua meta-análise influencia da zona pelúcida sobre a taxa de fertilização do oócito (OR 0,94 95% IC 0,77 – 1,13) e qualidade embrionária (OR 1,17 95% IC 0,93 – 1,47). Além disso, Balaban et al. (2008) não encontraram alteração significativa na sobrevida dos embriões originados de oócitos com ZP escura após o congelamento e descongelamento e nem afetou o desenvolvimento embrionário para o estágio de blastocisto.

Entretanto, com relação à espessura, Bertrand et al. (1995) relataram que a ZP dos oócitos fertilizados eram significativamente mais finas que a dos oócitos que não fertilizaram ( $16.6 \pm 3.2\mu\text{m} \times 18.9 \pm 4.0\mu\text{m}$ ,  $P < 0.001$ ), sem no entanto, afetar a taxa de gravidez.

### B4) Corpúsculo polar

O primeiro corpúsculo polar é uma estrutura oval que mede aproximadamente cerca de 15µm de diâmetro, sendo liberado após a telófase da primeira divisão meiótica, indicando que o oócito está maduro para a fertilização.

Alterações na morfologia do primeiro corpúsculo polar podem significar uma maturação nuclear acelerada e um longo perí-

odo de tempo em estágio de MII antes de sua fertilização, além do fato dessas alterações poderem estar associadas a uma assincronia entre a maturação nuclear e a maturação citoplasmática (Eichenlaub-Ritter et al. 1995). É necessário um período de tempo entre a extrusão do primeiro corpúsculo polar e a fertilização para que o oócito adquira a competência para uma fertilização adequada (Xia 1997).

Rienzi et al. (2008) evidenciaram que embora a presença de alterações no primeiro corpúsculo polar fosse relativamente rara (4,4%), quando presente estavam relacionadas com um decréscimo significativo na taxa de fertilização (OR 2,02 95% IC 1,09 – 3,77,  $P = 0,02$ ). Setti et al. (2011) em recente meta-análise, encontraram que fragmentação no primeiro corpúsculo polar não interferia na taxa de fertilização de um oócito e nem na qualidade embrionária, mas um aumento em seu tamanho reduzia significativamente a taxa de fertilização (OR 0,29 95% IC 0,09 – 0,90).

No entanto, segundo Ciotti et al. (2004), nenhuma correlação significativa foi encontrada entre a morfologia do primeiro corpúsculo polar e a taxa de fertilização, taxa de clivagem, qualidade embrionária, taxa de implantação e taxa de gravidez.

### Considerações Finais

Apesar de recente meta-análise (Setti et al. 2011) ter demonstrado associação entre a presença de alterações morfológicas específicas e redução na taxa de fertilização, a análise particular de cada estudo revela a contradição dos dados da literatura a cerca da correlação entre a presença dos dismorfismos oocitários e os resultados da fertilização in vitro. Isso se deve principalmente porque não há uma padronização na definição das alterações oocitárias, além de não haver uma uniformidade na coleta dos parâmetros a serem analisados. Alguns estudos analisam os parâmetros morfológicos dos oócitos individualmente, enquanto outros avaliam em conjunto ou até mesmo desenvolvem um escore para a sua análise. Os dados contraditórios sublinham a importância de uma investigação mais intensiva e coordenada para chegar a um consenso e explorar plenamente o potencial preditivo do exame morfológico não invasivo de oócitos humanos.

### Correspondência

João Batista Alcantara Oliveira  
Centro de Reprodução Human Prof Franco Jr  
Av Joao Fiusa 689  
Ribeirão Preto – SP – Brasil  
CEP:14015-130  
Tel: (16) 3911-1100  
e-mail: crh@crh.com.br

### REFERÊNCIAS

- Balaban B, Ata B, Isiklar A, Yakin K, Urman B. Severe cytoplasmic abnormalities of the oocyte decrease cryo-survival and subsequent embryonic development of cryo-preserved embryos. *Hum Reprod.* 2008; 23: 1778-85
- Balaban B, Urman B. Effect of oocyte morphology on embryo development and implantation. *Reprod Biomed Online.* 2006; 12: 608-15
- Balaban B, Urman B, Sertac A, Alatas C, Aksoy S, Mercan R. Oocyte morphology does not affect fertilization rate, embryo quality and implantation rate after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1998; 13: 3431-33
- Bertrand E, Van den Bergh M, Englert Y. Does zona pellucida thickness influence the fertilization rate? *Hum Reprod.* 1995; 10: 1189-93

- Ciotti PM, Notarangelo L, Morselli-Labate AM, Felletti V, Porcu E, Venturoli S. First polar body morphology before ICSI is not related to embryo quality or pregnancy rate. *Hum Reprod.* 2004; 19: 2334-39
- de Bruin JP, Dorland M, Spek ER, Posthuma G, van Haften M, Looman CW, te Velde ER. Age-related changes in the ultrastructure of the resting follicle pool in human ovaries. *Biol Reprod.* 2004; 70: 419-24
- Figueira RCS, Braga DPAF, Semiao-Francisco L, Madaschi C, Iaconelli Jr. A, Borges Jr. E. Metaphase II human oocyte morphology: contributing factors and effects on fertilization potential and embryo developmental ability in ICSI cycles. *Fertil Steril.* 2010; 94: 1115-7
- De Sutter P, Dozortsev D, Qian C, Dhont M. Oocyte morphology does not correlate with fertilization rate and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1996; 11: 595-7
- Eichenlaub-Ritter U, Schmiady H, Kentenich H, Soewarto D. Recurrent failure in polar body formation and premature chromosome condensation in oocytes from a human patient: indicators of asynchrony in nuclear and cytoplasmic maturation. *Hum Reprod.* 1995; 10: 2343-9
- Gilchrist RB, Lane M, Thompson JG. Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Hum Reprod update.* 2008; 14: 159-77
- Hassan-Ali H, Hisham-Saleh A, El-Gezeiry D, Baghdadly I, Ismaeil I, Mandelbaum J. Perivitelline space granularity: a sign of human menopausal gonadotrophin overdose in intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1998; 13: 3425-30
- Kahraman S, Yakin K, Donmez E, Samli H, Bahce M, Cengiz G, Sertyel S, Samli M, Imirzalioglu N. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 2000; 15: 2390-3
- Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Milingos S, Dendrinis S, Michalas S. Oocyte morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 1999; 72: 240-4
- Meriano JS, Alexis J, Visram-Zaver S, Cruz M, Casper RF. Tracking of oocyte dysmorphisms for ICSI patients may prove relevant to the outcome in subsequent patient cycles. *Hum Reprod.* 2001; 16: 2118-23
- Mikkelsen AL, Lindenberg S. Morphology of in-vitro matured oocytes: impact on fertility potential and embryo quality. *Hum Reprod.* 2001; 16: 1714-18
- Murber A, Fancsovits P, Ledo N, Gilan ZT, Rigo J, Jr., Urbancsek J. Impact of GnRH analogues on oocyte/embryo quality and embryo development in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles: a case control study. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009; 7: 103
- Rashidi BH, Sarvi F, Tehrani ES, Zayeri F, Movahedin M, Khanafshar N. The effect of HMG and recombinant human FSH on oocyte quality: a randomized single-blind clinical trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005; 120: 190-4
- Rienzi L, Ubaldi FM, Iacobelli M, Minasi MG, Romano S, Ferrero S, Sapienza F, Baroni E, Litwicka K, Greco E. Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. *Fertil Steril.* 2008; 90: 1692-700
- Serhal PF, Ranieri DM, Kinis A, Marchant S, Davies M, Khadum IM. Oocyte morphology predicts outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1997; 12: 1267-70
- Setti AS, Figueira RC, Braga DP, Colturato SS, Iaconelli Jr. A, Borges Jr. E. Relationship between oocyte abnormal morphology and intracytoplasmic sperm injection outcomes: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011; 159: 364-70
- Ten J, Mendiola J, Vioque J, de Juan J, Bernabeu R. Donor oocyte dysmorphisms and their influence on fertilization and embryo quality. *Reprod Biomed Online.* 2007; 14: 40-8
- Van Blerkom J, Henry G. Oocyte dysmorphism and aneuploidy in meiotically mature human oocytes after ovarian stimulation. *Hum Reprod.* 1992; 7: 379-90
- Xia P. Intracytoplasmic sperm injection: correlation of oocyte grade based on polar body, perivitelline space and cytoplasmic inclusions with fertilization rate and embryo quality. *Hum Reprod.* 1997; 12: 1750-5
- Yakin K, Balaban B, Isiklar A, Urman B. Oocyte dysmorphism is not associated with aneuploidy in the developing embryo. *Fertil Steril.* 2007; 88: 811-6

# Primer embarazo en Panamá y Centroamérica por técnica de Vitrificación Ovocitaria y posterior ICSI

## First pregnancy in Panama and Central America for oocyte vitrification technique and subsequent ICSI

Dr. Camilo Alleyne, Dr. Juan Carlos López, Lic. Miguel Córdoba

### RESUMEN

Las técnicas de reproducción asistida comprenden el congelamiento de embriones, óvulos y espermatozoides. Las tasas de sobrevivida más bajas inicialmente se presentaban en el congelamiento de óvulos. Hoy día las tasas de sobrevivida son mayores y las tasas de embarazo comparables a la de los óvulos frescos. En este artículo reportamos el primer embarazo de óvulos vitrificados publicado en Centro América, y comentamos la literatura actual acerca de esta técnica.

Palabras Clave: vitrificación de ovulos, fertilización in vitro, reproducción asistida.

### RESUMO

As técnicas de reprodução assistida incluem o congelamento de embriões, óvulos e espermatozoides. As menores taxas de sobrevivida foram apresentadas inicialmente quando do congelamento de óvulos. Hoje as taxas de sobrevivência são maiores e as taxas de gravidez comparável à de ovos frescos. Relatamos a primeira gravidez de ovos vitrificados publicados na América Central e discutimos a literatura atual sobre esta técnica.

Palavras-chave: vitrificação de ovócitos, fertilização in vitro, reprodução assistida.

### SUMMARY

Assisted Reproductive Techniques involves embryo , sperm and oocyte freezing. Survival rates were initially lower for oocyte freezing, Today survival rates from cryopreserved oocytes are higher and pregnancy rates are very similar to fresh eggs. We now report the first pregnancy from vitrified eggs published in Central America, and comment actual literature about this technique.

Key words: oocyte vitrification, in vitro fertilization, assisted reproductive techniques.

### INTRODUCCIÓN

La incorporación de la criopreservación de óvulos hacia la práctica de Reproducción Asistida ha sido por mucho tiempo un objetivo en la práctica médica. La criopreservación de oocitos complementa la reproducción asistida, extendiendo su aplicación a la mujer fértil. Puede ser usada para evitar criopreservación de embriones, rescatar ciclos complicados por síndrome de hiperestimulación ovárica o falla para obtener espermatozoides el día de la aspiración folicular, y para evitar problemas de sincronización en ciclos de ovodonación.

Las mujeres fértiles pueden beneficiarse de esta tecnología para retrasar su maternidad ó como una estrategia para preservar fertilidad cuando se enfrentan a un diagnóstico de cáncer y terapias esterilizantes tales como

quimioterapia y radiación o cirugía extirpativa de ovarios. Avances recientes en la reproducción asistida y embriología, incluyendo medios de cultivo, inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), y optimización de crioprotectores , ha hecho la criopreservación de oocitos una realidad viable (Jain et al, 2006).

En este artículo reportamos la transferencia de 2 embriones, producto de oocitos criopreservados, con subsecuente embarazo gemelar.

### REPORTE DE CASO

Se presenta una paciente de 30 años de edad a tratamiento de Inyección intracitoplasmática de espermatozoides por factor masculino. Se realiza estimulación ovárica desde el día 3 del ciclo ovárico con 225 unidades diarias de FSHr. Se utilizó cetrorelix como antagonista de la GnRH desde el 5º día de estimulación utilizando protocolo flexible. El día 12 del ciclo se aplicó HCGr (250 Microgramos ) cuando se observaron al menos 2 folículos de 18 o más milímetros. La aspiración oocitaria se realizó a las 35 horas de la aplicación de HCG siguiendo las técnicas estándar, recuperándose 27 complejos cúmulo oocitos de una cohorte de 29 folículos.

De los 27 oocitos en Metafase II, 10 fueron utilizados para la paciente, y 17 han sido congelados y 6 de estos fueron donados de manera anónima, previa firma de consentimientos de la donante. Los 6 ovocitos fueron posteriormente congelados.

### VITRIFICACIÓN

Los 6 ovocitos Metafase II (maduros) donados se pelaron en hyaluronidasa 10 IU/ml (HYASE, Vitrolife) 2 horas después de la aspiración. Se colocan en una cápsula de G-IVF plus (vitrolife), bajo aceite hasta el momento de la vitrificación.

El proceso de vitrificación se realiza con el método de CECOLFES LTDA, Bogotá Colombia, que es una variante del método conocido como KUWAYAMA.

El proceso comienza con el armado de la placa de vitrificación, que consta de todos los medios involucrados en el proceso y debe estar a 25º Centígrados. La placa debe ser armada colocando una gota de Washing Solution (buffer), seguida de dos gotas de Equilibration Solution (solución con propilenglicol y sacarosa) contiguas de forma tal que permita ir uniendo gota a gota. Se requieren 4 minutos para lograr equilibrar y tratar osmóticamente los ovocitos. Pasados estos 4 minutos, se les coloca en una nueva gota de Equilibration Solution (solución con propilenglicol y sacarosa) por espacio de 10 minutos, aquí el crioprotector reemplaza gradualmente el agua intracelular. Transcurrido este lapso, se les coloca en una gota de

Vitrificación Solution (solución con dimetilsulfoxido), por un tiempo total de 1 minuto, para luego ser colocados dentro de la pajuela, de forma tal que permita la correcta identificación de los ovocitos donados. Luego de ser colocados y puestos con un mínimo volumen, se les coloca inmediatamente en nitrógeno líquido y se les guarda en termos a  $-196$  grados centígrados.

### DESCONGELACIÓN

El proceso se procedió a realizar 35 días después de congelados. El mismo consta de retirar paulatinamente los crioprotectores tales como el dimetilsulfoxido y el etilenglicol en forma gradual para evitar a la célula un shock osmótico, que desorganice los husos meióticos y microtúbulos e inhabilite su funcionalidad (Porcu & Venturoli, 2006). Esto se logra colocando todos los medios a  $25^{\circ}\text{C}$ , salvo el primero denominado Thawing Solution (concentraciones inversas a las anteriores soluciones, como la de equilibrio), el cual estará a  $37^{\circ}\text{C}$  y allí se coloca la pajuela soporte con los ovocitos por espacio máximo de 1 minuto. Pasado este tiempo, se los lleva a una gota de Devitrification Solution (Solución de Devitrificación) por tres minutos más, y de ésta se los pasará secuencialmente a dos gotas más de Washing Solution (solución de lavado). En cada gota permanecen al máximo 5 minutos. Cumplidos estos pasos, los ovocitos ya descongelados serán colocados en una cápsula con gota de G-IVF PLUS bajo aceite por un tiempo de al menos 1 hora.

### PREPARACIÓN ENDOMETRIAL

La Receptora de óvulos es una paciente de 39 años, con antecedente de baja respuesta a la estimulación y tratamientos de FIV fallidos. Se le realizó la preparación endometrial siguiendo desensibilización pituitaria con agonistas de la GnRH. Una vez comprobada la inactividad hormonal endógena, se inicia dosis escalonadas de valeriato de estradiol vía oral hasta alcanzar un endometrio de al menos 10mm. El día de la descongelación la paciente inicia progesterona natural micronizada en gel vaginal e inyectable (Steiner & Paulson, 2006). El mismo día de la descongelación la pareja de la receptora acude a la clínica a la toma de muestra de semen. El espermograma contaba con parámetros anormales en cantidad y morfología (oligoteratozoospermia).

### CULTIVO Y TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

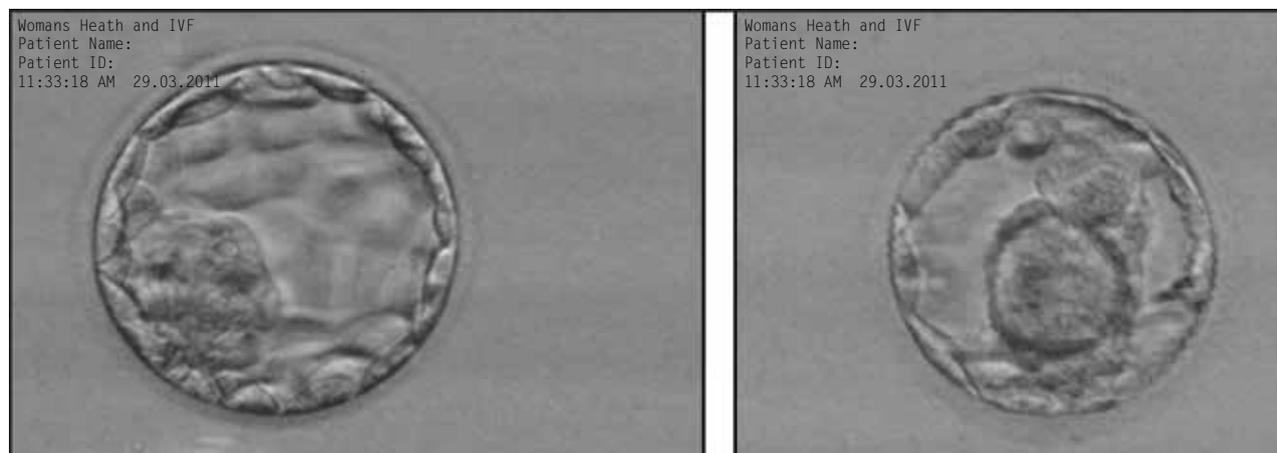
Se realizó inyección de los espermatozoides en los 6 óvulos descongelados con técnica convencional de ICSI. Luego del ICSI, los embriones fueron cultivados en medio secuencial de vitrolife hasta el día 5 de vida (Estadio de

Blastocisto). De los 6 óvulos inyectados, 5 fecundaron, y 2 embriones lograron llegar al estadio de blastocisto. La transferencia se realiza bajo control ecográfico, usando un catéter de Frydman Soft y tomando en cuenta las coordenadas arrojadas por la prueba de transferencia. Se realiza transferencia fácil sin moco ni sangre. La preparación endometrial se realiza con progesterona natural micronizada 8% vaginal e inyectable. Se realiza prueba de embarazo 12 días después de la transferencia, y se verifica embarazo clínico de 2 sacos in utero con 2 embriones con frecuencia cardíaca positiva.

### DISCUSIÓN

Durante la vitrificación, los crioprotectores permeabilizantes son agregados a altas concentraciones, mientras que la célula está a temperatura ambiente. Debido a que la toxicidad de esta alta concentración de permeabilizantes crioprotectores es sustancial, los oocitos no pueden mantenerse a esta temperatura por mucho tiempo. Solo se permite un corto tiempo para equilibrarse, luego del cual los oocitos son colocados directamente hacia nitrógeno líquido. Para mayor protección contra los cristales de hielo, se utiliza una tasa de enfriamiento muy rápida. (Park et al, 2000).

El primer embarazo humano luego de criopreservación de oocitos fue reportado por Chen en 1986 (usando una técnica de descongelamiento lento con DMSO). Este investigador reportó muy buena tasa de sobrevida y tasa de fertilización de 80% y 83% respectivamente, en una muestra de 40 oocitos. Sobre la década subsecuente, los investigadores intentaron conseguir tasas de sobrevida y fertilización comparables, y muy bajas tasas de nacidos vivos. El progreso fue lento, parcialmente debido a la dificultad con la fertilización de óvulos descongelados durante la era pre-ICSI. En 1999, Kuleshova et al (1999) reportaron el primer nacido vivo de oocitos humanos vitrificados de 17 oocitos usando ethylene glicol al 40% y 0.6 ml de sucrosa en pajuelas abiertas. La primera serie grande de oocitos humanos vitrificados fue publicada por Yoon et al en 2003. Criopreservaron 474 complejos cumulo-oocito usando vitrificación. Reportaron una tasa de sobrevida de 68.7%, una tasa de fertilización de 71.7% y una implantación de 6.4% y embarazo clínico de 6.4%, y nacido vivo por transferencia embrionaria de 21.4%. Chian et al (2005) usaron una combinación de ethylene glicol, PROH y sucrosa para vitrificar 180 oocitos en un contenedor abierto llamado cryoleaf. Reportaron una tasa de sobrevida de 93.9%, una tasa de fertilización de 74.6%, una tasa de implantación de 20.4% y una tasa de embarazo clínico de 7/15 (46.7%).



**Figura 1.** IVF Embriones transferidos.

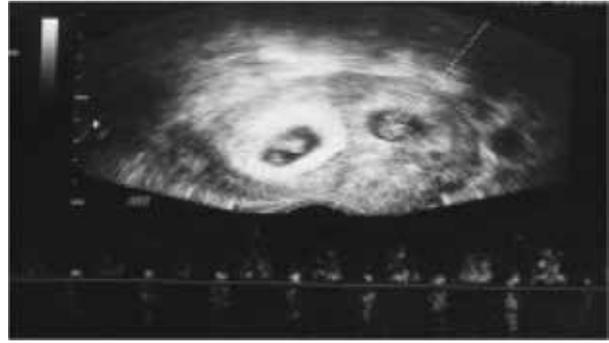
Kawayama *et al* (2005) reportaron su experiencia con criopreservación de oocitos por el método cryotop usando una combinación de ethylene glicol y sucrosa como crioprotectores. De 64 oocitos vitrificados, 90.8% sobrevivieron y 89.6% fertilizaron, llevando una tasa de embarazo de 41.4% por transferencia embrionaria y una tasa de nacidos vivos de 34.5%.

Lucena *et al* (2006) también usaron el método de Cryotop para la vitrificación oocitaria y reportaron tasas de embarazo de 56.5% por paciente (13/23). Estas altas tasas de embarazo pueden ser atribuidas parcialmente al hecho de que la mayoría de las transferencias usaron oocitos de donante e involucraban un alto número de embriones transferidos (promedio de 4.5).

Cobo & Díaz, 2011 en un metaanálisis reciente, se incluyeron cinco estudios. Involucraron 4282 oocitos vitrificados, 3524 oocitos frescos y 361 oocitos criopreservados con congelamiento lento, entre 2005 y 2009. Las tasas de embarazo en curso, embriones grado I, clivaje y fertilización no fue diferente entre los oocitos frescos y vitrificados. La supervivencia de los oocitos fue mayor en los vitrificados vs congelamiento lento (o.r 2.46, 95% ci 1.82- 3.32), aunque había heterogeneidad entre los estudios. La tasa de fertilización fue mayor en los oocitos vitrificados vs congelamiento lento (o.r 1.50, 95% ci 1.07- 2.11). La vitrificación además resultó en una mayor cantidad de embriones grado I (22.4% vs 8.0 %, 0.4 3.32, 95% ci 1.37-8.02) y tasa de clivaje embrionaria superior, comparada con el congelamiento lento.

En este artículo reportamos el primer caso de embarazo con óvulos vitrificados en Centro América. El desarrollo de esta técnica ofrecerá una oportunidad a las mujeres que se someterán a quimioterapia que afecte su fertilidad, pacientes en riesgo de falla ovárica prematura, previo a cirugía por condiciones ginecológicas benignas, pacientes que se someten a fertilización *in vitro* con exceso de óvulos y que no desean congelar embriones, falla no anticipada para obtener espermatozoides el día de la captación oocitaria, y para facilitar los servicios de donación de óvulos.

Sin duda alguna la vitrificación oocitaria es una herramienta que llegó para facilitar el trabajo de los laboratorios de reproducción asistida.



**Figura 2.** Embarazo clínico gemelar *in utero*.

## REFERÊNCIAS:

- Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet* 1986; 1: 884-6.
- Chian RC, *et al*. High survival rates and pregnancies of human oocytes following vitrification: *Fertil Steril* 2005; 84.
- Cobo A, Díaz C. Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril* 2011, 96: 277-85.
- Jain J, Paulson R. Oocyte cryopreservation. *Fertil Steril* 2006; 86 (suppl 3): 1037-46.
- Kuleshova L, Gianaroli L, Magli C, Ferraretti H, Trounson A. Birth following vitrification of a small number of human oocytes: case report. *Hum Reprod* 1999; 14: 3077-9.
- Kuwayama M, Vajita G, Kato O, Leibo Sp. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online* 2005; 11: 300-8.
- Lucena E, Bernal DP, Lucena C, Rojas A, Moran A, Lucena X. Successful ongoing pregnancies after vitrification of oocytes. *Fertil Steril* 2006; 85: 108- 11.
- Park Sp, Kim EY, Oh JH, Nan HK, Leeks, Parks Y *et al*. Ultra-rapid freezing of human multipronuclear zygotes using electron microscope grids. *Hum Reprod* 2000; 15: 1787-90.
- Porcu E, Venturoli S. Progress with oocyte cryopreservation. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2006, 18: 273-9.
- Steiner A, Paulson R. Oocyte Donation. *Clin Obstet Gyn* 2006; 49: 44-54.

22 a 25 de Agosto de 2012 - Sofitel Jequitimar – Guarujá - SP



CURSOS PRÉ CONGRESSO	
22 de Agosto – quarta-feira	
Sala 1	
Oncofertilidade – Coordenação: Carlos Gilberto Almodin	
Sala 2	
O que o especialista em Reprodução Assistida deve saber sobre Ultrassonografia Ginecológica - Coordenação: Wagner Busato	
Sala 3	
MANHÃ	
Andrologia aplicada a Medicina Reprodutiva	
O que precisamos saber em 2012: Coordenação: Edson Borges Jr.	
TARDE	
O que o especialista deve saber: Produção Científica	
Coordenação: José Gonçalves Franco Jr., Maria do Carmo Borges de Souza e Paulo Taitson	
Sala 4	
Biópsia de Blastocisto - Coordenador: Alan Trounson e Maria Cristina Biazotti	
CONGRESSO	
23 de Agosto – quinta-feira	
Auditório A	Auditório B
08:00 - 09:30 <b>Mesa Redonda: Endométrio</b> Coordenador: Artur Dzik	08:00 - 10:00 <b>PRONÚCLEO</b>
08:00 - 08:20 <b>Endométrio este desconhecido</b> Rosaly Rulli	08:00 - 10:00 <b>MESA REDONDA: CRIOPRESERVAÇÃO</b> Coordenador: Ricardo Azambuja
08:20 - 08:40 <b>Preparo endometrial - Ciclo a fresco e ciclo congelado</b> Jairo Garcia	08:00 - 08:30 <b>Melhor conduta para embriões biopsiados</b> Maria Cecilia Cardoso
08:40 - 09:00 <b>Como eu manuseio o endometrial falha de implantação</b> Selmo Geber	08:30 - 09:00 <b>Ovócito à Blastocisto, qual a melhor técnica?</b> Vania Minguetti
09:00 - 09:30 <b>Debate e Conclusão</b>	09:00 - 09:45 <b>Atualização em Vitrificação: onde estamos hoje?</b> Juergen Liebermann
	09:45 - 10:00 <b>Debate</b>

Auditório A	
09:30 - 10:00	<b>Painel</b> <b>Como eu faço Indução da ovulação</b> Coordenador: José Gonçalves Franco Jr Debatedores: João Pedro Junqueira, Nelson Antunes Jr., Silvana Chedid
	<b>LH é importante?</b> Bela Zausner
	<b>Quando cancelar a indução?</b> Luiz Fernando Dale
	<b>Como usar antagonista?</b> Ricardo Luiz R. Baruffi
	<b>Existe espaço para agonista?</b> Selmo Geber
10:00 - 10:30	Coffee break
10:30 - 11:00	<b>Conferência</b> <b>Indução de ovulação</b> Presidente: Maria do Carmo Borges de Souza Conferencista: Jairo Garcia
11:00 - 12:30	<b>Simpósio Satélite Merk Serono</b>
12:30 - 14:00	Almoço
14:00 - 15:30	<b>Simpósio Satélite MSD</b>
15:30 - 16:10	<b>Conferência</b> <b>Preservação da fertilidade e abordagem clínica da oncofertilidade</b> Presidente: Marcelo Rocha Conferencista: Clarisa Gracia Debatedores: Mario Cavagna e José Gonçalves Franco Jr.

Auditório B	
10:00 - 10:30	Coffee break
10:30 - 12:30	<b>MESA REDONDA: DIAGNÓSTICO PRÉ-IMPLANTACIONAL</b> Coordenador: José Roberto Alegretti
10:30 - 11:00	<b>BIÓPSIA D3 x D5</b> Françoise Elia Mizrahi
11:00 - 11:30	<b>CGH array X FISH</b> Paulo Perin
11:30 - 12:00	<b>MELHOR DIA PARA TRANSFERÊNCIA</b> Joyce Fioravanti
12:00 - 12:30	<b>DISCUSSÃO</b>
12:30 - 14:00	Almoço
14:00 - 16:00	<b>MESA REDONDA: CULTIVO EMBRIONÁRIO</b> Coordenador: Raquel Alvarenga
14:00 - 14:30	<b>IVM</b> Adriana Bos Mickichi
14:30 - 15:00	<b>Marcadores Embrionários: onde estamos?</b> Edson Guimarães Lo Turco
15:00 - 15:45	<b>Cultura de embriões: meios de melhorar formação do blastocisto que resultam em melhor evolução</b> Juergen Liebermann
15:45 - 16:00	<b>DISCUSSÃO</b>
16:00 - 16:30	<b>MESA REDONDA: AVALIAÇÃO TIME-LAPSE</b> Coordenador: Claudia Petersen
16:00 - 16:20	<b>Experiência Européia</b> Buenaventura Corleu

Auditório A	Auditório B	Auditório A	Auditório B
16:10 - 17:10 <b>Temas Livres 1</b> Coordenador: Adeline Amaral Silva Debatedores: Paulo Franco Taitson e Maria do Carmo Borges de Souza	16:20 - 16:50 <b>Experiência Brasileira</b> Raquel Cossliello	14:10 - 15:40 <b>Painel</b> <b>CONDUTAS EM REPRODUÇÃO ASSISTIDA</b> Coordenador: Carlos Roberto Izzo Debatedores: Pedro Augusto A. Montealeone e Gilberto Costa Freitas	09:00 - 18:00 <b>Consenso de Psicologia em Reprodução Humana (Sala 1)</b> Presidente: Coordenador: Katia M. Straube e Rose Melamed
17:10 - 17:30 <b>Coffee break</b>	16:50 - 17:10 <b>DISCUSSÃO</b> 17:10 - 17:30 <b>Coffee break</b>	14:10 - 14:30 <b>Idade e Tratamentos de Reprodução Assistida</b> Buenaventura Coroleu	
17:30 - 19:00 <b>Mesa Redonda Endometriose e infertilidade</b> Coordenador: Assumpto Iaconelli Jr.	17:30 - 18:30 <b>ASSEMBLÉIA PRONUCLEO</b>	14:30 - 14:50 <b>Realidade da IVM</b> Nilo Frantz	
17:30 - 17:50 <b>Avançamos na fisiopatologia da endometriose? Genético?Imunológico?</b> Eduardo Pandolfi Passos		14:50 - 15:10 <b>Manejo das pacientes portadoras de HIV e Hepatites em RHA</b> Waldemar Carvalho	
17:50 - 18:10 <b>Quando indicar videolaparoscopia</b> Carlos Alberto Petta		15:10 - 15:40 <b>Debate</b>	
18:10 - 18:30 <b>Otimização no tratamento de RA em pacientes com endometriose</b> Buenaventura Coroleu		15:40 - 16:10 <b>Conferência SBRA e Pro Núcleo</b> <b>Controle de qualidade de laboratório e embriões</b> Presidente: Claudia Petersen Conferencista: Juergen LiebermanN Debatedores: Raquel Alvarenga e Rita de Cássia Sávio Figueira	
18:30 - 19:00 <b>Discussão</b> 19:00 <b>Sessão Solene de Abertura</b>		16:10 - 16:30 <b>Coffee break</b>	

### 24 de Agosto – sexta-feira

Auditório A	Auditório B
08:00 - 09:30 <b>Mesa Redonda Andrologia</b> Coordenador: Lídio Centa Jr.	08:00 - 09:00 <b>Temas Livres 2</b> Coordenador: Luiz Fernando Dale Debatedores: George Hamilton Caldas e Luiz Augusto Batista
08:00 - 08:20 <b>Estilo de Vida: a fertilidade do homem pode ser realmente melhorada?</b> Paulo Franco Taitson	09:00 - 09:30 <b>Palestra</b> <b>Decisões clínicas sobre alterações endometriais ultra-sonográficas</b> Presidente: Maria do Carmo Borges de Souza José Gonçalves Franco Jr.
08:20 - 08:40 <b>Investigação Laboratorial Masculina: o que muda para os tratamentos de ICSI</b> Fábio Firmbach Pasqualotto	09:30 - 10:10 <b>Conferência</b> <b>Pesquisa da Reserva Ovariana</b> Presidente: Adeline Amaral Silva Conferencista: Buenaventura Coroleu Comentadores: Marcelo Pereira Valle e Roberto Antunes
08:40 - 09:00 <b>Existe diferença nos bebês nascidos de ICSI?</b> Edson Borges Jr.	10:10 - 10:30 <b>Coffee break</b>
09:00 - 09:30 <b>Debate</b>	10:30 - 12:00 <b>Mesa Redonda</b> <b>Para onde estamos caminhando?</b> Coordenador: Paulo Serafini
09:30 - 10:10 <b>Painel</b> <b>Como eu faço Suplementação Lútea</b> Coordenador: Antonio Cesar Barbosa Debatedores: Kazue Harada Ribeiro, Joaquim Roberto Costa Lopes, Lister Salgueiro	10:20 - 10:50 <b>Laboratório</b> Juergen Liebermann
<b>Até quando?</b> Rui Alberto Ferriani	10:50 - 11:10 <b>Transferência de Embrião Único (SET)</b> Buenaventura Coroleu
<b>Quando associar estradiol</b> Luiz Eduardo Albuquerque	11:10 - 11:30 <b>A próxima geração da criopreservação – Liofilização de embriões</b> Pasquale Patrizio
<b>Quando usar anticoagulante?</b> Eduardo Leme Motta	11:30 - 12:00 <b>Discussão</b>
<b>Há espaço para hCG?</b> Álvaro Petracco	12:00 - 13:30 <b>Almoço</b>
10:10 - 10:30 <b>Coffee break</b>	13:30 - 14:30 <b>Temas Livres 3</b> Coordenador: Carlos Gilberto Almodin Debatedores: Vinicius Medina Lopes e Eduardo Pandolfi Passos
10:30 - 11:10 <b>Conferência</b> <b>Céulas tronco em Reprodução Humana</b> Presidente: Rui Alberto Ferriani Conferencista: Alan Trounson Debatedores: Lygia da Veiga Pereira e Marcos Sampaio	14:30 - 16:00 <b>Mesa Redonda</b> <b>Validação de processos e procedimentos em clínica de Reprodução</b> Coordenador: Alvaro Ceschin
11:10 - 12:00 <b>Sessão Interativa</b> <b>Avaliação da pré Fertilização in vitro</b> Coordenador: Newton Eduardo Busso Debatedores: Elvio Tognotti, Jonathas Borges Soares, Leopoldo de Oliveira Tso e Antonio Helio Olliani	14:30 - 14:50 <b>Validação de Processos. E agora?</b> Patrícia Tavares
<b>Temas</b> Sorologia do Casal Cavidade Uterina Reserva Ovariana Sêmen	14:50 - 15:10 <b>Gestão da Qualidade: garantindo a segurança do paciente</b> Maressa Ribeiro
12:00 - 13:30 <b>Almoço</b>	15:10 - 15:30 <b>Como a Anvisa avalia validação nos BCTG</b> Marina Ferreira Gonçalves
13:30 - 14:10 <b>Conferência</b> <b>Metabolomas</b> Presidente: Bela Zausner Conferencista: Pasquale Patrizio Comentadores: Cristiano Eduardo Busso e Nilka Donadio	15:30 - 16:00 <b>Debate</b>
	16:10 - 16:30 <b>Coffee break</b>
	16:30 - 18:00 <b>Simposio Satélite Ferring</b>

Auditório A	Auditório B
16:10 - 16:30 <b>Coffee break</b>	16:30 - 18:00 <b>Mesa Redonda</b> <b>Desafios do direito da medicina reprodutiva</b> Presidente: Carlos Fonseca Monnerat Coordenador: Deborah Ciocci
16:30 - 18:00 <b>Mesa Redonda</b> <b>Desafios do direito da medicina reprodutiva</b> Presidente: Carlos Fonseca Monnerat Coordenador: Deborah Ciocci	16:30 - 16:50 <b>Responsabilidade civil e penal dos serviços de RHA</b> Ericson Gavazza Marques
16:50 - 17:10 <b>Limites e legalidades na doação de gametas</b> José Rogério Cruz e Tucci	16:50 - 17:10 <b>Limites e legalidades na doação de gametas</b> José Rogério Cruz e Tucci
17:10 - 17:30 <b>RHA em situações especiais: concepção pós-mortem, útero de substituição, sexagem, etc.</b> Deborah Ciocci	17:10 - 17:30 <b>RHA em situações especiais: concepção pós-mortem, útero de substituição, sexagem, etc.</b> Deborah Ciocci
17:30 - 18:00 <b>Debate</b>	17:30 - 18:00 <b>Debate</b>
18:00 - 19:00 <b>Assembléia SBRA (em outra sala)</b>	18:00 - 19:00 <b>Assembléia SBRA (em outra sala)</b>
21:00 <b>Jantar de confraternização</b>	21:00 <b>Jantar de confraternização</b>

### 25 de Agosto – sábado

Auditório A	Auditório B
09:00 - 09:40 <b>Conferência</b> <b>Fatos e Mitos em RH</b> Presidente: Carlos Gilberto Almodin Conferencista: Jairo Garcia Debatedores: Dirceu Mendes Pereira e Jonathas Borges Soares	09:00 - 12:00 <b>Mesa Redonda</b> <b>ENFERMAGEM EM REPRODUÇÃO ASSISTIDA</b> Coordenação: Andréa Carolina M Magalhães e Amanda Torres R. Marçal
09:40 - 10:40 <b>Temas livres 4</b> Coordenador: Selmo Geber Debatedores: Edilberto Araujo Filho e Bruno Ramalho de Carvalho	09:00 - 09:20 <b>Atribuições Gerais da Equipe de Enfermagem em Reprodução Assistida</b> Yácará Ribeiro Pereira
10:40 - 11:00 <b>Coffee Break</b>	09:20 - 09:40 <b>Descrição dos procedimentos cirúrgicos e assistência de enfermagem</b> Claudia Velloso
11:00 - 12:30 <b>PAINEL</b> <b>Desafios em Reprodução Humana</b> Presidente: Condesmar Marcondes de Oliveira Filho Coordenador: Hitomi Miura Nakagava	09:40 - 10:00 <b>Prevenção e Controle da Síndrome do Hiperestímulo Ovariano</b> Giselle Soares Dias
11:00 - 11:15 <b>Alan Trounson</b>	10:00 - 10:20 <b>Discussão</b>
11:15 - 11:30 <b>Pasquale Patrizio</b>	10:40 - 11:00 <b>Coffee Break</b>
11:30 - 11:45 <b>Bela Zausner</b>	11:00 - 11:20 <b>Suporte de Enfermagem ao Casal após o insucesso no tratamento</b> Junia Renata Araujo
11:45 - 12:00 <b>Jairo Garcia</b>	11:20 - 11:40 <b>Orientações para pacientes que fazem parte do Programa de Ovodoação</b> Sandra Cavichiolo
12:00 - 12:30 <b>Discussão</b>	11:40 - 12:00 <b>Discussão</b>
	12:30 - 13:30 <b>Premiação dos melhores trabalhos e Encerramento.</b>

Realização:



Organização:



Apoio:



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

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

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

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

**21 a 24 de abril**

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

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

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

**23 a 25 de maio**

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

**24 a 26 de maio**

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

**30 de maio a 01 de junho**

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

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

XXXVI Congresso de Ginecologia e Obstetrícia do Rio de Janeiro  
Local: Centro de Convenções Sulamérica - Av. Paulo de Frontin, 1 - Cidade Nova - RJ  
Realização: SGORJ  
sgorj@sgorj.org.br

**13 a 16 de junho**

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

**27 a 29 de junho**

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

**28 a 30 de junho**

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

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

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

**18 a 21 de julho**

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

**26 a 28 de julho**

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

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

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

**22 a 25 de agosto**

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

**SETEMBRO****14 a 17 de setembro**

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

**OUTUBRO****7 a 12 de outubro**

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

**10 a 14 de outubro**

XIV Simpósio Brasileiro de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia e V COLPOVIX  
Local: Centro de Convenções de Vitória - ES  
Realização: SOGOES  
http://www.sogoes.com.br

**26 a 26 de outubro**

84th Congress of the SIU - Rome - Italy  
E-mail: info@siu.it  
Website: www.siu.it

**25 a 27 de outubro**

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

**28 a 31 de outubro**

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

## Menopur® (menotropina - LH 75 U.I. + FSH 75 U.I.).

**USO ADULTO. INDICAÇÕES Mulheres:** Esterilidade com insuficiência ovariana hipo – ou normogonadotrófica: estimulação do crescimento folicular, incluindo mulheres com síndrome de ovário policístico que não responderam ao tratamento com citrato de clomifeno. **Homens:** Esterilidade com hipogonadismo hipo – ou normogonadotrófico: em combinação com HCG, para estimular a espermatogênese. **CONTRAINDICAÇÕES Em Mulheres:** tumores na glândula pituitária ou no hipotálamo e no útero, ovários e mamas; gravidez e lactação; sangramento ginecológico de etiologia desconhecida; hipersensibilidade aos componentes da fórmula. aumento dos ovários ou cistos que não tenham sido causados por síndrome de ovário policístico; níveis altos de LH e FSH indicando uma insuficiência ovariana primária. Menopur® não deve ser administrado nos casos de: falência primária ovariana; má-formação de órgãos sexuais incompatíveis com a gravidez; tumor fibroide do útero incompatível com a gravidez. **Em Homens:** câncer de próstata; tumores no testículo. As seguintes condições devem ser tratadas antes do início da terapia: disfunções da glândula tireoide e do córtex da glândula supra-renal; hiperprolactinemia; tumores na glândula pituitária ou no diencéfalo (hipotálamo). **CUIDADOS E ADVERTÊNCIAS** Não deve ser utilizado para induzir a ovulação em mulheres cujos ovários foram involuntariamente hiperestimulados. A terapia requer monitorização da resposta ovariana verificada apenas pela ultrassonografia ou em combinação com a mensuração do nível de estradiol sanguíneo. Alguns pacientes podem apresentar baixa resposta. Pacientes que estão sob estímulo do crescimento folicular para técnicas de reprodução assistida podem apresentar aumento ovariano ou desenvolver hiperestimulação. **Uso em idosos e crianças** Menopur® é um medicamento de uso adulto. **Gravidez e Lactação** Menopur® não deve ser utilizado por mulheres grávidas ou lactentes. **INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS** O uso concomitante de Menopur® com o citrato de clomifeno pode aumentar a resposta folicular. Quando for utilizado um agonista de GnRH, uma dose mais alta de Menopur® deve ser necessária para atingir uma resposta folicular adequada. **REAÇÕES ADVERSAS** dores abdominais, náusea, aumento do abdômen, dor e reação no local da injeção, cefaleia, hiperestimulação dos ovários, dor pélvica, febre, ascite, hidrotórax, oligúria, hipotensão e fenômenos tromboembólicos. Em casos muito raros, pode causar a formação de anticorpos tornando o tratamento ineficaz. **POSOLOGIA** Para indução do crescimento folicular em procedimentos de baixa complexidade (coito programado e inseminação intrauterina) em mulheres normo ou hipogonadotróficas a dose depende da reação ovariana, a qual deve ser definida através de exames ultrassonográficos dos ovários e mensuração dos níveis de estradiol. Se a dosagem de Menopur® for muito alta, podem ocorrer crescimentos foliculares uni e bilaterais múltiplos. Em geral, a terapia é iniciada dentro dos 7 primeiros dias do ciclo menstrual com uma dosagem inicial diária correspondente a 75 - 150 U.I. de FSH. Se os ovários não respondem, a dosagem pode ser gradativamente aumentada até surgirem evidências de aumento da secreção de estradiol e de crescimento folicular. O ajuste na dose não deve ser feito em frequência maior que 7 dias. O tratamento com a mesma dosagem de Menopur® é continuado até atingir-se um nível sérico de estradiol pré-ovulatório. Se o nível aumentar muito rapidamente, a dosagem deve ser reduzida. A dose máxima diária não deve ultrapassar 225 U.I. Caso a paciente não responda após 4 semanas de tratamento, o tratamento deve ser reiniciado com uma dosagem inicial maior do que a do ciclo anterior. Para induzir a ovulação, após uma resposta ótima do tratamento com Menopur®, utiliza-se 5.000 ou 10.000 U.I. de HCG injetado por via intramuscular, 1 dia após a última administração de Menopur®. **Importante:** recomenda-se que a paciente tenha relação sexual no dia e no dia seguinte da administração do HCG. Como alternativa, a inseminação intrauterina pode ser realizada. **OBSERVAÇÃO:** Após a administração de uma dose muito alta de Menopur®, a administração subsequente de HCG pode causar uma hiperestimulação involuntária dos ovários. Neste caso, o tratamento deve ser interrompido tanto com Menopur® ou com HCG e a paciente deverá utilizar um método anticoncepcional ou evitar relações sexuais até o início da próxima menstruação. A dosagem de Menopur® em programas de fertilização assistida (FIV/ICSI) pode variar de pessoa para pessoa. De um modo geral recomendam-se os seguintes esquemas posológicos: Quando for utilizado agonista de GnRH em depósito, a terapia com Menopur® deve ser iniciada aproximadamente 2 semanas após o início do tratamento com o agonista. A dose inicial recomendada de Menopur® é 150 – 225 U.I. por, pelo menos, 5 dias iniciais do tratamento. Baseado na monitorização clínica (ultrassonografia do ovário em combinação ou não com a mensuração do nível de estradiol sanguíneo) as doses subsequentes devem ser ajustadas de acordo com a resposta individual e não devem exceder a quantidade de 150 U.I. por ajuste. A dosagem máxima diária não deve exceder 450 U.I. por dia e na maioria dos casos não é recomendada a utilização acima de 20 dias. Caso não seja utilizado o agonista de GnRH, a terapia com Menopur® deve ser iniciada no 2º ou 3º dia do ciclo menstrual. É recomendada a utilização de esquemas de variação de doses acima citadas. Quando um número adequado de folículos atingir um tamanho apropriado, uma única injeção de 10.000 U.I. de HCG deve ser administrada para induzir a maturação folicular final, na preparação da aspiração de oócitos. As pacientes devem ser cuidadosamente monitoradas por, pelo menos, 2 semanas após a administração de HCG. Caso seja obtida uma resposta em excesso de Menopur®, deve-se interromper o tratamento e descontinuar o uso de HCG e as pacientes devem utilizar um método contraceptivo de barreira (por exemplo: camisinha) ou evitar relações sexuais até iniciar-se a próxima menstruação. **No Homem:** Inicialmente, 1.000 – 3.000 U.I. de HCG são administrados 3 vezes por semana, até atingir-se um nível sérico de testosterona normal. Então, 75 - 150 U.I. de Menopur® são administradas 3 vezes por semana, por alguns meses e de acordo com o critério médico. Orientar a/o paciente quanto ao protocolo de uso, para que não haja comprometimento do sucesso terapêutico. **Venda sob prescrição médica.** Material de uso exclusivo à classe médica. A persistirem os sintomas, o médico deverá ser consultado. Reg. MS: 1.2876.0011 Farm. Resp.: Helena Satie Komatsu - CRF/SP: 19.714 - Laboratórios Ferring Ltda. Praça São Marcos, 624 - 05455-050 - São Paulo – SP / CNPJ: 74.232.034/0001-48 / SAC: 0800 772 4656.

**Contraindicação:** Para mulheres com tumores no útero, nos ovários e nas mamas. **Interações medicamentosas:** O uso concomitante com o citrato de clomifeno pode aumentar a resposta folicular.

**Referências:** **1** Ziebe, S. *et al.* Influence of ovarian stimulation with HP-hMG or recombinant FSH on embryo quality parameters in patient undergoing IVF. Human Reproduction, 22(9): 2404-2413, 2007. **2** Weghofer, A. the impact of LH-containing gonadotropin on diploidy rates in preimplantation embryos: long protocol stimulation. Human Reproduction, 23(3): 499-503, 2008. **3** Al-Inany HG, *et al.* Efficacy and safety of human menopausal gonadotrophins versus recombinant FSH: a meta-analysis. Reprod Biomed OnLine. 16:81-88, 2008. **4** Coomarasamy, A. Urinary hMG versus recombinant FSH for controlled ovarian hyperstimulation following an agonist long down-regulation protocol in IVF or ICSI treatment: a systematic review and meta-analysis. Human Reproduction, 23(2): 310-315, 2008. **5** Wely, V. *et al.* Recombinant versus urinary gonadotrophin for ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles. Cochrane Database Syst Rev. 16(2):CD005354. Review, 2011. **6** Al-Inany HG. *et al.* Highly purified hMG achieves better pregnancy rates in IVF cycles but not ICSI cycles compared with recombinant FSH: a meta-analysis. Gynecol Endocrinol. 25(6):372-8, 2009. **7** Platteau P. *et al.* Highly purified HMG versus recombinant FSH for ovarian stimulation in IVF cycles. Reprod Biomed Online 17(2):190-8, 2008. **8** Andersen, AN. *et al.* Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF: a randomized assessor-blind controlled trial. Human Reproduction, 21(12): 3217-3227, 2006. **9** Bosch, E. *et al.* Highly purified hMG versus recombinant FSH in ovarian hyperstimulation with GnRH antagonists - a randomized study. Human Reproduction, 23(10): 2346-2351, 2008. **10** Jee BC. *et al.* Clinical efficacy of highly purified hMG versus recombinant FSH in IVF/ICSI cycles: a meta-analysis. Gynecol Obstet Invest., 70(2):132-7, 2010.



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



# CONTRIBUINDO PARA MELHORES RESULTADOS<sup>1-7</sup>



## O TRATAMENTO COM MENOPUR® PROMOVE:

-  Maior proporção de embriões de alta qualidade quando comparado ao rFSH<sup>1,2</sup>
-  Menores níveis de progesterona ao final da estimulação vs. rFSH, o que pode resultar em melhor receptividade endometrial para a implantação do embrião<sup>8,9</sup>
-  Taxas de gravidez em curso e de nascidos vivos significativamente maiores comparado com rFSH<sup>3-7,10</sup>



 FALEFERRING  
0800 772 4656

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

**FERRING**  
PHARMACEUTICALS