

Volume 16  
Number 3  
May-Jun 2012  
ISSN 1517-5693

# JBRA

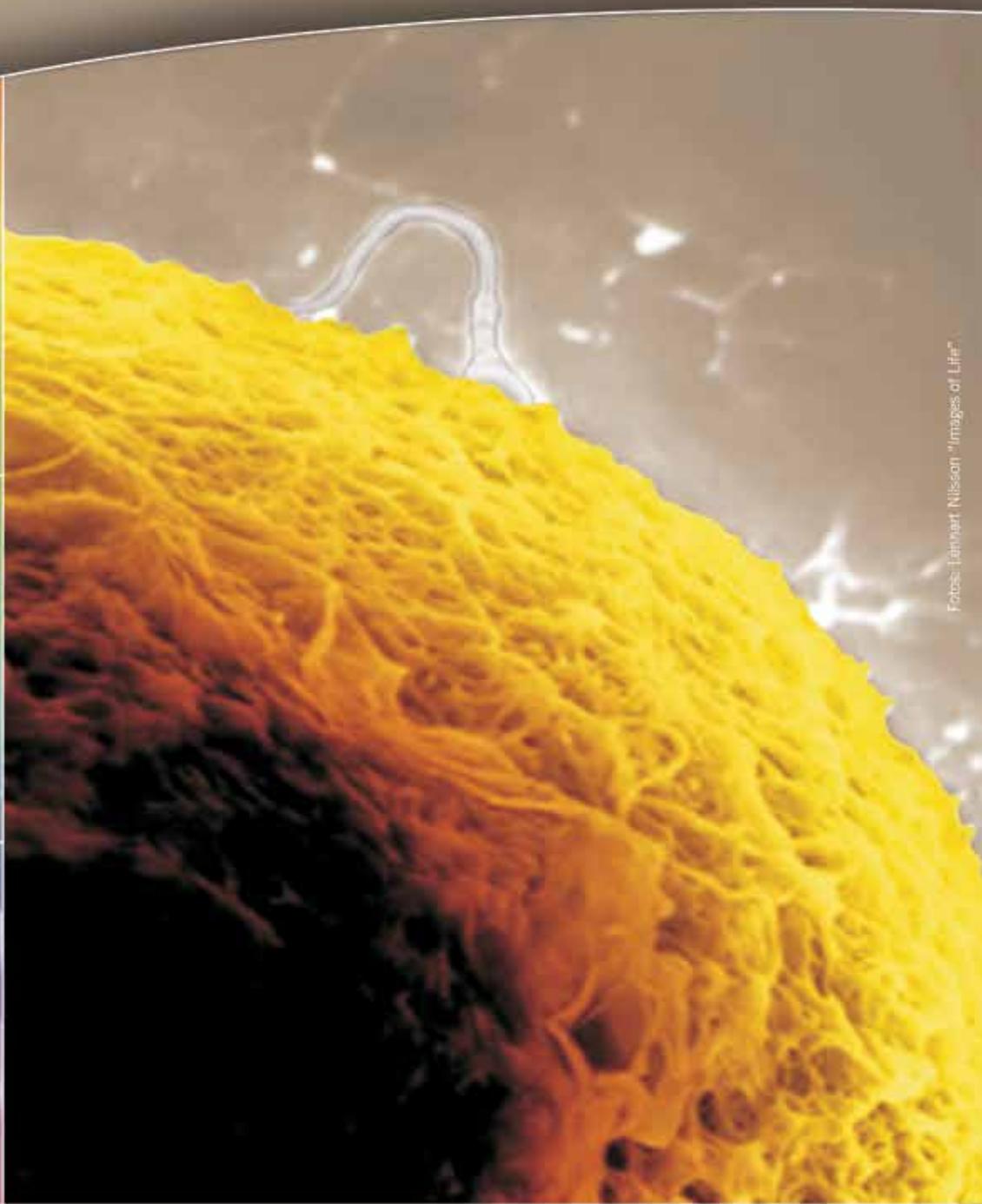
## Assisted Reproduction



JORNAL BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA



Resumo de Atualização em  
Reprodução Assistida



*Veja a  
obra de arte  
que fizemos  
juntos.*



*Fertilidade.*

*Você. Nós. Somos os pais da fertilidade*

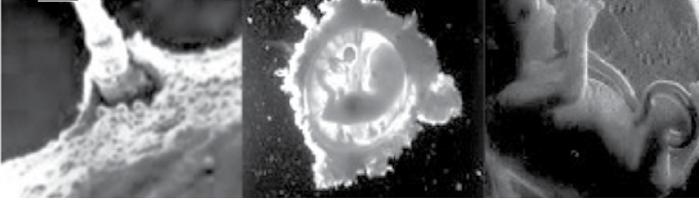
**MerckSerono**

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 | nº3 | May-Jun / 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**



**ALAMTEC**

Ciência Médica Editorial

**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

**Novo e-mail:** jbraassistedreproduction@gmail.com

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

www.alamtec.com.br

## CORPO EDITORIAL – EDITORIAL BOARD

### Editor – Editor

Maria do Carmo Borges de Souza (FERTIPRAXIS/  
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 Allemmand Mancebo (FERTIPRAXIS 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 María Romeo-Casabona (Universidade de  
Deusto e do País Basco Espanha)

Cesar Cafatti (Clin Los Dominicos Chile)

Claudia Borrero (Conceptum Colombia)

Claudia G Petersen (CRH SP Brasil)

Cláudio Chillik (CEGYR Argentina)

Condesmar Marcondes Filho (Nucl Santista  
RH SP Brasil)

David Vantman (CER Chile)

Dirceu H Mendes Pereira (Profert SP Brasil)

Eduardo Pandolfi Passos (SEGIR / UFRGS RS Brasil)

Ernesto Gallardo Lozano (IMER México)

Fabio Firmbach Pasqualotto (Conception /  
UCS RS Brasil)

Fernando Zegers-Hochschild (Clin Las Condes Chile)

Francisco Risquez (Clin La Trinidad Venezuela)

Francisco J.B. Sampaio (UERJ Brasil)

Humberto Ikuo Shibasaki (UFMT Brasil)

Jorge Blaquier (Fertilab Argentina)

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

Joaquim Roberto C Lopes (Cenafert BA Brasil)

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

Juan Manuel Montoya (Conceptum Colombia)

Ivan Valencia Madera (CEMEFES Equador)

Karen Sermon (VUB Bélgica)

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

Leticia Urdapilleta (Cegyr Argentina)

Lídio Jair Ribas Centa (Androlab/ UFPR Brasil)

Luiz Fernando Dale (C Medicina RJ Brasil)

Madalena Caldas (GERAR PE Brasil)

Marcos Sampaio (Origen MG Brasil)

Mariângela Badalotti (Fertilitat PUC RS Brasil)

Marilena Correa (IMS-UERJ Brasil)

Mario Cavagna (H Perola B/ CRH SP Brasil)

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

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

Paulo Serafini (Huntington/ USP SP Brasil)

Ricardo Melo Marinho (FCMMG MG Brasil)

Roberta Wonchockier (Projeto Alfa SP Brasil)

Roberto Coco (Fecunditas Argentina)

Rose Marie M Melamed (Fertility SP Brasil)

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

Silvana Chedid Chedid-Grieco (SP Brasil)

Sergio Reis Soares (IVI Lisboa Portugal)

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

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

**Novo e-mail:** jbraassistedreproduction@gmail.com**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>

## Congresso da SBRA

É com enorme satisfação que recebemos a todos na Baixada Santista.

Nossa programação científica procurou priorizar a medicina de ponta que fazemos, como o primeiro curso prático de vitrificação de tecido germinativo masculino em impúberes no mundo.

Vamos discutir stem cels e suas implicações futuras na Medicina Reprodutiva e regeneradora.

Com a visão científica da SBRA estamos priorizando e premiando os melhores trabalhos científicos. Batemos nossos recordes na recepção de trabalhos. Com a volta as origens em Guarujá, atingimos nossa maturidade e esperamos que sua avaliação seja do tamanho de nosso entusiasmo.

**Condesmar Marcondes**

# Oocyte dysmorphisms influence chromosomal abnormalities of in vitro-generated embryos

## Dismorfismos oocitários influenciam anormalidades cromossômicas em embriões gerados in vitro

Amanda S. Setti, M.Sc<sup>a,b</sup>; Rita C. S. Figueira, M.Sc<sup>b</sup>; Daniela P. A. F. Braga, DVM, M.Sc<sup>a,b</sup>; Assumpto Iaconelli Jr., MD<sup>a,b</sup>; Edson Borges Jr., MD, Ph.D<sup>a,b</sup>

### Department affiliations

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

Rua Vieira Maciel, 62

Sao Paulo – SP, Brazil, ZIP: 04503-040

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

Av. Brigadeiro Luis Antônio, 4545

Sao Paulo – SP, Brazil, ZIP: 01401-002

### RESUMO

**Objetivo:** Verificar a relação entre os dismorfismos oocitários e as anormalidades cromossômicas dos embriões gerados in vitro.

**Métodos:** Este estudo retrospectivo incluiu 189 ciclos de injeção intracitoplasmática de espermatozoides associados ao diagnóstico genético preimplantacional. A relação entre os dismorfismos oocitários e as anormalidades cromossômicas embrionárias foi avaliada. A influência dos dismorfismos oocitários na aneuploidia embrionária foi avaliada por meio de regressão logística e os resultados foram expressos como odds ratio (OR), intervalos de confiança (IC) e valores de p.

**Resultados:** A granulação citoplasmática (OR: 1,68, IC: 1,10-2,56), o aumento do espaço perivitelíneo (OR: 1,52, IC: 1,10-2,11) e a granulação do espaço perivitelíneo (OR: 1,52, IC: 1,11-2,10) foram determinantes para a maior probabilidade de alteração cromossômica embrionária. Considerando apenas as pacientes com idade ≤ 35 anos, o aumento do espaço perivitelíneo (OR: 2,20, IC: 1,11-4,37) foi determinante da probabilidade de alteração cromossômica embrionária.

**Conclusões:** A granulação citoplasmática, o aumento e a granulação do espaço perivitelíneo estão associados com uma probabilidade aumentada de aneuploidia no embrião em desenvolvimento.

**Palavras-chave:** aneuploidia; injeção intracitoplasmática de espermatozóide; morfologia oocitária, embrião; diagnóstico genético preimplantacional.

### ABSTRACT

**Objective:** To verify the relationship between oocyte dysmorphisms and chromosomal abnormalities of in vitro-derived embryos.

**Methods:** This retrospective study enrolled 189 intracytoplasmic sperm injection cycles associated with preimplantation genetic aneuploidy screening. The relationship between oocyte dysmorphisms and embryonic chromosomal abnormalities was evaluated. The influence of oocyte dysmorphisms on embryonic chromosomal aneuploidy was assessed using logistic regression and results are expressed as odds ratio (OR), confidence intervals (CI) and p-values.

**Results:** Increased cytoplasmic granularity (OR: 1.68, CI: 1.10-2.56), enlarged (OR: 1.52, CI: 1.10-2.11) and granular perivitelline space (OR: 1.52, CI: 1.11-2.10) were determinants of increased likelihood of embryonic chromosomal alteration. Considering only female patients aged ≤ 35 years, enlarged perivitelline space (OR: 2.20, CI: 1.11-4.37) was determinant of the likelihood of embryonic chromosomal alteration.

**Conclusions:** Oocyte cytoplasmic granulation, enlarged and granular perivitelline space are associated with increased probability of aneuploidy in the developing embryo.

**Keywords:** aneuploidy; intracytoplasmic sperm injection; oocyte morphology; embryo; preimplantation genetic screening.

### INTRODUCTION

Oocyte maturation relies on a poorly-understood, complex cascade of events involving the coordination of both nuclear and cytoplasmic changes. Despite the extrusion of the first polar body (IPB) indicates meiosis, it is not sufficient to ensure that the meiotic apparatus of the oocyte has progressed correctly to metaphase II (MII) (De Santis et al. 2005). Disturbance or asynchrony of cytoplasmic and nuclear maturation has been shown to result in different morphologic abnormalities in oocytes (Eichenlaub-Ritter et al. 1995; Hassan-Ali et al. 1998; Loutradis et al. 1999).

With the introduction of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) (Palermo et al. 1992), which requires the removal of cumulus cells, it is possible to visualize new information regarding oocyte morphology. Good quality human MII oocytes should have a clear, moderately granular cytoplasm that does not contain inclusions, a small perivitelline space (PVS) containing a single unfragmented IPB and a round, clear, colorless zona pellucida (ZP) (Veck 1988). Oocyte dysmorphisms can be observed in more than half of collected oocytes (Ebner et al. 2006). Nonetheless, the importance of oocyte morphology on in vitro fertilization (IVF) is still a matter of debate. Several studies have reported on the relationship, or lack thereof, between oocyte morphology and ICSI outcomes (De Sutter et al. 1996; Verlinsky and Kuliev 1996; Serhal et al. 1997; Balaban et al. 1998; Loutradis

et al. 1999; Kahraman et al. 2000; Meriano et al. 2001; Otsuki et al. 2004; De Santis et al. 2005; Yakin et al. 2007). Furthermore, an association between oocyte dysmorphisms and embryonic aneuploidy has been proposed (Van Blerkom and Henry 1988). Nonetheless, despite many studies investigating this possible association (Van Blerkom and Henry 1992; Alikani et al. 1995; Verlinsky and Kuliev 1996; Kahraman et al. 2000; Balaban and Urman 2003; Otsuki et al. 2004; Yakin et al. 2007), the issue remains unclear.

Therefore, this study was designed to verify the possible relationship between oocyte dysmorphisms and embryonic chromosomal abnormalities in the developing embryo.

## MATERIALS AND METHODS

### Experimental design, patients and inclusion criteria

We retrospectively identified 189 cycles, performed from January 2007 to December 2009, which fulfilled the following inclusion criteria: ICSI followed by preimplantation genetic aneuploidy screening (PGS). To minimize the influence of male factor infertility, all cases of sperm concentration less than  $1 \times 10^6$  M/mL and sperm motility less than 20% were excluded from the study.

In the first analysis, the relationship between oocyte intracytoplasmic dysmorphisms (increased cytoplasmic granularity, vacuoles in the ooplasm, and aggregates of smooth endoplasmic reticulum clusters (SER) in the ooplasm) and extracytoplasmic dysmorphisms (fragmented IPB, PVS granularity and enlarged PVS), and embryonic chromosomal alteration was evaluated in the 189 identified cycles (834 oocytes/ embryos). In order to exclude the influence of maternal age on embryonic chromosomal abnormalities, a second analysis of the above-described protocol was performed including only the embryos from female patients up to 35 years old ( $n=57$ , 326 oocytes/embryos).

A written informed consent was obtained, in which patients agreed to share the outcomes of their own cycles for research purposes, and the study was approved by the local institutional review board.

### Controlled ovarian stimulation

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

### Preparation of oocytes

Retrieved oocytes were maintained in human tubal culture medium (HTF, Irvine Scientific, Santa Ana, USA) supplemented with 10% Human Synthetic Albumin (HSA, Irvine Scientific, Santa Ana, USA) and covered with mineral oil (Ovoil™, Vitrolife) for 2-3 hours before cumulus cell removal. Surrounding cumulus cells were removed after exposure to a HEPES buffered medium containing hyaluronidase (80IU/mL, Irvine Scientific, Santa Ana, USA). The remaining cumulus cells were then mechanically removed by gently pipetting with a hand-drawn Pasteur pipette (Humagen Fertility Diagnostics, Charlottesville, USA).

Oocyte morphology was assessed using an inverted Nikon Diaphot microscope (Eclipse TE 300; Nikon®, Tokyo, Japan) with a Hoffmann modulation contrast system under 400X magnification, just before sperm injection (3-4 hours after retrieval). The following oocyte dysmorphisms were recorded: (i) increased cytoplasmic granularity, (ii) vacuoles in the

ooplasm, (iii) smooth endoplasmic reticulum clusters (SER) in the ooplasm (iv) large PVS size, (v) PVS granularity and (vi) fragmented IPB. Oocytes that were observed to have released the first polar body were considered mature and were used for ICSI.

### Intracytoplasmic sperm injection, fertilization and embryo development

Oocytes were transferred into a micro-injection dish, prepared with 4  $\mu$ L droplets of buffered medium (HEPES, Irvine Scientific, Santa Ana, USA), and covered with mineral oil on a heated stage at  $37.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$  of an inverted microscope. Approximately 16 hours after ICSI, fertilization was confirmed by the presence of two pronuclei and the extrusion of the second polar body. Embryos were kept in a 50ul drop of HTF medium supplemented with 10% HSA covered with mineral oil in a humidified atmosphere under 6% CO<sub>2</sub> at 37°C until transfer. Embryonic development was further evaluated on days 2, 3, 4 and 5.

### Embryo biopsy

Embryos reaching at least the 5-cell stage on day 3 of development were biopsied by laser zona drilling using a 1.48 $\mu$ m Infrared Diode Laser (Octax Laser Shot System, MTG, Bruckberg, Germany) and returned to culture. Only one blastomere was removed per embryo. The definition of a successful biopsy was the removal of a cell without lysis, so that the cell could be used for fixation and analysis. If the blastomere was not successfully biopsied or fixed, a second blastomere was taken, but only if the embryo initially had  $\geq 6$  blastomeres.

### Blastomere fixation and fluorescent in situ hybridization (FISH)

The blastomere of an embryo was fixed on a slide according to the HCI/Tween 20 method, as previously described (Dumoulin et al. 2005). A two-round FISH procedure was performed, which allowed for the detection of chromosomes X, Y, 13, 18 and 21 (Multivision PGT Probe Panel; Vysis, Downers Grove, IL, USA) in the first round and chromosomes 16 and 22 in the second round. The hybridization solution for the second round was prepared by mixing a probe for chromosome 16 (Vysis, Satellite II DNA/D16Z3 probe, Spectrum Orange) and a probe for chromosome 22 (Vysis, LSI 22, 22q11.2, Spectrum Green). The FISH procedure was performed as previously described (Van de Velde et al. 2000). The results of the first and second round were analyzed using a fluorescence microscope.

### FISH scoring criteria

At diagnosis, embryos were considered normal when two gonosomes and two chromosomes 13, 16, 18, 21 and 22 were present. Several FISH procedure-related factors were responsible for unreliable results secondary to the following mechanisms: damaged or incomplete nuclei, nuclei covered with debris or nuclei without clear signals. This was referred to as FISH failure.

### Embryo transfer

Embryo transfer was performed on day 5 by using a soft catheter with transabdominal ultrasound guidance. One to three embryos were transferred per patient.

### Clinical Follow-up

A pregnancy test was performed 12 days after embryo transfer. All women with a positive test had a transvaginal ultrasound scan 2 weeks after the positive test; a clinical pregnancy was diagnosed when the fetal heartbeat was detected. Pregnancy rates were calculated

per transfer. Miscarriage was defined as spontaneous abortion before 20 weeks of gestation.

### Statistical analysis

The influence of oocyte dysmorphisms on embryonic chromosomal aneuploidy was assessed using a binary logistic regression analysis, and results are expressed as odds ratio (OR), confidence intervals (CI) and p-values. Results were considered to be significant at the 5% critical level ( $p < 0.05$ ). Data analysis was carried out using MINITAB Software.

## RESULTS

### Patients 26-45 years old (n=189)

General characteristics of the first analysis are shown in Table I. A total of 892 embryos were biopsied. The removal of an extra blastomere was necessary in 18 (2.0%) embryos. Due to technical issues, including hybridization failure, signal overlapping yielding false-negative results and split or diffuse signals, the embryo biopsy failed in 58 (6.5%) cells. Out of 834 embryos with FISH results, 441 were aneuploid (52.9%).

**Table 1.** Cycles general characteristics and ICSI outcomes (n=189)

Variable	Value
Maternal age	37.7 ± 4.6 (26 - 45)
Paternal age	40.7 ± 7.8 (28 - 61)
Total dose of FSH administered	2734.3 ± 707.7
Estradiol (pg/mL)	2085.4 ± 2067.7
Number of aspirated follicle	19.2 ± 14.2
Retrieved oocytes	13.0 ± 8.3
MII oocyte	9.7 ± 6.9
Fertilization rate (%)	73.6
Transferred embryos	1.6 ± 1.0
Frozen embryos	0.9 ± 3.1
Pregnancy rate (%)	30.2
Implantation rate (%)	25.6
Miscarriage rate (%)	10.5

Values are mean ± SD, unless otherwise noted. Numbers in parenthesis are ranges.

Considering only the oocytes which originated embryos with FISH results, increased cytoplasmic granularity was observed in 690 (82.7%) oocytes, vacuoles in 24 (2.9%), aggregates of SER in 13 (1.6%), fragmented IPB in 227 (27.2%), PVS granularity in 445 (53.4%) and enlarged PVS in 347 (41.6%) oocytes.

For this group of patients, our results showed that oocytes displaying cytoplasmic granularity, PVS granularity or enlarged PVS were associated with a significantly increased chance of generating a chromosomally abnormal embryo. The influence of oocyte dysmorphisms on embryonic chromosomal alteration, evaluated through binary logistic regression, is shown in Table II. It was not possible to calculate the effects of SER, due to a low number of interactions in the binary logistic regression.

**Table 2.** Influence of on embryo oocyte dysmorphisms chromosomal alteration (n=189)

Oocyte dysmorphism	OR	CI	P Value
Increased cytoplasmic granularity	1.68	1.10 - 2.56	0.017
Presence of vacuoles	0.87	0.34 - 2.21	0.765
Presence of SER	*	*	*
Fragmented IPB	0.96	0.67 - 1.37	0.824
PVS granularity	1.52	1.11 - 2.10	0.010
Enlarged PVS	1.52	1.10 - 2.11	0.011

OR: odds ratio, CI: confidence interval, SER: aggregates of smooth endoplasmic reticulum, IPB: first polar body, PVS: perivitelline space, \* it was not possible to calculate due to a low number of interactions in the binary logistic regression.

### Patients aged ≤ 35 years old (n=57)

General characteristics of the second analysis are shown in Table III. A total of 348 embryos were biopsied. The removal of an extra blastomere was necessary in 8 (2.3%) embryos. Due to technical issues, including hybridization failure, signal overlapping yielding false-negative results and split or diffuse signals, the embryo biopsy failed in 22 (6.3%) cells. Out of 326 embryos with FISH results, 145 were aneuploid (44.5%).

Considering only the oocytes that originated embryos with FISH results, increased cytoplasmic granularity was observed in 178 (54.6%) oocytes, vacuoles in 9 (2.8%), aggregates of SER in 9 (2.8%), fragmented IPB in 63 (19.3%), PVS granularity in 114 (35.0%) and enlarged PVS in 68 (20.8%) oocytes.

For this group of patients, our results showed that the oocytes presenting with enlarged PVS was associated with a significantly increased chance of generating

**Table 3.** Cycles general characteristics and ICSI outcomes (n=57)

Variable	Value
Maternal age	32.1 ± 2.9 (26 - 35)
Paternal age	36.1 ± 5.0 (29 - 45)
Total dose of FSH administered	2253.7 ± 552.2
Estradiol (pg/mL)	2438.9 ± 2245.4
Number of aspirated follicle	25.5 ± 16.1
Retrieved oocytes	16.2 ± 8.0
MII oocyte	12.5 ± 7.0
Fertilization rate (%)	76.6
Transferred embryos	1.5 ± 0.8
Frozen embryos	0.9 ± 3.8
Pregnancy rate (%)	31.6
Implantation rate (%)	27.6
Miscarriage rate (%)	11.1

Values are mean ± SD, unless otherwise noted. Numbers in parenthesis are ranges.

a chromosomally abnormal embryo. The influence of oocyte dysmorphisms on embryonic chromosomal alteration, evaluated through binary logistic regression, is shown in Table IV. It was not possible to calculate the effects of vacuoles and SER, due to a low number of interactions in the binary logistic regression.

**Table 4.** Influence of oocyte dysmorphisms on embryo chromosomal alteration (n=57).

Oocyte dysmorphism	OR	CI	P Value
Increased cytoplasmic granularity	1.68	0.76 - 3.59	0.198
Presence of vacuoles	*	*	*
Presence of SER	*	*	*
Fragmented IPB	1.68	0.32 - 5.43	0.256
PVS granularity	0.86	0.46 - 1.60	0.634
Enlarged PVS	2.20	1.11 - 4.37	0.023

OR: odds ratio, CI: confidence interval, SER: aggregates of smooth endoplasmic reticulum, IPB: first polar body, PVS: perivitelline space, \* it was not possible to calculate due to a low number of interactions in the binary logistic regression.

## DISCUSSION

In this study we showed that oocyte dysmorphisms have an adverse effect on embryonic chromosomal status, regardless of maternal age. Oocytes presenting cytoplasmic granularity, PVS granularity or enlarged PVS were associated with an increased chance of chromosomally abnormal embryo generation in female patients aged 26–45 years old. To exclude the effects of advanced maternal age, the oocytes and derived embryos from a subgroup of female patients aged ≤ 35 years were analyzed. The association between enlarged PVS and embryonic chromosomal alteration was maintained in this subgroup of patients.

Increased cytoplasmic granulation of an oocyte may be a sign of cytoplasmic immaturity (Kahraman et al. 2000); nevertheless, it is not known what factors are responsible for this kind of oocyte dysmorphism. Ovarian stimulation for IVF allows a more synchronous cohort of follicles to be recruited, but some oocytes may come from slower developing follicles. These oocytes' cytoplasm would be at different maturation stages when exposed to hCG for the resumption of meiosis (Xia 1997). Therefore, nuclear and cytoplasmic maturation can proceed one without the other, resulting in compromised embryos (Eppig et al. 2002).

It is not clear how cytoplasmic abnormalities compromise zygotic or embryonic development. During the completion of meiosis I and the transition to the metaphase II stage, synchronous cytoplasmic maturation, mitochondrial changes, protein synthesis and cytoskeletal changes take place (Scott 2000). Because the proteins responsible for sperm chromosome decondensation, release of protamines, DNA repair, chromosome remodeling and assembly of organelles are accumulated in the cytoplasm (Collas 1998), the quality of the cytoplasm plays a pivotal role in male pronuclear assembly and the fertilization process (Banerjee et al. 2000). It has been suggested that chromosomal abnormality may be one reason for cytoplasmic granulation (Kahraman et al. 2000). The effects of cytoplasmic granularity on embryo chromosomal status have been previously investigated. Yakin et al. (2007) showed that despite a 20% higher aneuploidy rate was found among embryos derived from these oocytes, the difference did not reach statistical significance. A specific kind of cytoplasmic granularity, known as centrally located granular cytoplasm (CLCG), can be

observed in rare situations. Kahraman et al. (2000) reported that 53% of the embryos derived from the group of oocytes with CLCG were aneuploid.

In addition, defects in the cytoplasmic machinery may block gene activation. Wells et al. (2005) assessed a small number of embryos derived from centrally granulated oocytes for gene expression on Day 3 and found that this type of oocyte morphology is associated with altered gene expression.

The fate of the oocytes with extracytoplasmic abnormalities is still unknown. It was demonstrated that the aneuploidy rate for the group of embryos derived from oocytes with cytoplasmic abnormalities was higher compared with either the group of embryos derived from oocytes with extracytoplasmic abnormalities or the group of embryos derived from oocytes with normal morphology (Balaban and Urman 2003). Nonetheless, Rienzi et al. (2008) showed that not only cytoplasmic abnormalities but also extracytoplasmic abnormalities are indicators of oocyte competence, reflecting a decreased potential of fertilization and compromised pronuclear morphology.

In this study we observed that the presence of an enlarged PVS was a determinant of embryonic chromosomal alteration regardless of maternal age. The PVS is known to start forming when meiotic maturation resumes and to enlarge in matured oocytes at the metaphase II stage (Kaufman et al. 1989). It has been suggested that an enlarged PVS may be related to an overmaturity of the oocyte (Mikkelsen and Lindenberg 2001; Rienzi et al. 2008), which, in turn, causes polar body retention and influences the incidence of embryonic aneuploidy (Badenas et al. 1989).

Granularity of the PVS, in this study, also influenced the incidence of embryonic chromosomal alteration. However, this association was not seen in younger women. There is evidence that some PVS inclusions are the remnants of coronal cell processes (York et al. 1993; Sathananthan 1997). Figueira et al. (2009) observed that the total dose of follicle stimulating hormone (FSH) was associated with the presence of PVS granularity. It is well known that poor ovarian response to stimulation protocols increases as women get older (Veleva et al. 2005); therefore, those patients are usually stimulated with high doses of gonadotrophins (Kumbak et al. 2008). Because we did not observe an association between PVS granularity and embryonic chromosomal alteration in younger patients, it could be suggested that high doses of gonadotrophin administered in the older patients resulted in the maturation of oocytes with increased PVS granularity and probability of embryonic chromosomal alteration in the developing embryo.

In spite of a good experimental design, our study possesses three other drawbacks, as follows:

(i) We did not perform polar body chromosomal analysis; therefore, we cannot state for certain that embryonic aneuploidy was related to the oocyte. The exclusion of patients with severe male factors may be minimized but not totally refused the impact of spermatozoa-related embryonic aneuploidy.

(ii) We performed single blastomere biopsy for embryonic chromosomal analysis. However, because there is no convincing data demonstrating the safety of double-over single-blastomere biopsy (Van de Velde et al. 2000; Edwards and Hansis 2005), we perform single blastomere biopsy in our center.

(iii) Due to a small number of interactions between the oocytes displaying aggregates of SER and embryo chromosomal status in the first analysis and between the oocytes presenting aggregates of SER or vacuoles in the second analysis, it was not possible to verify the relationships between these two important dysmorphisms and embryonic chromosomal alteration.

## CONCLUSION

In conclusion, we showed that oocyte cytoplasmic granulation, enlarged PVS and PVS granularity are associated with an increased probability of aneuploidy in the developing embryo. Therefore, the practical and inexpensive practice of oocyte morphological evaluation should not be discontinued.

## Corresponding author

Edson Borges Jr., M.D., PhD.  
Fertility – Assisted Fertilization Center,  
Av. Brigadeiro Luiz Antônio, 4545. Zip code: 01401-002  
Fax: (55 11) 3018-8181  
E-mail: edson@fertility.com.br

## REFERENCES

- Alikani M, Palermo G, Adler A, Bertoli M, Blake M and Cohen J. Intracytoplasmic sperm injection in dysmorphic human oocytes. *Zygote*. 1995;3:283-8.
- Badenas J, Santalo J, Calafell JM, Estop AM and Egozcue J. Effect of the degree of maturation of mouse oocytes at fertilization: a source of chromosome imbalance. *Gamete Res*. 1989;24:205-18.
- Balaban B and Urman B. Embryo culture as a diagnostic tool. *Reprod Biomed Online*. 2003;7:671-82.
- Balaban B, Urman B, Sertac A, Alatas C, Aksoy S and Mercan R. Oocyte morphology does not affect fertilization rate, embryo quality and implantation rate after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1998;13:3431-3.
- Banerjee S, Lamond S, McMahon A, Campbell S and Nargund G. Does blastocyst culture eliminate paternal chromosomal defects and select good embryos?: inheritance of an abnormal paternal genome following ICSI. *Hum Reprod*. 2000;15:2455-9.
- Collas P. Cytoplasmic control of nuclear assembly. *Reprod Fertil Dev*. 1998;10:581-92.
- De Santis L, Cino I, Rabellotti E, Calzi F, Persico P, Borini A and Cotichio G. Polar body morphology and spindle imaging as predictors of oocyte quality. *Reprod Biomed Online*. 2005;11:36-42.
- De Sutter P, Dozortsev D, Qian C and Dhont M. Oocyte morphology does not correlate with fertilization rate and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1996;11:595-7.
- Dumoulin JC, Derhaag JG, Bras M, Van Montfoort AP, Kester AD, Evers JL, Geraedts JP and Coonen E. Growth rate of human preimplantation embryos is sex dependent after ICSI but not after IVF. *Hum Reprod*. 2005;20:484-91.
- Ebner T, Moser M and Tews G. Is oocyte morphology prognostic of embryo developmental potential after ICSI? *Reprod Biomed Online*. 2006;12:507-12.
- Edwards RG and Hansis C. Initial differentiation of blastomeres in 4-cell human embryos and its significance for early embryogenesis and implantation. *Reprod Biomed Online*. 2005;11:206-18.
- Eichenlaub-Ritter U, Schmiady H, Kantenich H and 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.
- Eppig JJ, Wigglesworth K and Pendola FL. The mammalian oocyte orchestrates the rate of ovarian follicular development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:2890-4.
- Figueira RD, de Almeida Ferreira Braga DP, Semiao-Francisco L, Madaschi C, Iaconelli A, Jr. and Borges E, Jr. Metaphase II human oocyte morphology: contributing factors and effects on fertilization potential and embryo developmental ability in ICSI cycles. *Fertil Steril*. 2009; In press; DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.11.039.
- Hassan-Ali H, Hisham-Saleh A, El-Gezeiry D, Baghdady I, Ismaeil I and 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 and Imirzalioglu N. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 2000;15:2390-3.
- Kaufman MH, Fowler RE, Barratt E and McDougall RD. Ultrastructural and histochemical changes in the murine zona pellucida during the final stages of oocyte maturation prior to ovulation. *Gamete Res*. 1989;24:35-48.
- Kumbak B, Kahraman S, Karlikaya G, Lacin S and Guney A. In vitro fertilization in normoresponder patients with endometriomas: comparison with basal simple ovarian cysts. *Gynecol Obstet Invest*. 2008;65:212-6.
- Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Milingos S, Dendrinis S and 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 and 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 and Lindenberg S. Morphology of in-vitro matured oocytes: impact on fertility potential and embryo quality. *Hum Reprod*. 2001;16:1714-8.
- Otsuki J, Okada A, Morimoto K, Nagai Y and Kubo H. The relationship between pregnancy outcome and smooth endoplasmic reticulum clusters in MII human oocytes. *Hum Reprod*. 2004;19:1591-7.
- Palermo G, Joris H, Devroey P and Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*. 1992;340:17-8.
- Rienzi L, Ubaldi FM, Iacobelli M, Minasi MG, Romano S, Ferrero S, Sapienza F, Baroni E, Litwicka K and Greco E. Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. *Fertil Steril*. 2008;90:1692-700.
- Sathananthan AH. Ultrastructure of the human egg. *Hum Cell*. 1997;10:21-38.
- Scott LA. Oocyte and embryo polarity. *Semin Reprod Med*. 2000;18:171-83.
- Serhal PF, Ranieri DM, Kinis A, Marchant S, Davies M and Khadum IM. Oocyte morphology predicts outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1997;12:1267-70.
- Van Blerkom J and Henry G. Cytogenetic analysis of living human oocytes: cellular basis and developmental consequences of perturbations in chromosomal organization and complement. *Hum Reprod*. 1988;3:777-90.
- Van Blerkom J and Henry G. Oocyte dysmorphism and aneuploidy in meiotically mature human oocytes after ovarian stimulation. *Hum Reprod*. 1992;7:379-90.
- Van de Velde H, De Vos A, Sermon K, Staessen C, De Rycke M, Van Assche E, Lissens W, Vandervorst M, Van Ranst H, Liebaers I and Van Steirteghem A. Embryo implantation after biopsy of one or two cells from cleavage-stage embryos with a view to preimplantation genetic diagnosis. *Prenat Diagn*. 2000;20:1030-7.
- Veeck LL. Oocyte assessment and biological performance. *Ann N Y Acad Sci*. 1988;541:259-74.
- Veleva Z, Jarvela IY, Nuojua-Huttunen S, Martikainen H and Tapanainen JS. An initial low response predicts poor outcome in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection despite improved ovarian response in consecutive cycles. *Fertil Steril*. 2005;83:1384-90.
- Verlinsky Y and Kuliev A. Preimplantation diagnosis of common aneuploidies in infertile couples of advanced maternal age. *Hum Reprod*. 1996;11:2076-7.
- Wells D, Bermudez MG, Steuerwald N, Malter HE, Thornhill AR and Cohen J. Association of abnormal morphology and altered gene expression in human preimplantation embryos. *Fertil Steril*. 2005;84:343-55.
- 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 and Urman B. Oocyte dysmorphism is not associated with aneuploidy in the developing embryo. *Fertil Steril*. 2007;88:811-6.
- York WS, Patino R and Thomas P. Ultrastructural changes in follicle cell-oocyte associations during development and maturation of the ovarian follicle in Atlantic croaker. *Gen Comp Endocrinol*. 1993;92:402-18.

# Agonistas do GnRH, Antagonistas do GnRH e a Reprodução assistida

## Análogos do GnRH X Fertilização in vitro

Heloisa Lopes Lavorato<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

Os agonistas do hormônio liberador de gonadotrofina (Gonadotropin-releasing hormone / GnRH) foram introduzidos na estimulação ovariana para fertilização in-vitro (FIV), com o objetivo de evitar o pico prematuro do hormônio luteinizante (LH). Embora seja acompanhado de algumas desvantagens, os agonistas do GnRH tornaram-se bem aceitos na prática clínica com sua utilização sendo associada a aumento das taxas de gravidez. O desenvolvimento dos antagonistas do GnRH, capazes de bloqueio imediato da hipófise ofereceu, uma outra opção terapêutica. Estudos comparativos entre os dois análogos têm sugerido que o uso de antagonistas está associado a uma menor duração do estímulo ovulatório e uma diminuição da incidência de síndrome de hiperestimulação ovariana, enquanto as taxas de gravidez e de nascidos vivos não parecem sofrer influências significativas do tipo de análogo do GnRH utilizado. Por outro lado, os agonistas do GnRH apresentam outras aplicações em ciclos de reprodução assistida além do bloqueio hipofisário.

**Palavras-chave:** Antagonista do GnRH; Agonista do GnRH; estimulação ovariana, fertilização in vitro

### ABSTRACT

The agonists of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) were introduced in ovarian stimulation for in vitro fertilization to avoid a premature surge of luteinizing hormone. Although they are accompanied by some disadvantages, GnRH agonists have become well accepted in clinical practice, and their use is associated with increased rates of pregnancy. The development of GnRH antagonists capable of blocking the pituitary immediately offered a therapeutic option. Comparative studies between the two analogs have suggested that the use of antagonists is associated with a shorter duration of ovulatory stimulus and a decreased incidence of ovarian hyperstimulation syndrome, while the type of GnRH analogues used show no significant effects on the rates of pregnancy and live birth. However, GnRH agonists have other applications in assisted reproductive technology cycles than the pituitary downregulation.

**Keywords:** GnRH antagonists; GnRH agonists; ovarian stimulation; in vitro fertilization

### INTRODUÇÃO

A compreensão atual da ação do gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) começou no início do século 20 com a observação de que lesões da hipófise anterior ocasionavam a atrofia genital, fazendo parte dos primórdios da identificação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (Hayden 2008). O GnRH, que foi isolado e teve sua estrutura elucidada em 1971, consiste em um decapeptídeo com fórmula Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> secretado pelos neurônios localizados no núcleo arqueado no hipotálamo mediobasal (Cheng & Leung 2005; Schally *et al.* 1971). Os vasos sanguíneos do sistema porta hipofisário levam a molécula de GnRH para o lobo anterior da hipófise, onde se liga a receptores específicos localizados na membrana celular. A ligação do GnRH a seus receptores (GnRHR) ocasiona à ativação da enzima fosfolipase C, aumentando a produção de trifosfato de inositol (IP<sub>3</sub>) e diacilglicerol (DAG). O IP<sub>3</sub> mobiliza o cálcio presente nas mitocôndrias e no retículo endoplasmático, elevando a concentração citoplasmática de Ca<sup>2+</sup>. O DAG atua juntamente com o cálcio e ativa a proteína quinase C (PKC). A ação desses segundos mensageiros desencadeia a cascata de fosforilação que envolve a produção de AMP cíclico e ativação de proteínas quinases associadas à mitógeno (MAPKs), culminando na liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH).

Para que o controle simultâneo da secreção de dois hormônios através do GnRH seja efetivo, a liberação deste hormônio acontece de forma intermitente (a cada 70-90 minutos) (Griesinger *et al.* 2004). A secreção pulsátil se faz necessária devido à meia-vida muito curta do GnRH e a pulsatilidade varia de frequência e amplitude durante todo o ciclo menstrual. O aumento e a diminuição no ritmo da liberação do GnRH levam a comprometimento do sistema reprodutor, provando que a periodicidade e a amplitude do ritmo da liberação deste hormônio são essenciais para que a produção de gonadotrofinas pela hipófise seja apropriada (Bliss *et al.* 2010). Estimulação pulsátil dos GnRHR induzem a síntese e liberação pulsátil das gonadotrofinas (FSH e LH). FSH e LH induzem por sua vez a maturação folicular e controle de esteroidogênese ovariana. Nas mulheres, a secreção de gonadotrofina é modulada - entre outros fatores - pelo estrogênio e progesterona. Altos níveis de estrógeno por meio do ciclo

de feedback positivo com a glândula pituitária levam liberação de níveis elevados de LH (pico de LH). Este pico de LH induz a ovulação no folículo dominante, a retomada da meiose e, posteriormente, luteinização como indicado pelo aumento dos níveis de progesterona.

As primeiras terapias com fertilização in vitro (FIV) foram realizadas em ciclos naturais, porém a taxa de sucesso destes ciclos é pequena e, entre os motivos, está a baixa taxa de sucesso na coleta de oócitos para os procedimentos laboratoriais. Para melhorar os resultados dos ciclos de FIV, são utilizadas atualmente vários esquemas de estimulação da ovulação, baseados principalmente no uso de gonadotrofinas para induzir o crescimento coordenado de múltiplos folículos e com isso fornecendo maior número de oócitos para os procedimentos (Queenan & Whiman-Elia 2000). Contudo, a estimulação pode desencadear um pico prematuro espontâneo LH que perturba a maturação do oócito e têm um efeito negativo sobre a qualidade do gameta, fertilização, receptividade endometrial, e em última análise, as taxas de gravidez. Estima-se que o pico prematuro de LH ocorre em aproximadamente 20% de todos os ciclos de FIV / intracytoplasmic sperm injections (ICSI). Para prevenir esta resposta desencadeada pela hipófise, análogos do GnRH tanto agonistas quanto antagonistas, vem sendo empregados para causar dessensibilização (bloqueio) dos gonadotrófos (células produtoras de gonadotrofinas) hipofisárias ao GnRH, aumentando o aproveitamento de cada ciclo de FIV (Huirne *et al.* 2007). De fato, hoje os análogos do GnRH têm grande e intensa aplicação em reprodução assistida.

Considerando o extenso uso das medicações, o objetivo dessa revisão é avaliar os dados disponíveis na literatura a respeito das aplicações dos análogos de GnRH, tanto agonista quanto antagonista, nos ciclos de FIV.

### **Análogos agonistas do GnRH**

A meia-vida plasmática do GnRH circulante é extremamente curta, 2-5 minutos após a liberação, sendo a molécula rapidamente degradada por endopeptidases da glândula pituitária, que preferencialmente interagem com as ligações peptídicas na posição 6 da molécula (Griesinger *et al.* 2004). Esta deterioração rápida de GnRH garante que os pulsos hipotalâmicos de GnRH sejam reconhecidos como eventos únicos pelo receptor hipofisário. É observado que a administração contínua de GnRH leva à supressão da liberação de gonadotrofinas hipofisárias pela inibição (downregulation) dos GnRH das células gonadotróficas.

A elucidação da seqüência de aminoácidos de GnRH (Cheng & Leung 2005; Schally *et al.* 1971; Watson *et al.* 1974) foi rapidamente seguido por tentativas de sintetizar análogos de GnRH com ação seja de agonista ou de antagonista. Substituições de aminoácidos na cadeia protéica do GnRH revelaram a importância de regiões específicas para a estabilidade, a ligação aos receptores e a ativação do gonadotrófos pituitária (Schally 1999). Modificações, principalmente nas posições 6 e 10 deram origem a análogos do GnRH (GnRH-a) com potência maior do que o hormônio original, elevando a capacidade de ligação com os receptores específicos em mais de 100 vezes e estendendo a meia-vida de minutos para horas (Hayden 2008). A potência foi aumentada basicamente pela substituição de Glicina na posição 6 por D-aminoácidos. O fenômeno de uma liberação inicial das gonadotrofinas (denominado efeito "flare") em resposta ao agonista de GnRH, seguido de supressão dos GnRH hipofisários por mecanismos de clustering (agrupamento) e internalização foi esclarecido em 1978. Até o final da

década 80, o chamado protocolo longo com GnRH-a, baseado no fenômeno da downregulation hipofisária, foi estabelecido na FIV, reduzindo significativamente a taxa de cancelamento de ciclo, melhorando os resultados e permitindo alguma flexibilidade na programação da coleta dos oócitos (Smitz *et al.* 1988). Seguiu-se uma vasta expansão da FIV na prática clínica. De fato, o advento dos agonistas GnRH marcou o início da gestão moderna na estimulação ovariana para reprodução assistida (Griesinger *et al.* 2004).

Há sete GnRH-a aprovados para uso clínico: leuprorrelina, busarelina, goserelina, histrelina, deslorelina, nafarelina e triptorrelina. Estes agonistas podem ser administrados por via nasal, subcutânea ou por liberação controlada com a utilização (intramuscular ou subcutânea) de preparado de depósito ou implantes (van Loenen *et al.* 2002). "Sprays" nasais requerem 2-4 administrações por dia para manter uma concentração eficaz de fármaco. Injeções subcutâneas podem ser dadas uma vez por dia. Na via nasal, perdas consideráveis do peptídeo podem ocorrer por proteólise e deglutição, dando um nível de dessensibilização flutuante. Mas na maioria dos casos é suficiente para evitar picos prematuros de LH. Injeções subcutâneas diárias têm efeito mais estável. Após a injeção subcutânea, o agonista é rapidamente absorvido e concentrações sanguíneas permanecem elevadas por muitas horas. Quatro agonistas (busarelina, leuprorrelina, nafarelina, e triptorrelina) são rotineiramente utilizados em reprodução. Por sua ação prolongada, preparações de depósito (como goserelina) são menos utilizados como primeira escolha em ciclos de FIV/ICSI (van Loenen *et al.* 2002).

### **Análogos antagonistas do GnRH**

Em paralelo com o desenvolvimento dos GnRH-a, outros análogos estruturais do GnRH foram sintetizados que, apesar de também se ligarem ao GnRH da hipófise, não são funcionais na indução das reações necessárias para liberação de gonadotrofina. Assim ao contrário dos agonistas, os denominados antagonistas do GnRH (GnRH-ant) agem ocupando diretamente os receptores do GnRH, bloqueando-os de forma competitiva (Cheung *et al.* 2005), causando uma supressão imediata e reversível na liberação das gonadotrofinas (Al-Inany *et al.* 2011; Cheung *et al.* 2005; Huirne *et al.* 2007; Sbracia *et al.* 2009; The European Middle East Orgalutran® Study Group 2001). O mecanismo de ação dos GnRH-ant é dependente do equilíbrio entre o GnRH endógeno e o antagonista aplicado. A modificação da dose do GnRH-ant administrada ao paciente altera esse equilíbrio mostrando que o efeito antagônico destes compostos é dose-dependente.

Ocorreu um considerável período de tempo após a elucidação da estrutura e da função do GnRH para que fossem obtidos antagonistas clinicamente úteis com redução dos efeitos coleterais. Os antagonistas de primeira geração, contendo substituições dos aminoácidos Histidina e Triptorelina nas posições 2 e 3, respectivamente, tiveram baixas atividades supressivas. A potência na segunda geração foi incrementada após a incorporação de um ácido D-amino na posição 6, mas resultou em aumento nas reações anafiláticas por indução da liberação de histamina em grandes quantidades. Estes problemas foram resolvidos na terceira geração através da substituição de D-Arginina na posição 6 por aminoácidos D-ureidoalkil (Schally 1999; van Loenen *et al.* 2002). Exemplos de GnRH-ant de terceira geração são cetorelix, iturelix, azaline B, ganirelix, abarelix e antarelix. A administração resultada

na redução dos níveis séricos de do LH (cerca de 70%) e FSH (cerca de 30%) após cerca de seis horas (van Loenen *et al.* 2002). Dois antagonistas do GnRH, cetrorelix e ganirelix, estão licenciados e disponíveis comercialmente, ambos para uso injetável.

Os GnRH-ant vêm sendo utilizados no arsenal terapêutico na área da reprodução desde o final da década de 90 (Al-Inany *et al.* 2011; Cheung *et al.* 2005; Huirne *et al.* 2007; Sbracia *et al.* 2009; The European Middle East Orgalutran® Study Group 2001). Têm a vantagem da flexibilidade na medida em que pode ser administrado em qualquer momento durante a fase folicular do ciclo de tratamento. A supressão mais rápida da liberação de gonadotrofina permite regimes de tratamento mais curto para a estimulação ovariana. Assim, as desvantagens associadas à administração de GnRH-a podem ser evitadas, incluindo a formação de cisto ovariano e sintomas de privação estrogênica (Griesinger *et al.* 2004; van Loenen *et al.* 2002).

### Protocolos de estimulação ovariana

Poucos ensaios clínicos randomizados comparando as diferentes apresentações dos GnRH-a disponíveis (mensal de depósito, dose diárias injetáveis, administração nasal diárias) foram publicados. Por outro lado, os protocolos de administração têm recebido mais atenção.

No denominado protocolo longo, GnRH-a é iniciado na fase média lútea do ciclo anterior e mantido até a administração da gonadotrofina coriônica humana (hCG) para indução da maturidade dos oócitos. Variação consiste no início do GnRH no primeiro dia do ciclo menstrual. O mecanismo agonista implica na liberação inicial de gonadotrofina antes que os receptores sejam efetivamente bloqueados. Dessa forma, a estimulação ovariana normalmente começa cerca de 2 semanas depois do início das aplicações do GnRH-a, após a instalação do bloqueio pituitário e a ocorrência da menstruação. Há flexibilidade na programação nesta fase, já que alguns dias a mais de bloqueio hipofisário não afetam de forma significativa a estimulação subsequente ou os resultados do ciclo. Algumas mulheres experimentam efeitos colaterais hipoestrogênicos de gravidez variável durante este tempo. Não é evidente se a resposta do ovário às gonadotrofinas exógenas seja afetada pelo GnRH-a, embora em casos de pacientes com reserva ovariana baixa esse efeito seja mais considerado. Início da GnRH-a na fase lútea média ( $\pm 21^{\text{a}}$  dia) do ciclo anterior é mais bem sucedida do no início da fase folicular (quando cistos foliculares persistentes tendem a se formar) ou qualquer outro momento da lútea do ciclo (Pellicer *et al.* 1989; San Roman *et al.* 1992). Uma questão é a possibilidade de ocorrência de gravidez, que aparentemente não leva a efeitos prejudiciais para os conceitos.

Variação do protocolo curto é o denominado protocolo ultracurto, onde o período de administração de GnRH-a limita-se a 3 ou 7 dias. Este protocolo é baseado na suposição de que a supressão do aumento de LH endógeno pode ser obtido através de período muito curto de uso do GnRH-a, mantendo um desejado efeito flure inicial (van Loenen *et al.* 2002).

Metaanálise comparando protocolos longo e curto mostrou que com o uso do protocolo longo há obtenção de taxas de gravidez maiores, embora mais unidades de gonadotrofinas sejam necessárias. Em metaanálise recente (Maheshwari *et al.* 2011) considerando vários protocolos de estimulação ovariana com GnRH-a, foi encontrado taxa de gravidez maior quando era empregado protocolo longo em comparação aos protocolos curto ou ultracurto. Além disso não houve diferença nos resultados entre as variações do protocolo longo.

Com relação aos GnRH-ant, vários estudos tentaram determinar a dose mínima eficaz para alcançar a supressão da hipófise e duas estratégias surgiram. A administração de dose única de depósito em dia pré-estabelecido (8<sup>o</sup> - 9<sup>o</sup>) do ciclo de estimulação ou quando o folículo líder atinge o diâmetro 14mm. A ação de  $\pm 4$  dias é suficiente para impedir que o pico de LH em 80% das mulheres. As pacientes podem receber injeções adicionais de GnRH-ant após 4 dias, caso os critérios para a administração de hCG não tenham sido atingidos. Alternativamente, múltiplas doses diárias de GnRH-ant podem ser usadas iniciando, de forma fixa, no 6<sup>o</sup> dia do ciclo, ou de forma flexível, quando o maior folículo atingir 14 mm de diâmetro. As dose diárias são mantidas até a administração do hCG (The ganirelix dose-finding study group 1998). Esse protocolo com múltiplas doses é atualmente o mais utilizado.

Inicialmente grandes estudos prospectivos comparando o protocolo padrão longo com GnRH-a e protocolo multidoso com GnRH-ant revelou que com o último se obtinha um número ligeiramente menor de folículos e oócitos e também havia uma redução na taxa de gravidez. A melhor taxa de gravidez em ciclos com GnRH-a foi atribuída ao maior número de oócitos e embriões, o que possibilitaria maior oportunidade de seleção para transferência. Foi ponderado que para algumas pacientes o início do GnRH-ant, principalmente nos esquemas fixos ao 6 dia do ciclo, estaria sendo muito precoce, levando a alterações na resposta ovulatória e consequentemente nos resultados do tratamento. Se o início do antagonista é atrasado, a teoria é que a janela de resposta ao FSH endógeno é estendida, maximizando o potencial de recrutamento do óvulos (Hayden 2008). Alguns pontos a favor do uso dos GnRH-ant tem sido postulados: duração do ciclo de tratamento é mais compacta e fisiológica (essencialmente limitada a um único mês), redução na dose total de gonadotrofinas, livres dos efeitos hipoestrogênicos e redução na ocorrência de síndrome de hiperestimulação ovariano (Griesinger *et al.* 2004; Hayden 2008; Tarlatzis & Kolibianakis 2007). Nos estudos iniciais sobre a dose foi observada uma relação inversa entre a dose antagonista e taxas de implantação, sugerindo um potencial efeito embriotóxico. Estas preocupações não foram confirmadas em ciclos de descongelamento com embriões resultantes dos ciclos com GnRH-ant, nem sendo constatadas também diferenças nas taxas de gravidez em comparação com transferência de embriões descongelados provenientes de ciclos em que GnRH-a foi utilizado (Seelig *et al.* 2002). Estudos asseguram que a utilização dos GnRH-ant nos ciclos de FIV não é prejudicial para os conceitos (Ludwig *et al.* 2001) e a ocorrência de má formações é equiparada com a ocorrência observada nos resultados dos ciclos utilizando GnRH-a.

No estudo de Murber *et al.* (2009), os GnRH-a apresentaram um número maior de oócitos coletados, menor taxa de anormalidades citoplasmáticas nos oócitos maduros, maior taxa de fertilização normal e maior número de zigotos com morfologia pronuclear normal, já os antagonistas apresentaram maior número de blastômero nos embriões no segundo dia. Como neste estudo também não houve diferença nas taxas de gestação, os autores concluem que as vantagens e desvantagens dos efeitos dos análogos do GnRH nos oócitos e embriões se compensam.

Em uma metaanálise um total de 22 ensaios clínicos randomizados envolvendo 3176 indivíduos, utilizando ambos GnRH-a e GnRH-ant em vários protocolos foram examinados para determinar se a taxa de nascido vivo é

dependente do tipo de análogo utilizado e / ou o tipo de protocolo (Kolibianakis *et al.* 2006). Nenhuma diferença significativa foi observada na probabilidade de nascido vivo entre os dois análogos do GnRH (OR: 0,86, 95% IC: 0,72-1,02). Este resultado se manteve estável em análise de subgrupo que ordenou os estudos por tipo de população estudada, tipo gonadotrofina usada na estimulação da ovulação, protocolo com agonista utilizado, tipo de agonista utilizado, protocolo com antagonista utilizado e tipo de antagonista utilizado.

Para averiguar a eficácia e a segurança dos protocolos de bloqueio hipofisário, metaanálise (Al-Inany *et al.* 2011; Gilliam 2011) foi realizada reunindo 45 estudos randomizados e somando 7511 mulheres. Nesta, os índices de gravidez (OR = 0.88, IC 95% = 0.77-1.00) e nascidos vivos (OR: 0,86, 95% IC: 0,69-1,08) não apresentaram diferenças significativas, comprovando que a eficácia de ambos os protocolos são semelhantes. No entanto, as incidências de síndrome de hiperestimulação ovariana diferiram entre os tratamentos, sendo que os antagonistas apresentaram uma redução significativa desta intercorrência (Al-Inany *et al.* 2011; Gilliam 2011) (29 OR: 0,43, 95% IC: 0,33-0,57).

### Resposta ovariana pobre

É definida como uma produção reduzida de folículos e oócitos após a hiperestimulação ovariana controlada. A resposta diminuída resulta de uma baixa reserva ovariana que pode ser resultado de diversos fatores como idade avançada, cirurgias ovarianas prévias ou endometriose severa. Porém não há uma causa identificável em grande parte dos casos. As pacientes com resposta pobre apresentam diminuição nas taxas de fertilização e baixa qualidade embrionária quando comparadas com as pacientes com resposta normal ao tratamento, caracterizando um problema para a reprodução humana assistida.

A utilização GnRH-a em seu protocolo longo usual nestas pacientes, acarreta em uma supressão exacerbada na produção endógena de gonadotrofinas sem trazer real vantagem nos resultados da FIV (Pu *et al.* 2011). Para alterar isso, diversas estratégias foram sugeridas, como a diminuição na dose dos agonistas e na duração do tratamento ou o uso de protocolos onde o efeito do flare-up pudesse ser utilizado (associação de estimulação folicular endógena e exógena) (Pu *et al.* 2011). Com a introdução dos GnRH-ant nos ciclos de FIV, novas estratégias para o tratamento destas más respondedoras surgiram (Tarlatzis *et al.* 2003). O GnRH-ant possui diversas vantagens teóricas sobre o agonista do GnRH, pois permite um controle no grau de supressão hipofisária, em decorrência de sua atuação dose-dependente, e não causa a diminuição da secreção de gonadotrofinas durante a fase de recrutamento folicular (Tarlatzis *et al.* 2003).

Diversos estudos comparando a eficiência dos análogos do GnRH nos ciclos de FIV de pacientes com má resposta foram realizados e reunidos em uma metaanálise (Franco *et al.* 2006). Quando comparado o protocolo longo do agonista do GnRH com os protocolos de antagonista do GnRH, a metaanálise mostrou um aumento no número de oócitos recuperados com a utilização do antagonista, porém não encontrou diferença na taxa de cancelamento do ciclo, número de oócitos maduros e taxas de gravidez clínica (Franco *et al.* 2006). Porém, quando comparado o antagonista do GnRH com o agonista do GnRH no protocolo flare-up, um número maior de oócitos foi recuperado utilizando o agonista do GnRH, mas nenhuma diferença nos outros parâmetros analisados foram encontrados (Franco *et al.* 2006).

A maior dificuldade encontrada nas meta-análises sobre o assunto é falta de padronização na definição da paciente a ser considerada pobre respondedora, pois apenas com uma definição rigorosa dessas pacientes, estudos comparativos significativos poderão ser realizados (Vollenhoven *et al.* 2008). Visando o fim deste impasse, foi publicado um consenso realizado pela ESHRE onde foi definido que para a paciente ser considerada pobre respondedora, dois dos seguintes critérios devem estar presentes: 1. Idade avançada ou outro fator de risco para pobre resposta ovariana; 2. Baixa resposta ovariana prévia; 3. Teste de reserva ovariana anormal; Ficou definido também que pacientes que possuem duas baixas respostas ovarianas prévias, utilizando estimulação máxima, serão consideradas baixa respondedoras, sem necessidade da presença de outros critérios (Ferraretti *et al.* 2011). Em contrapartida, pacientes que não possuem baixa resposta ovariana prévia, ou seja, pacientes com idade elevada e teste de reserva ovariana anormal serão definidas como baixa respondedora esperada (Ferraretti *et al.* 2011). Com esta definição, uma população homogênea poderá ser criada nos futuros estudos, dos quais seus resultados poderão ser comparados e conclusões confiáveis sobre os protocolos de tratamento para este grupo de pacientes poderão ser deduzidas (Ferraretti *et al.* 2011).

### Ovulação

Convencionalmente o hCG tem sido usado por muitos anos como um substituto eficaz do LH para desencadear o processo de maturação dos oócitos em ciclos com estimulação ovariana. Isto é possível devido ao compartilhamento entre esses dois hormônios de subunidade alfa similar. Contudo, um dos efeitos colaterais indesejáveis de hCG é o aumento da produção do fator de crescimento endotelial vaso-ativo (vaso- active endothelial growth factor VEGF). VEGF é importante no desenvolvimento e manutenção da vascularização no corpo lúteo e na decídua endometrial. No entanto, ele também está implicado na fisiopatologia da síndrome de hiperestimulo ovariano. O risco é tanto maior quanto mais folículos foram recrutados, e em especial nos pacientes com síndrome dos ovários micropolicísticos.

Administração do GnRH-a, pelo seu efeito flare inicial, induz de modo dose-dependente a liberação de LH pela hipófise similarmente a um pico espontâneo de LH no meio do ciclo e, portanto, fornece uma alternativa à administração de hCG em protocolos de estimulação ovariana. De fato, GnRH-a têm sido utilizados para induzir a maturação final do oócito após estimulação ovariana controlada tanto em ciclos FIV quanto para outros procedimentos de reprodução assistida (Buckett *et al.* 1998). Em particular, desencadear com GnRH-a tem sido sugerido como uma medida para evitar a síndrome da hiperestimulação ovariana (Lewit *et al.* 1996).

GnRH-a têm sido aplicados com sucesso em ciclos de GnRH-ant na indução do aumento de LH endógeno, demonstrando que a pituitária permanece responsiva sob a influência de antagonista de baixa dose diária (Griesinger *et al.* 2011). Metaanálise sobre o desencadeamento da maturação oocitária com GnRH-a em ciclos com bloqueio hipofisário com GnRH-ant (Griesinger *et al.* 2006) concluiu que o número de oócitos maduros coletados e as taxas de clivagem embrionária são comparáveis aos obtidos com hCG. No entanto, a probabilidade da ocorrência de gravidez após uso GnRH-a é significativamente menor em comparação ao tratamento padrão com HCG. A necessidade de modificação na abordagem do suporte da fase lútea nesses casos tem sido observada.

### Fase lútea

Em ciclos naturais o pico de LH inicia o processo de ovulação. Segue-se a ruptura do folículo com liberação todo o complexo cumulus-oócito expandido. A parede residual do folículo converte-se então no corpo lúteo. Posteriormente, a secreção pulsátil de LH promove o desenvolvimento contínuo e mantém tempo de vida normal do corpo lúteo. O aumento exponencial de hCG secretado pelo blastocisto implantado e seu trofoblasto estendem a vida útil do corpo lúteo até que a placenta assuma a função endócrina.

A depleção das células da granulosa devido à aspiração folicular e a supressão da liberação do LH pelos análogos (agonistas e antagonista) do GnRH tem sido associados a defeito da fase lútea em ciclos de reprodução assistida. Assim, ao longo dos anos, tem havido uma preocupação contínua com respeito à ocorrência de deficiência da fase lútea principalmente em ciclos de IVF/ICSI (Fatemi *et al.* 2007), tornando a utilização de hCG, progesterona e, por vezes, estradiol (E2) um procedimento rotineiro reprodução assistida para o suporte da fase lútea.

O propósito de análogos do GnRH na FIV é evitar a do pico de LH, mas as funções subseqüentes de LH ainda são muito necessárias. Os GnRH-a tem início tardio de sua ação bloqueadora e levando também uma recuperação hipofisária mais tardia, estendendo a inibição da secreção de LH para a fase lútea. Portanto, a deficiência potencial em função lútea deve ser corrigida. Tentativas para permitir a recuperação mais rápida da hipófise por interrupção precoce da GnRH-a têm repetidamente falhado (Beckers *et al.* 2000). Por outro lado, apesar da meia vida menor, a função do corpo lúteo parece estar comprometida igualmente em ciclos com GnRH-ant. Aparentemente o processo que leva luteólise é também iniciado prematuramente e as taxas de gravidez estão comprometidas sem o uso de suporte lúteo.

Um ponto que merecer destaque é a recentemente atenção que tem sido dada à terapêutica na fase lútea com GnRH-a. De fato, os efeitos da administração de GnRH-a na fase lútea vem sendo objeto de diferentes estudos. Lemay *et al.* (1983) sugeriram que GnRH-a pode atuar como um agente luteolítico devido a dessensibilização dos receptores de GnRH. Contudo, uma série de estudos mostram que a administração inadvertida de GnRH-a na fase lútea não compromete a continuidade da gravidez, sendo sugerido, ao contrário, possível efeito favorável sobre a implantação (Tan *et al.* 2006). Recentemente diferentes estudos analisando administração única ou múltipla do GnRH-a vêm, de fato, sugerindo efeito benéfico no suporte da fase lútea. O mecanismo do presumido efeito benéfico é pouco definido. Foi aventado que o GnRH-a pode colaborar na manutenção do corpo lúteo, agir diretamente sobre o endométrio através de receptores locais, um efeito direto sobre os embriões ou por alguma combinação dessas possibilidades. Metaanálise recente (Oliveira *et al.* 2010) demonstrou que a administração dose única de GnRH-a na fase lútea uma pode aumentar taxa de implantação e gravidez em ciclos com protocolo de estimulação ovariana com GnRH-ant.

### Considerações finais

Apesar da maior prática na utilização dos agonistas do GnRH como método de bloqueio hipofisário e de sua confiabilidade adquirida através dos anos de uso, os estudos demonstram que os antagonistas possuem eficácia equiparada com a vantagem de poder reduzir os episódios de síndrome de hiperestimulação ovariana. A

estratificação da população que se submete às técnicas de FIV com subsequente análise das categorias beneficiadas com a mudança do método de bloqueio hipofisário ainda se faz necessária.

Apesar dos análogos de GnRH terem adquirido lugar importante na reprodução assistida, desde a descoberta em humanos de GnRHR extra-pituitários em humanos ainda é uma questão em estudo os aspectos relacionados a possíveis efeitos diretos sobre estruturas como o ovário, oócitos, células da granulosa, e embrião

### 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

- Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, Abou-Setta AM. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011; CD001750
- Beckers NG, Laven JS, Eijkemans MJ, Fauser BC. Follicular and luteal phase characteristics following early cessation of gonadotrophin-releasing hormone agonist during ovarian stimulation for in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 2000; 15: 43-9
- Bliss SP, Navratil AM, Xie J, Roberson MS. GnRH signaling, the gonadotrope and endocrine control of fertility. *Front Neuroendocrinol.* 2010; 31: 322-40
- Bucket WM, Bentick B, Shaw RW Induction of the endogenous gonadotrophin surge for oocyte maturation with intra-nasal gonadotrophin-releasing hormone analogue (buserelin): effective minimal dose. *Hum Reprod.* 1998; 13: 811-4
- Cheng CK, Leung PC. Molecular biology of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-I, GnRH-II, and their receptors in humans. *Endocr Rev.* 2005; 26: 283-306
- Cheung LP, Lam PM, Lok IH, Chiu TT, Yeung SY, Tjer CC, Haines CJ. GnRH antagonist versus long GnRH agonist protocol in poor responders undergoing IVF: a randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2005; 20: 616-21
- Fatemi HM, Popovic-Todorovic B, Papanikolaou E, Donoso P, Devroey P. An update of luteal phase support in stimulated IVF cycles. *Hum Reprod Update.* 2007; 13: 581-90
- Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod.* 2011; 26: 1616-24
- Franco JG, Jr., Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Felipe V, Cornicelli J, Cavagna M, Oliveira JB. GnRH agonist versus GnRH antagonist in poor ovarian responders: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* 2006; 13: 618-27
- Gilliam ML. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Obstet Gynecol.* 2011; 118: 706-7
- Griesinger G, Diedrich K, Devroey P, Kolibianakis EM. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2006; 12: 159-68
- Griesinger G, Felberbaum RE, Schultze-Mosgau A, Diedrich K. Gonadotropin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive techniques: are there clinical differences between agents? *Drugs.* 2004; 64: 563-75
- Griesinger G, Schultz L, Bauer T, Broessner A, Frambach T, Kissler S. Ovarian hyperstimulation syndrome prevention by gonadotropin-releasing hormone agonist triggering of final oocyte maturation in a gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol in combination with a "freeze-all" strategy: a prospective multicentric study. *Fertil Steril.* 2011; 95: 2029-33
- Hayden C. GnRH analogues: applications in assisted reproductive techniques. *Eur J Endocrinol.* 2008; 159 Suppl 1: S17-25

- Huirne JA, Homburg R, Lambalk CB. Are GnRH antagonists comparable to agonists for use in IVF? *Hum Reprod.* 2007; 22: 2805-13
- Kolibanakis EM, Collins J, Tarlatzis BC, Devroey P, Diedrich K, Griesinger G. Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2006; 12: 651-71
- Lemay A, Faure N, Labrie F, Fazekas AT. Gonadotroph and corpus luteum responses to two successive intranasal doses of a luteinizing hormone-releasing hormone agonist at different days after the midcycle luteinizing hormone surge. *Fertil Steril.* 1983; 39: 661-7
- Lewit N, Kol S, Manor D, Itskovitz-Eldor J. Comparison of gonadotrophin-releasing hormone analogues and human chorionic gonadotrophin for the induction of ovulation and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: a case-control study. *Hum Reprod.* 1996; 11: 1399-1402
- Ludwig M, Riethmuller-Winzen H, Felberbaum RE, Olivennes F, Albano C, Devroey P, Diedrich K. Health of 227 children born after controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization using the luteinizing hormone-releasing hormone antagonist cetrorelix. *Fertil Steril.* 2001; 75: 18-22
- Maheshwari A, Gibreel A, Siristatidis CS, Bhattacharya S. Gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary suppression in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011: CD006919
- Murber A, Fancsovičs 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
- Oliveira JB, Baruffi R, Petersen CG, Mauri AL, Cavagna M, Franco Jr JG. Administration of single-dose GnRH agonist in the luteal phase in ICSI cycles: a meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2010; 8: 107
- Pellicer A, Simon C, Miro F, Castellvi RM, Ruiz A, Ruiz M, Perez M, Bonilla-Musoles F. Ovarian response and outcome of in-vitro fertilization in patients treated with gonadotrophin-releasing hormone analogues in different phases of the menstrual cycle. *Hum Reprod.* 1989; 4: 285-9
- Pu D, Wu J, Liu J. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in poor ovarian responders undergoing IVF. *Hum Reprod.* 2011; 26: 2742-9
- Queenan JT, Jr., Whiman-Elia G. An appreciation of modern ART. *Clin Obstet Gynecol.* 2000; 43: 942-57
- San Roman GA, Surrey ES, Judd HL, Kerin JF. A prospective randomized comparison of luteal phase versus concurrent follicular phase initiation of gonadotropin-releasing hormone agonist for in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1992; 58: 744-9
- Sbracia M, Colabianchi J, Giallonardo A, Giannini P, Piscitelli C, Morgia F, Montigiani M, Schimberni M. Cetrorelix protocol versus gonadotropin-releasing hormone analog suppression long protocol for superovulation in intracytoplasmic sperm injection patients older than 40. *Fertil Steril.* 2009; 91: 1842-7
- Schally AV (1999) Luteinizing hormone-releasing hormone analogs: their impact on the control of tumorigenesis. *Peptides* 20: 1247-1262
- Schally AV, Nair RM, Redding TW, Arimura A. Isolation of the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone-releasing hormone from porcine hypothalamus. *J Biol Chem.* 1971; 246: 7230-6
- Seelig AS, Al-Hasani S, Katalinic A, Schopper B, Sturm R, Ludwig M. Comparison of cryopreservation outcome with gonadotropin-releasing hormone agonists or antagonists in the collecting cycle. *Fertil Steril.* 2002; 77: 472-5
- Smits J, Devroey P, Camus M, Deschacht J, Khan I, Staessen C, Van Waesberghe L, Wisanto A, Van Steirteghem AC. The luteal phase and early pregnancy after combined GnRH-agonist/HMG treatment for superovulation in IVF or GIFT. *Hum Reprod.* 1988; 3: 585-90
- Smits J, Devroey P, Van Steirteghem AC. Endocrinology in luteal phase and implantation. *Br Med Bull.* 1990; 46: 709-19
- Tan HH, Yeong CT, Loh KE. Perinatal outcome of pregnancies after inadvertent exposure to gonadotrophin-releasing hormone analogue. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2006; 46: 336-40
- Tarlatzis BC, Kolibanakis EM. GnRH agonists vs antagonists. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2007; 21: 57-65
- Tarlatzis BC, Zepiridis L, Grimbizis G, Bontis J. Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review. *Hum Reprod Update.* 2003; 9: 61-76
- The European Middle East Orgalutran® Study Group. Comparable clinical outcome using the GnRH antagonist ganirelix or a long protocol of the GnRH agonist triptorelin for the prevention of premature LH surges in women undergoing ovarian stimulation. *Hum Reprod.* 2001; 16: 644-51
- The ganirelix dose-finding study group. A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). The ganirelix dose-finding study group. *Hum Reprod.* 1998; 13: 3023-31
- van Loenen AC, Huirne JA, Schats R, Hompes PG, Lambalk CB. GnRH agonists, antagonists, and assisted conception. *Semin Reprod Med.* 2002; 20: 349-64
- Vollenhoven B, Osianlis T, Catt J. Is there an ideal stimulation regimen for IVF for poor responders and does it change with age? *J Assist Reprod Genet.* 2008; 25: 523-9
- Watson CJ, Bossenmaier I, Cardinal R, Petryka ZJ. Repression by hematin of porphyrin biosynthesis in erythrocyte precursors in congenital erythropoietic porphyria. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1974; 71: 278-82

# Antioxidantes e Infertilidade Masculina

## Antioxidants and Male Infertility

Tatiana Moreira da Silva<sup>1</sup>; Mario Silva Approbato<sup>2</sup>; Mônica Canêdo Silva Maia<sup>3</sup>; Jalsi Tacon Arruda<sup>4</sup>; Fabiana Carmo Approbato<sup>5</sup>; Carolina Rodrigues de Mendonça<sup>6</sup>

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

<sup>2</sup>Professor Titular do Departamento de Gineco-Obstetrícia da Faculdade de Medicina e da Pós-graduação em Ciências da Saúde; Diretor do Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás, Goiânia (GO) - Brasil.

<sup>3</sup>Doutoranda em Ciências da Saúde na Universidade Federal de Goiás (UFG); biomédica do Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas - UFG - Goiânia (GO) - Brasil.

<sup>4</sup>Doutoranda em Ciências da Saúde na Universidade Federal de Goiás (UFG) - Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas - Goiânia (GO) - Brasil.

<sup>5</sup>Mestranda em Ciências da Saúde na Universidade Federal de Goiás - Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas - Goiânia (GO) - Brasil.

<sup>6</sup>Mestranda em Ciências da Saúde na Universidade Federal de Goiás (UFG); especialista em Fisioterapia na Saúde da Mulher pelo Centro de Estudos Avançados e Fisioterapia Integrada (CEAF) - Goiânia (GO) - Brasil.

Instituição onde foi realizado:

Laboratório de Reprodução Humana do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (UFG) - Goiânia (GO) - Brasil.

Conflito de interesses: Não há conflito de interesse.

### RESUMO

O estresse oxidativo pode afetar negativamente a qualidade do sêmen, provocando danos e disfunção dos espermatozoides. A correção deste fator com antioxidantes é controversa e tem sido extensivamente estudada. Assim, foi realizada uma revisão da literatura com base no Pubmed buscando estudos que tiveram como objetivo melhorar a qualidade do líquido seminal através do uso de antioxidantes. Encontramos estudos que confirmaram aumento nas taxas de gravidez, produção, motilidade e contagem de espermatozoides utilizando suplementação oral e outros estudos não obtiveram resultado satisfatório. A maioria dos trabalhos utilizou associação de medicamentos neste tratamento. A associação dificulta identificar qual agente é o principal responsável pelo efeito ou mesmo se ocorre interação entre as drogas.

**Palavras-Chave:** Antioxidantes; Suplementos Nutricionais; Estresse Oxidativo; Infertilidade Masculina.

### ABSTRACT

Oxidative stress can adversely affect semen quality, causing damage and dysfunction of sperm. The correction of this factor with antioxidants is controversial and has been extensively studied. It was therefore carried out a literature review based on Pubmed seeking studies that were aimed at improving the quality of seminal fluid through the use of antioxidants.

We found studies that confirmed an increase in pregnancy rates, production, motility and sperm count using oral supplementation and other studies did not obtain satisfactory results. Most studies have used drugs in this combination treatment.

**Keywords:** Antioxidants; Dietary Supplements; Oxidative Stress; Male Infertility.

### INTRODUÇÃO

Estimativas globais indicam que a infertilidade atinge entre 50 a 80 milhões de pessoas (WHO, 2012) e aproximadamente 8% dos homens em idade reprodutiva procuram assistência médica por problemas relacionados à fertilidade.

A integridade da composição do fluido seminal com seus parâmetros (motilidade, concentração, morfologia e vitalidade) é importante para a função reprodutiva (WHO, 2010). O plasma seminal humano contém antioxidantes úteis no potencial de fertilização do esperma (Atig et al., 2012). Na prática clínica, a análise do sêmen tem papel relevante na avaliação da fertilidade masculina e na literatura há uma grande variedade de fatores que afetam negativamente a qualidade do sêmen tais como o estresse oxidativo, induzido por fatores ambientais, estilo de vida e infecção, podendo prejudicar a fertilidade masculina (Esteves e Agarwal, 2011).

O estresse oxidativo é uma condição associada ao aumento da taxa de dano celular induzida por espécies reativas ao oxigênio (*Reactive Oxygen Species - ROS*) que atingem os componentes celulares, incluindo lipídios, proteínas, ácidos nucleicos e açúcares (Bansal e Bilaspuri, 2010).

O uso de antioxidantes no tratamento dessa condição tem relatos na literatura, com suposto efeito benéfico na produção, motilidade e contagem de espermatozoides. O objetivo desta revisão foi procurar estudos que testaram a eficácia da suplementação de antioxidantes em homens inférteis, numa tentativa de melhorar a qualidade do líquido seminal e aumentar as taxas de gravidez.

### MÉTODOS

Trata-se de revisão da literatura, exploratória e retrospectiva, com foco principal na busca das referências bibliográficas nas bases de dados PubMed,

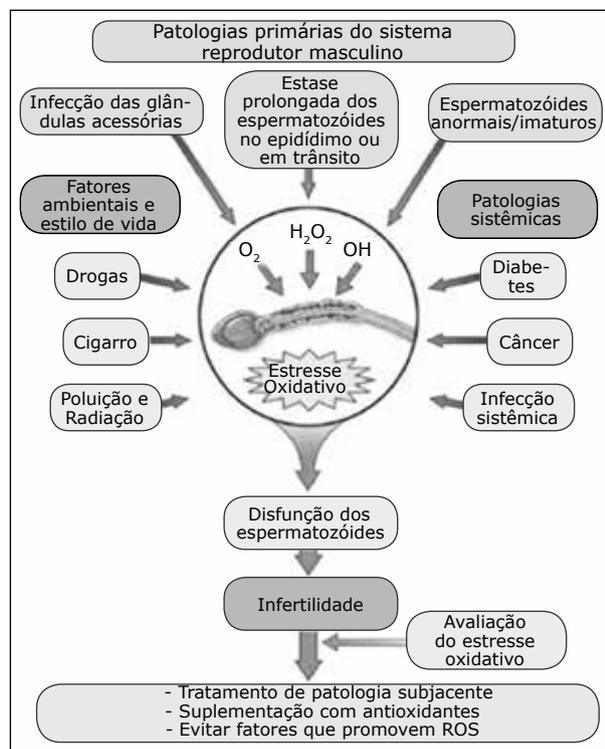
Lilacs, SciELO e MEDLINE com as seguintes palavras-chave: "Antioxidantes, Suplementos Nutricionais, Infertilidade Masculina, Estresse Oxidativo" e seus termos correspondentes na língua inglesa. A busca foi realizada durante os meses de novembro de 2011 a fevereiro de 2012. Foram encontrados 180 artigos publicados entre 2006 e 2012, e 6 obtidos por meio de "referência cruzada". Foram utilizadas neste artigo 26 referências, as quais contemplavam melhor o tema proposto. Os resumos pré-selecionados foram posteriormente lidos na versão completa.

Os critérios de inclusão foram: a) pesquisas realizadas com seres humanos; b) uso de antioxidantes em homens inférteis; c) estudos de antioxidantes que avaliaram influência positiva ou neutra na qualidade do sêmen. O critério de exclusão para a revisão foi estudos em animais.

## DISCUSSÃO

### Estresse oxidativo

O estresse oxidativo ocorre por resultado de desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio e antioxidantes no organismo (Bansal e Bilaspuri, 2010). Quando os antioxidantes naturais do esperma não podem impedir a produção exógena de ROS da própria célula, ocorre lesão às células, causando danos aos espermatozoides (Bansal e Bilaspuri, 2010; Jensen et al., 2011), fator importante na infertilidade masculina (Figura 1).



**Figura 1.** Patologias primárias do sistema reprodutor masculino, estresse oxidativo e infertilidade masculina (Modificada de Esteves e Agarwal, 2011).

### Antioxidantes

Antioxidantes são compostos biológicos e químicos que podem reduzir o dano oxidativo (Jensen et al., 2011). Eles podem ser classificados em enzimáticos e não enzimáticos (Quadro 1). Os enzimáticos são também conhecidos como antioxidantes naturais que agem

**Quadro 1.** Principais agentes de defesa antioxidantes

Antioxidantes Enzimáticos	Antioxidantes Não-Enzimáticos
Superóxido dismutase	Melatonina (produzida pelo organismo)
Catalase	Ácido ascórbico – vitamina C
NADPH-quinona oxidoreductase	Alfa-tocoferol – vitamina E
Glutathione peroxidase	Beta-caroteno – vitamina A
Glutathione transferase	Ácido fólico
Enzimas de reparo	Selênio
	Cobre
	Zinco
	Magnésio
	Fosfato
	Flavonóides
	Proteínas do plasma
	N-acetilcisteína
	Glutathione
	Clorofilina
	L-cisteína
	L-carnitina
	Curcumina
	Pentoxifilina
	Coenzima Q10
	Ômega-3

neutralizando o excesso de ROS, prevenindo danos à estrutura celular. Não enzimáticos são antioxidantes sintéticos ou suplementos alimentares (Silva et al., 2010). No líquido seminal há antioxidantes naturais que neutralizam o estresse oxidativo e podem ser complementados pela dieta ou suplementação alimentar (Jensen et al., 2011).

A justificativa para o uso de terapias alternativas pela suplementação é baseada na suposição de que podem melhorar o potencial de fertilidade masculina e a qualidade do sêmen (Ahmad et al., 2010).

### Efeitos dos antioxidantes na qualidade do sêmen

Com base em evidência científica, inúmeros estudos têm avaliado o uso de antioxidantes para melhorar a qualidade do esperma e assim, a fertilidade. Estes produtos foram utilizados individualmente ou em combinação, e se diferem quanto ao tipo, à população-alvo, dose e duração da terapia (Tempest et al., 2008).

Ortiz et al. (2011) relataram recentemente que o uso de melatonina pode melhorar os parâmetros de motilidade dos espermatozoides em comparação a grupos não tratados, sugerindo melhora na produção de ATP nas mitocôndrias.

Em estudo controlado randomizado em homens com oligoastenozoospermia idiopática, Ghanem et al. (2010) demonstraram eficácia no tratamento combinado de citrato de clomifeno e vitamina E. Houve aumento da taxa de gravidez, melhora na motilidade e na contagem dos espermatozoides com resultados significativamente melhores no grupo tratado em comparação ao grupo placebo.

A suplementação com vitamina E também tem demonstrado resultados significativos na criopreservação de espermatozóides em pacientes inférteis com normozoospermia e astenozoospermia. Observaram melhora da motilidade espermática e na manutenção da integridade do DNA pós-descongelamento (Kalthur et al., 2011).

Pacientes com astenozoospermia foram divididos em dois grupos; o primeiro tratado com L-carnitina e vitamina E, e o segundo grupo somente com vitamina E. Após o tratamento, a taxa de gravidez foi significativamente maior no primeiro grupo (31,1%) do que no segundo grupo (3,8%) e nenhum evento adverso foi encontrado durante o tratamento (Wang et al., 2010).

Homens inférteis foram tratados durante três meses, pela combinação de L-carnitina, L-arginina, zinco, vitamina E, glutathione, selênio, co-enzima Q10 e ácido fólico. Os resultados indicaram aumento significativo do volume ejaculatório, concentração de espermatozóides, motilidade (progressiva e total) e da percentagem de morfologia normal, em comparação ao grupo controle. Não foram encontrados efeitos adversos e 34 gestações foram relatadas após seis meses de tratamento (Imhof et al., 2011).

Durante três meses, homens inférteis foram tratados com *Withania somnifera*, conhecida como Ginseng indiano, e após o tratamento a concentração e volume seminal aumentou significativamente em homens com normozoospermia e oligozoospermia, mas não investigaram as taxas de gravidez após o tratamento (Ahmad et al., 2010).

Homens com fator de infertilidade masculina severa foram incluídos em um estudo randomizado, duplo-cego utilizando suplementação oral com antioxidante. Uma combinação de vitamina C, zinco, vitamina E, ácido fólico, selênio e óleo de alho foram utilizados. Houve melhora significativa na taxa de gravidez viável (38,5% dos embriões transferidos), em comparação ao grupo controle (16% de gravidez) [Tremellen et al., 2007].

Empregando-se a mesma combinação de antioxidantes do estudo anterior, administrado uma vez ao dia durante três meses, resultou em melhorias significativas na integridade do DNA de espermatozóides, acompanhada por uma redução na produção de ROS seminal e apoptose. Não ocorreram alterações significativas na concentração, motilidade e morfologia (Tunc et al., 2009).

Melhores taxas de gravidez foram registradas, após suplementação pelos parceiros, com dieta rica em beta-caroteno, vitamina C, vitamina E e zinco durante 3 meses, em casais com história de perda de embriões recorrente (Gil-Villa et al., 2009).

Estudo randomizado em pacientes com astenozoospermia usando terapia exclusiva de zinco e em combinação com antioxidantes naturais como vitaminas C e E mostrou melhora importante na qualidade dos espermatozóides com aumento da motilidade e na integridade da membrana do gameta (Omu et al., 2008).

Em estudo duplo cego, placebo controlado, Ebisch et al. (2006) encontraram aumento de espermatozóides após tratamento diário com ácido fólico (5 mg/dia) e sulfato de zinco (66mg/dia). Os resultados indicaram aumento da concentração de espermatozóides em homens inférteis sem relação com alterações nos níveis de testosterona, FSH ou concentrações de inibina B.

Outro estudo randomizado, duplo cego, placebo controlado, administrou pentofixifilina via oral, em homens inférteis e observou melhora na concentração

e motilidade dos espermatozóides, porém, não avaliou as taxas de gravidez (Safarinejad, 2011A).

Homens inférteis com oligoastenoteratozoospermia idiopática usaram suplementação com ácidos graxos ômega-3 por 32 semanas, e observou-se incremento na qualidade do sêmen em comparação ao grupo placebo, porém sem abordar taxas de gravidez no grupo tratado (Safarinejad, 2011B).

Pacientes com infertilidade idiopática foram tratados com antioxidantes lipofílicos e Coenzima Q10 em estudo randomizado placebo controlado. Nesta terapia houve aumento da taxa de gravidez, do volume de plasma seminal e da motilidade dos espermatozóides (Balercia et al., 2009).

Por outro lado, nenhum impacto significativo sobre gravidez espontânea foi encontrado após terapia incluindo vários antioxidantes (vitamina A, vitamina C, vitamina E, N-acetilcisteína, zinco, tiamina, riboxavin, piridoxina, nicotinamida, pantotenato, biotina, cianocobalamina, ergocalciferol, cálcio, magnésio, fosfato, ferro, manganês e cobre), mas se mostrou eficaz na melhora da contagem de espermatozóides (Paradiso Galatioto et al., 2008).

Por outro lado Safarinejad e Safarinejad (2009) encontraram melhora nos parâmetros seminais, sem efeitos colaterais, em um estudo randomizado, duplo-cego, placebo controlado, ao utilizar suplementação oral com selênio e N-acetilcisteína em homens com oligoastenoteratozoospermia idiopática.

O açafraão (*Crocus sativus*) administrado em homens com infertilidade idiopática pode apresentar efeito positivo na morfologia e motilidade dos espermatozóides, sem aumento no número dessas células (Heidary et al., 2008). Ao contrário do trabalho anterior, Safarinejad et al. (2011) em estudo randomizado placebo controlado com esta mesma raiz, não encontraram melhora significativa nos parâmetros seminais. Houve queda significativa dos leucócitos e células vermelhas do sangue periférico. Desta forma esses autores alertam para o uso potencialmente perigoso se for prolongado e em altas doses.

Em 2002 foi realizado um estudo duplo-cego, randomizado, controlado, avaliando a suplementação de zinco (66 mg/dia) e ácido fólico (5 mg/dia) em homens férteis e subférteis. Homens subférteis demonstraram um aumento significativo de 74% na contagem total de espermatozóides normais e um pequeno aumento de 4% de espermatozóides anormais, sem referir qual parâmetro. No entanto, não foi estabelecido se a melhora na concentração espermática observada após a administração de ácido fólico e zinco poderia aumentar a probabilidade de alcançar gravidez (Wong et al., 2002).

### Considerações finais

Avaliamos os relatos da literatura sobre tratamento antioxidante para homens inférteis com intuito de melhorar a função do esperma e aumentar as taxas de gravidez. Alguns trabalhos relatam aumento na produção e motilidade de espermatozóides, além de melhoras na taxa de gravidez. Outros não obtiveram o mesmo sucesso. Ensaio clínicos randomizados definindo melhor os parâmetros avaliados, dose ideal de antioxidantes e prováveis efeitos adversos como danos ao DNA espermático ou ao embrião em desenvolvimento são necessários. A heterogeneidade dos parâmetros avaliados dificulta a comparação dos trabalhos ocasionando falta de padronização dos tratamentos. Entretanto, a investigação minuciosa da infertilidade pode contribuir no sucesso da gravidez.

**Endereço para correspondência**

Tatiana Moreira da Silva  
Hospital das Clínicas da UFG –  
Laboratório de Reprodução Humana  
Primeira Avenida, s/nº  
Setor Leste Universitário, Goiânia- GO, Brasil.  
CEP: 74605-020  
Telefone: (62) 3269-8378  
E-mail: tatiana.more@hotmail.com

**REFERÊNCIAS**

- Ahmad MK, Mahdi AA, Shukla KK, Islam N, Rajender S, Madhukar D, et al. *Withania somnifera* improves semen quality by regulating reproductive hormone levels and oxidative stress in seminal plasma of infertile males. *Fertil Steril*. 2010;94:989-96.
- Atig F, Raffa M, Ali HB, Abdelhamid K, Saad A, Ajina M. Altered antioxidant status and increased lipid per-oxidation in seminal plasma of Tunisian infertile men. *Int J Biol Sci*. 2012;8:139-49.
- Balercia G, Buldreghini E, Vignini A, Tiano L, Paggi F, Amoroso S, et al. Coenzyme Q10 treatment in infertile men with idiopathic asthenozoospermia: a placebo-controlled, double-blind randomized trial. *Fertil Steril*. 2009;91:1785-92.
- Bansal AK, Bilaspuri GS. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Vet Med Int*. 2010;1-7.
- Ebisch IM, Pierik FH, DE Jong FH, Thomas CM, Steegers-Theunissen RP. Does folic acid and zinc sulphate intervention affect endocrine parameters and sperm characteristics in men? *Int J Androl*. 2006;29:339-45.
- Esteves SC, Agarwal A. Novel concepts in male infertility. *Int Braz J Urol*. 2011;37:5-15.
- Ghanem H, Shaer O, El-Segini A. Combination clomiphene citrate and antioxidant therapy for idiopathic male infertility: a randomized controlled trial. *Fertil Steril* 2010;93:2232-5.
- Gil-Villa AM, Cardona-Maya W, Agarwal A, Sharma R, Cadavid A. Role of male factor in early recurrent embryo loss: do antioxidants have any effect? *Fertil Steril*. 2009;92:565-71.
- Heidary M, Vahhabi S, Reza Nejadi J, Delfan B, Birjandi M, Kaviani H, Givrad S. Effect of saffron on semen parameters of infertile men. *Urol J*. 2008;5:255-9.
- Imhof M, Lackner J, Lipovac M, Chedraui P, Riedl C. Micronutrient supplementation increases sperm quality in the sub-fertile male. *Europ Urol Rev*. 2011;6:120-23.
- Jensen TK, Skakkebaek NE, Jørgensen N, Jensen MB, Juul A. Antioxidants and male subfertility--a survey of a Cochrane review. *Ugeskr Laeger*. 2011;173:3253-5.
- Kalthur G, Raj S, Thiyagarajan A, Kumar S, Kumar P, Adiga SK. Vitamin E supplementation in semen-freezing medium improves the motility and protects sperm from freeze-thaw-induced DNA damage. *Fertil Steril*. 2011;95:1149-51.
- Omu AE, Al-Azemi MK, Kehinde EO, Anim JT, Oriowo MA, Mathew TC. Indications of the mechanisms involved in improved sperm parameters by zinc therapy. *Med Princ Pract*. 2008;17:108-16.
- Ortiz A, Espino J, Bejarano I, Lozano GM, Monllor F, García JF, et al. High endogenous melatonin concentrations enhance sperm quality and short-term *in vitro* exposure to melatonin improves aspects of sperm motility. *J Pineal Res*. 2011;50:132-9.
- Paradiso Galatioto G, Gravina GL, Angelozzi G, Sacchetti A, Innominato PF, Pace G, et al. May antioxidant therapy improve sperm parameters of men with persistent oligospermia after retrograde embolization for varicocele? *World J Urol*. 2008;26:97-102.
- Safarinejad MR, Safarinejad S. Efficacy of selenium and/or N-acetyl-cysteine for improving semen parameters in infertile men: a double-blind, placebo controlled, randomized study. *J Urol*. 2009;181:741-51.
- Safarinejad MR, Shafiei N, Safarinejad S. A prospective double-blind randomized placebo-controlled study of the effect of saffron (*Crocus sativus* Linn.) on semen parameters and seminal plasma antioxidant capacity in infertile men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Phytother Res*. 2011;25:508-16.
- Safarinejad MR. Effect of pentoxifylline on semen parameters, reproductive hormones, and seminal plasma antioxidant capacity in men with idiopathic infertility: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Int Urol Nephrol*. 2011;43:315-28. (A)
- Safarinejad MR. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on semen profile and enzymatic anti-oxidant capacity of seminal plasma in infertile men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia: a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *Andrologia*. 2011;43:38-47. (B)
- Silva FM, Marques A, Chaveiro A. Reactive oxygen species: a double-edged sword in reproduction. *Open Vet Sci J*. 2010;4:127-33.
- Tempest HG, Homa ST, Routledge EJ, Garner A, Zhai XP, Griffin DK. Plants used in Chinese medicine for the treatment of male infertility possess antioxidant and anti-oestrogenic activity. *Syst Biol Reprod Med*. 2008;54:185-95.
- Tremellen K, Miari G, Froiland D, Thompson J. A randomised control trial examining the effect of an antioxidant (Menevit) on pregnancy outcome during IVF-ICSI treatment. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2007;47:216-21.
- Tunc O, Thompson J, Tremellen K. Improvement in sperm DNA quality using an oral antioxidant therapy. *Reprod Biomed Online*. 2009;18:761-68.
- Wang YX, Yang SW, Qu CB, Huo HX, Li W, Li JD, et al. L-carnitine: safe and effective for asthenozoospermia. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2010;16:420-22.
- WHO - World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. Laboratory manual for the examination and processing of human semen. Fifth ed. 2010.
- WHO - World Health Organization. Genomic resource centre: Assisted Reproductive Technologies (ARTs). In: WHO. Infertility: a tabulation of available data on prevalence of primary and secondary infertility. WHO: Geneva. Programme on Maternal and Child Health and Family Planning, Division of Family Health. 1991. Acesso em: 09 de março de 2012. Disponível em: <http://www.who.int/genomics/gender/en/index6.html>
- Wong WY, Merkus HM, Thomas CM, Menkveld R, Zielhuis GA, Steegers-Theunissen RP. Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Fertil Steril*. 2002;77:491-98.

# Idade masculina: qualidade do sêmen e fertilidade

## Idade masculina X qualidade seminal

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

<sup>1</sup>Centro de Reprodução Humana Professor Franco Jr, Ribeirão Preto, Brasil

<sup>2</sup>Centro Paulista de Diagnóstico, Pesquisa e Treinamento, Ribeirão Preto, Brasil

<sup>3</sup>Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu UNESP - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, Brasil

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

### RESUMO

A idade avançada do homem parece influenciar na função reprodutiva porém em menor grau quando comparada com a idade da mulher. De fato, o efeito da idade paterna na qualidade do sêmen tem sido discutido porém os resultados são contraditórios. Considerando os diferentes resultados dos estudos, esta revisão tem como objetivo analisar os dados da literatura no que diz respeito a influência da idade paterna nos parâmetros seminais (volume, concentração, motilidade e morfologia), nos danos de DNA espermático, nos resultados de reprodução assistida e em doenças genéticas

**Palavras-chave:** parâmetros seminais, idade masculina, reprodução assistida

### ABSTRACT

The man's age seems to affect reproductive function but to a lower degree compared with the woman's age. In fact, the effect of paternal age on semen quality has been discussed, but the results are contradictory. Considering the differences in the results of studies, this review aimed to analyze the literature regarding the effect of paternal age on semen parameters (volume, concentration, motility and morphology) in sperm DNA damage in assisted reproduction results and genetic diseases.

**Keywords:** seminal parameters, male age, assisted reproduction

### INTRODUÇÃO

Aproximadamente 15% dos casais são inférteis, e mais de um quarto dos casos podem ser atribuídos a fator masculino. Ao contrário das mulheres não há para os homens limite etário crítico conhecido para produção de gameta. No entanto, tem sido reportada associação entre a idade paterna avançada e alterações na qualidade do sêmen e/ou a risco maior de infertilidade. Essa possível relação assume particular importância quando se considera a tendência atual entre os casais de postergar a reprodução. Além disso, a idade paterna avançada tem sido implicada no aumento da frequência de abortos espontâneos (de la Rochebrochard & Thonneau 2002; Slama et al. 2005) e de patologias autossômicas dominantes, aneuploidias e outras doenças na prole (Schmid et al. 2007; Wyrobek et al. 2006).

Dessa forma, compreender os efeitos da idade sobre a fertilidade é relevante especialmente quando se observa que os aumentos na expectativa de vida e na disponibilidade de tecnologias de reprodução assistida elevaram a oportunidade dos homens terem filhos em idades mais avançadas.

Tendo por base essas considerações, o objetivo dessa revisão foi analisar a associação entre a idade e a qualidade do sêmen e a fertilidade masculina.

### A – Parâmetros Seminais

A fisiopatologia do impacto da idade nos parâmetros seminais pode ocorrer tanto devido a efeitos específicos da idade por si só quanto por fatores associados como doenças vasculares, obesidade, infecções das glândulas reprodutivas ou acúmulo de substâncias tóxicas.

O efeito da idade paterna na qualidade do sêmen tem sido discutido na literatura porém os resultados não são concordantes. Alguns artigos têm demonstrado uma deterioração do sêmen com o aumento da idade (Spandorfer et al. 1998) porém outros estudos não tem relatado o mesmo (Berling & Wolner-Hanssen 1997). Deve ser destacado contudo que o desenho dos diferentes trabalhos publicados e as respectivas populações são bastante heterogêneos. Enquanto alguns utilizaram voluntários, outros basearam a pesquisa em populações de clínicas de infertilidade. Essa diferença dificulta a interpretação dos resultados.

### A1) Volume

A maioria dos estudos reporta uma diminuição no volume do sêmen em relação ao avanço da idade do homem. Rolf et al. (1996) avaliaram 117 homens inférteis que foram randomizados em 3 grupos sendo 39 homens em cada: grupo A: homens > 50 anos, grupo B: < 30 anos, combinados (matched) com os pacientes do grupo A de acordo com o ano da sua primeira visita à clínica e grupo C: < 30 anos combinados (matched) com os pacientes do grupo A de acordo idade da esposa. O volume e a motilidade no grupo A foram menores em comparação aos grupos B e C.

Fisch et al. (1996) e Andolz et al. (1999) relataram que a diminuição do volume é mais notada em homens acima de 50 anos. Os autores investigaram a idade como uma variável contínua e encontraram diminuição do volume seminal na proporção de 0,15% (Fisch et al. 1996) e

0,5% (Andolz et al. 1999) para cada ano acrescido na idade. Spandorfer et al. (1998) analisaram 821 casos de ICSI e observaram um declínio no volume do sêmen de 0,6ml em pacientes com idade  $\geq$  50anos comparado com homens com idade  $\leq$ 30anos. Brahem et al. (2011) avaliaram os parâmetros seminais de 140 homens inférteis e férteis com idade entre 24-70 anos e observaram que tanto homens férteis quanto inférteis apresentaram uma diminuição de volume, que variou de 0,4 a 0,8 ml no homens com idade  $\geq$ 50 anos comparado com os mais novos ( $<$  50 anos). Mais recentemente, Mukhopadhyay et al. (2010) avaliando os parâmetros seminais de 3.729 homens, entre as décadas de 1980 e 2000, observaram mudanças significativas no volume e motilidade espermática correlacionada com a idade do homem.

São poucos os relatos que não encontraram correlação entre o volume espermático e a idade do homem (Berling & Wolner-Hanssen 1997; Haidl et al. 1996). Alguns estudos relataram uma diminuição no volume em homens mais jovens (21 - 25 anos) e nos homens mais velhos (46 - 50 anos) , com volume maior nos homens com idade entre 26 - 45 anos (Berling & Wolner-Hanssen 1997; Haidl et al. 1996).

É importante destacar que a maioria dos estudos não procedeu a controle de potenciais fatores de confusão (fumo, álcool, etiologia da infertilidade, etc). Existem evidências na literatura de que o intervalo de abstinência aumenta o volume (Andolz et al. 1999). Maior duração da abstinência em homens mais velhos poderia ser um viés responsável pela contradição entre os resultados.

## A2) Concentração

Não existe um consenso em relação à influência da idade masculina na concentração espermática. Alguns estudos relataram uma diminuição da concentração de espermatozoides com aumento da idade (Haidl et al. 1996; Luna et al. 2009). Nesse estudo os autores observaram uma diminuição na concentração espermática de 3,3% por ano. Haidl et al. (1996) avaliaram 29 homens com idade entre 45 - 69 anos e 35 homens entre 26 - 35 anos e constataram quase metade da concentração de espermatozoides no grupo mais velho em comparação ao grupo mais jovem. Aboulghar et al. (2007) avaliaram 454 homens que foram divididos em 2 grupos: Grupo A: 227 homens  $\geq$  50 anos e Grupo B: 227 homens  $<$  50 anos. Os autores observaram uma diferença significativa ( $P=0,05$ ) na contagem de espermatozoides (Grupo A:  $39.0 \pm 26.3$  milhões/ml, Grupo B:  $46.0 \pm 32$  milhões/ml). Luna et al. (2009) avaliando um total de 672 homens que foram divididos em 3 grupos: Grupo A: 233 homens  $<$  40 anos, Grupo B: 323 homens 40 - 49 anos e Grupo C: 116 homens  $>$  50 anos, encontraram queda significativa ( $P<0,05$ ) na concentração espermática no grupo mais velho (Grupo C:  $58.6 \pm 56.5$  milhões/ml) quando comparado aos grupos mais jovens (Grupo A:  $75.5 \pm 54.6$  milhões/ml, Grupo B:  $76.2 \pm 62$  milhões/ml)

Por outro lado, outros estudos relataram que a concentração do sêmen aumenta com a idade (Andolz et al. 1999; Fisch et al. 1996). Andolz et al. (1999) e Fisch et al. (1996), que ajustaram os resultados considerando fatores potenciais de confusão, relatam aumentos de 0,03% a 3,3% na concentração do esperma por cada ano de vida

Entretanto, alguns estudos demonstraram pouco ou nenhuma associação entre a idade e a concentração de espermatozoides (Bellver et al. 2008; Berling & Wolner-Hanssen 1997; Frattarelli et al. 2008; Spandorfer et al. 1998).

## A3) Motilidade

A maioria dos autores observaram que a motilidade dos espermatozoides diminuem com o avanço da idade (Aboulghar et al. 2007; Haidl et al. 1996; Slotter et al. 2006; Winkle et al. 2009; Zhu et al. 2011).

Haidl et al. (1996) reportaram uma diminuição de 7.3% na motilidade dos espermatozoides de homens mais velhos (idade entre 45 - 69 anos) em comparação a homens mais jovens (idade entre 26 - 35 anos). Slotter et al. (2006) observaram um declínio na motilidade, na progressão e na velocidade dos espermatozoides dos homens com idade 50 anos.

Em sua análise Aboulghar et al. (2007) mostraram motilidade significativamente menor ( $P<0,0001$ ) no grupo de homens mais velhos (idade  $>$  50 anos:  $37,4 \pm 20,4\%$ ) versus grupo de homens mais jovens (idade  $<$  50 anos:  $46,4 \pm 15,5\%$ ). Winkle et al. (2009) descreveram decréscimo na motilidade dos espermatozoides com o aumento da idade:  $<$  30anos:  $52.52 \pm 17.84\%$ , 30 - 35 anos:  $47.3 \pm 19.36\%$ , 36 - 39 anos:  $46.46 \pm 19.09\%$  ,  $\geq$ 40 anos : $42.8 \pm 19.67\%$ . Zhu et al. (2011) avaliaram os parâmetros seminais de 998 homens com idade entre 20 - 60 anos. Os autores demonstraram que a idade está correlacionada negativamente com a motilidade progressiva, vitalidade e porcentagem de espermatozoides normais

Contudo, alguns autores não encontraram correlação da motilidade com a idade (Frattarelli et al. 2008; Klonoff-Cohen & Natarajan 2004; Spandorfer et al. 1998).

## A4) Morfologia

Vários estudos tem avaliado a correlação entre a idade e a morfologia do esperma, com grande parte desses relatando uma diminuição na porcentagem de espermatozoides normais (Andolz et al. 1999; Haidl et al. 1996; Rolf et al. 1996) apesar de nem sempre estatisticamente significativa. Haidl et al. (1996) observaram que os homens com idade entre 45 e 69 anos apresentaram uma diminuição na morfologia de 5,8% quando comparado com os homens mais jovens de 26 - 35 anos. Além disso, destacam o aumento na porcentagem de espermatozoides microcéfalos e com anormalidade de cauda. Em estudo retrospectivo com 20.411 homens entre 1960 e 1996, Andolz et al. (1999) evidenciaram queda estatisticamente significativa ( $P < 0,001$ ) de 3,6% ao ano na porcentagem de espermatozoides normais. Aboulghar et al. (2007) observaram que os homens  $\geq$  50 anos apresentaram uma diminuição na morfologia de 7.3% quando comparado com o grupo  $<$  50 anos.

Por outro lado, diferentes estudos não encontraram nenhuma correlação com a idade e a morfologia (Berling & Wolner-Hanssen 1997; Frattarelli et al. 2008; Nijs et al. 2011; Spandorfer et al. 1998; Winkle et al. 2009). Entretanto, variações entre os critérios de classificação morfológica dos espermatozoide dificultam comparações entre os trabalhos sobre a relação com a idade.

Bartoov et al. (2002) descreveram uma nova metodologia para análise morfológica dos espermatozoides humanos. Esta consiste na avaliação através da utilização de microscópio com lentes Normaski e objetivas específicas (imersão de 100x) que permitem uma maior ampliação do espermatozoide ( $\geq$ 6000x) comparada com a ampliação utilizada nos métodos tradicionais de avaliação da morfologia espermática (1000x). Essa metodologia denominada MSOME (motile sperm organelle morphology examination) possibilita a observação detalhada dos espermatozoides dando particular ênfase na presença de vacúolos nucleares que estão associados a danos

do DNA (Franco et al. 2008; 2011; Oliveira et al. 2010). Braga et al. (2011) analisaram amostras de sêmen de 50 pacientes pelo MSOME encontraram correlação positiva entre a idade e a presença de vacúolos nucleares

### B – Dano do DNA Espermático

Diferentes estudos tem demonstrado uma correlação positiva da idade com dano de DNA do sêmen (Belloc et al. 2009; Cocuzza et al. 2008; Colin et al. 2010; Moskovtsev et al. 2006; Vagnini et al. 2007; Wyrobek et al. 2006). Wyrobek et al. (2006) avaliando os parâmetros do sêmen, fragmentação do DNA, integridade da cromatina, mutações genéticas e anormalidades cromossômicas em 97 homens com idade entre 20 - 80 anos, observaram uma correlação positiva entre a idade e o nível de fragmentação do DNA.

Moskovtsev et al. (2006) analisaram 1.125 amostras de sêmen e avaliaram a fragmentação do DNA. Os pacientes foram subdivididos pela idade, entre 30 e 45 anos (n=979 / 87%), < 30 anos (n = 57/ 5%) e >45 anos (n = 89 / 8%). O grupo de homens mais velhos (3 45anos) apresentou níveis mais elevados de fragmentação do DNA em comparação com os demais grupos.

Vagnini et al. (2007) avaliaram a influência da idade sobre o dano de DNA espermático de 508 homens que foram divididos em 3 grupos: grupo I: ≤ 35 anos, grupo II: 36-39 anos e grupo III: ≥ 40 anos. Observaram que a fragmentação do DNA foi significativamente menor no grupo I do que no grupo II ou III. Além disso, demonstraram um aumento significativo no dano do DNA com o aumento da idade (r=0,10, P = 0,02).

Belloc et al. (2009) em estudo retrospectivo incluído 1.769 pacientes observaram correlação positiva baixa (r = 0,16 ) mas estatisticamente significativa (P < 0,001); entre a fragmentação do DNA espermático e a idade

Colin et al. (2010) avaliaram homens com idade entre 20 e 68 anos que foram divididos em 5 grupos: Grupo 1: 20 – 30 anos, Grupo 2: 31 – 40 anos. Grupo 3: 41 – 50 anos, Grupo 4: 51 – 60 anos e Grupo 5: 61 – 70 anos. Observaram um aumento na fragmentação do DNA espermático nos homens com mais de 41 anos.

Os danos no DNA espermático estão relacionados com diferentes situações patogênicas dependente da idade (ex; infecções genitais, câncer, drogas varicocele), a maioria delas associadas com alterações nos níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS / reactive oxygen species). O sêmen é um líquido biológico formado por plasma seminal, que contém produtos bioquímicos essenciais, tais como os antioxidantes (Agarwal et al. 2008; Tremellen 2008), além de diferentes células: espermatozoides maduros e imaturos, células redondas em diferentes estágios da espermatogênese, leucócitos e células epiteliais (Agarwal et al. 2008). Destes diferentes tipos de células os leucócitos e os espermatozoides são as principais fontes de produção de ROS, como por exemplo, íons de oxigênio, radicais livres e peróxidos (Tremellen 2008). A produção de ROS pelos espermatozoides correlaciona inversamente com seu estado de maturidade celular. Os espermatozoides imaturos são frequentemente caracterizados pela presença de excesso de resíduos citoplasmáticos (Tremellen 2008). Essas estruturas, são resultados de uma espermatogênese defeituosa responsáveis por uma grande produção de ROS (Agarwal et al. 2008). As ROS danificam a membrana espermática, reduzem a motilidade dos espermatozoides e alteram diretamente o DNA espermático (Tremellen 2008).

Contudo, outros estudos não demonstraram correlação entre a idade e os danos de DNA (Brahem et al. 2011;

Winkle et al. 2009). Winkle et al. (2009) avaliando os parâmetros seminais e o DNA fragmentação de 320 homens divididos em quatro grupos: < 30 anos, 30 - 35 anos, 36-39 anos e ≥ 40 anos, não observaram mudança na fragmentação do DNA de espermatozoides provenientes de homens mais velhos. Brahem et al. (2011) analisaram amostras de sêmen de 140 pacientes inférteis (24 - 76 anos) e 50 homens com a fertilidade comprovada (25 - 65 anos). Não houve correlação entre a idade e o nível de fragmentação do DNA em nenhum dos grupos.

### C - Genética

Apesar de relatos contraditórios, as evidências sugerem que o aumento da idade masculina está associado com uma alta frequência de doenças genéticas recessivas e dominantes ligadas ao cromossomo X, aneuploidias, mutações, apoptose, imprinting genético e outras anormalidades cromossômicas (Belloc et al. 2009; Cocuzza et al. 2008; Moskovtsev et al. 2006). Tais observações poderiam ser explicadas pelo fato de que as células germinativas masculinas passarem por muitas e contínuas replicações mitóticas (± 850 até os 50 anos), podendo ocorrer algum erro na duplicação do DNA devido ao envelhecimento. Estima-se que as células da espermatogônias se dividem 30 vezes antes da puberdade e depois disso a cada 16 dias (Crow 1999). Além disso, podem ser incluídos como mecanismos idade-relacionados de possível indução de alterações genética o acúmulo de danos de origem ambiental, a redução da eficiência de reparo do DNA, o aumento da instabilidade genômica, influências hormonais, supressão da apoptose e diminuição da eficácia dos antioxidantes e micronutrientes. Rives et al. (2002) avaliaram a frequência de aneuploidia nos espermatozoides em 16 homens com idade entre 47 e 71 anos. Os autores observaram que a idade esta relacionada com alterações na separação do cromossomo na primeira e na segunda divisão meiótica. O avanço da idade paterna é, portanto, considerado importante causa de novas mutações em populações humanas (Crow 1999) e poderia ser responsável por um acúmulo de mutações no pool genético humano, levando possivelmente a uma maior incidência de desordens genéticas recessivas. No entanto, a demonstração de um efeito da idade paterna sobre distúrbios citogenéticos em estudos epidemiológicos não é tarefa fácil devido ao pequeno número de indivíduos afetados por cada síndrome e porque os embriões cromossomicamente anormais são perdidos em diferentes estágios no útero levando a viés de averiguação. Além disso, por vezes não possível fazer a diferenciação entre efeitos maternos e paternos.

### D) Fertilidade

Estudos relatam uma diminuição variando de 20% a 38% nas taxas de gravidez com aumento da idade masculina (Rolf et al. 1996). Ford et al. (2000) evidenciaram declínio da fecundidade em homens mais velhos. Em estudo com 8.515 casais planejando gravidez observaram que o aumento da idade paterna está correlacionado positivamente a atraso na concepção. Cocuzza et al. (2008) sugerem que a paternidade tardia pode reduzir as chances de engravidar e que com o avanço da idade os homens se tornam menos férteis.

Por outro lado, o efeito da idade masculina nos resultados de reprodução assistida é conflitante. Alguns trabalhos defendem influência negativa da idade no desenvolvimento embrionário, taxas de fertilização,

implantação e gravidez. Klonoff-Cohen & Natarajan (2004) em um estudo retrospectivo considerando 221 casais submetidos a FIV, avaliaram os efeitos do idade paterna nos resultados. A cada ano adicional a idade paterna foi associada com aumento de 11% nas chances de não conseguir uma gravidez. Para o primeiro ciclo de FIV, cada ano adicional de idade paterna foi associado com uma probabilidade 5% maior de não conseguir uma gravidez, enquanto que para os ciclos seguintes de FIV a probabilidade foi de 40%. Em uma análise incluindo mais de 1,938 casais submetidos a FIV, de La Rochebrochard et al. (2006) mostraram um efeito claro do aumento da idade paterna nos resultados, concluindo que homens com mais de 40 anos apresentam maior risco de não conseguirem engravidar suas parceiras devido ao envelhecimento biológico.

Contudo, a maioria dos estudos não demonstraram correlação positiva entre idade masculina e os resultados dos tratamentos de reprodução assistida (Frattarelli et al. 2008; Klonoff-Cohen & Natarajan 2004; Luna et al. 2009; Spandorfer et al. 1998). Spandorfer et al. (1998) analisaram 821 casos de ICSI para investigar a influência da idade materna e paterna. Os autores concluíram que o resultado de gravidez após ICSI não está relacionado com a idade paterna. Aboulghar et al. (2007) em um estudo retrospectivo com 454 casais não encontraram influência estatisticamente significativa da idade paterna nas taxas de gravidez. Duran et al. (2010) relataram que a qualidade do embrião e as taxas gravidez clínica, implantação, aborto e de nascidos não são afetadas com o avanço da idade do homem. Dain et al. (2011) através de uma revisão na literatura avaliaram a associação entre a idade paterna e os resultados das técnicas em reprodução assistida. Os estudos incluídos na revisão não mostraram correlação entre a idade paterna avançada e as taxas de fertilização, implantação, gravidez, aborto e nascimento. A idade paterna não afetou a qualidade dos embriões na fase de clivagem. No entanto, uma diminuição significativa na formação de blastocisto foi associada com a idade paterna avançada, provavelmente refletindo a ativação genômica de origem paterna nos embriões. Estudos avaliando o impacto da idade do homem em ciclos de doação de oócitos de doadoras também relatam resultados contraditórios. Alguns não apresentam relação com a idade do homem e os resultados (Bellver et al. 2008). Whitcomb et al. (2011) em estudo retrospectivo avaliando a relação entre a idade masculina e taxas de gravidez em 1392 ciclos de doação de oócito observaram que quando o número de ciclos de tratamento e idade feminina foram considerados, a idade masculina não teve associação significativa com as taxas de gravidez. Contudo Frattarelli et al. (2008) observaram que homens com > 50 anos apresentam uma diminuição nas taxas de gravidez e na formação de blastocistos. Além disso, Luna et al. (2009) observaram um declínio nas taxas de fertilização com o avanço da idade masculina.

Outro ponto de consideração são as evidências de um risco crescente de morte fetal e aborto com idade paterna avançada. Em uma análise retrospectiva, incluindo mais de 3.174 casais de la Rochebrochard & Thonneau (2002) reportaram que em mulheres com 20 - 29 anos de idade, o risco de aborto não era significativamente influenciado pela idade do homem. Em mulheres com 30 - 34 anos de idade, o risco de aborto foi maior quando os parceiros tinham com <sup>3</sup> 40 anos. Mulheres com  $\geq$  35 anos apresentaram risco de abortamento independente da idade do homem.

Outra análise retrospectiva com 2.414 gestações e uma taxa de 12,2% de aborto espontâneo confirma os efeitos

deletérios da idade paterna. Foi observado que o risco de aborto espontâneo aumenta significativamente quando os homens têm 35 anos ou mais (Slama et al. 2005).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados de literatura sugerem risco de redução na qualidade do sêmen e na fertilidade associado ao aumento na idade masculina. Esta observação tem importância quando se considera a tendência na sociedade para o adiamento da paternidade. Porém, devido à diversidade de resultados encontrados, para conclusões definitivas, estudos futuros examinando a relação entre a idade masculina e qualidade do sêmen e / ou fertilidade ainda são necessários. Contudo, deve-se ser destacado que é essencial a inclusão de grandes amostras populacionais e aplicação de rigor metodológico para melhoria na confiabilidade dos resultados. Outras tecnologias de avaliação da qualidade seminal como o MSOME, também deveriam ser analisados.

## Correspondência

João Batista Alcantara Oliveira  
Centro de Reprodução Humana 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

- Aboulghar M, Mansour R, Al-Inany H, Abou-Setta AM, Mourad L, Serour G. Paternal age and outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Reprod Biomed Online*. 2007; 14: 588-92
- Agarwal A, Makker K, Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *Am J Reprod Immunol*. 2008; 59: 2-11
- Andolz P, Bielsa MA, Vila J. Evolution of semen quality in North-eastern Spain: a study in 22,759 infertile men over a 36 year period. *Hum Reprod*. 1999; 14: 731-5
- Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosowski A, Menezes Y, Barak Y. Real-time fine morphology of motile human sperm cells is associated with IVF-ICSI outcome. *J Androl*. 2002 23: 1-8
- Belloc S, Benkhalifa M, Junca AM, Dumont M, Bacrie PC, Menezes Y. Paternal age and sperm DNA decay: discrepancy between chromomycin and aniline blue staining. *Reprod Biomed Online*. 2009; 19: 264-9
- Bellver J, Garrido N, Remohi J, Pellicer A, Meseguer M Influence of paternal age on assisted reproduction outcome. *Reprod Biomed Online*. 2008; 17: 595-604
- Berling S, Wolner-Hanssen P. No evidence of deteriorating semen quality among men in infertile relationships during the last decade: a study of males from Southern Sweden. *Hum Reprod*. 1997; 12: 1002-5
- Brahem S, Mehdi M, Elghezal H, Saad A. The effects of male aging on semen quality, sperm DNA fragmentation and chromosomal abnormalities in an infertile population. *J Assist Reprod Genet*. 2011; 28: 425-32
- Cocuzza M, Athayde KS, Agarwal A, Sharma R, Pagani R, Lucon AM, Srougi M, Hallak J. Age-related increase of reactive oxygen species in neat semen in healthy fertile men. *Urology*. 2008; 71: 490-4
- Colin A, Barroso G, Gomez-Lopez N, Duran EH, Oehninger S. The effect of age on the expression of apoptosis biomarkers in human spermatozoa. *Fertil Steril*. 2010; 94: 2609-14
- Crow JF. Spontaneous mutation in man. *Mutat Res*. 1999, 437: 5-9
- Dain L, Auslander R, Dirnfeld M. The effect of paternal age on assisted reproduction outcome. *Fertil Steril*. 2011; 95: 1-8
- Braga DPAF, Setti AS, Figueira RC, Nichi M, Martinhago CD, Iaconelli A, Jr., Borges E, Jr. Sperm organelle morphologic abnormalities: contributing factors and effects on intracytoplasmic sperm injection cycles outcomes. *Urology*. 2011; 78: 786-91

- de La Rochebrochard E, de Mouzon J, Thepot F, Thonneau P. Fathers over 40 and increased failure to conceive: the lessons of in vitro fertilization in France. *Fertil Steril.* 2006; 85: 1420-4
- de la Rochebrochard E, Thonneau P. Paternal age and maternal age are risk factors for miscarriage; results of a multicentre European study. *Hum Reprod.* 2002; 17: 1649-56
- Duran EH, Dowling-Lacey D, Bocca S, Stadtmauer L, Oehninger S. Impact of male age on the outcome of assisted reproductive technology cycles using donor oocytes. *Reprod Biomed Online.* 2010; 20: 848-56
- Fisch H, Goluboff ET, Olson JH, Feldshuh J, Broder SJ, Barad DH. Semen analyses in 1,283 men from the United States over a 25-year period: no decline in quality. *Fertil Steril.* 1996; 65: 1009-14
- Ford WC, North K, Taylor H, Farrow A, Hull MG, Golding J. Increasing paternal age is associated with delayed conception in a large population of fertile couples: evidence for declining fecundity in older men. The ALSPAC Study Team (Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood). *Hum Reprod.* 2000; 15: 1703-8
- Franco JG, Jr., Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Oliveira JB, Vagnini L. Significance of large nuclear vacuoles in human spermatozoa: implications for ICSI. *Reprod Biomed Online.* 2008; 17: 42-5
- Franco Jr JG, Mauri AL, Petersen CG, Massaro FC, Silva LF, Felipe V, Cavagna M, Pontes A, Baruffi RL, Oliveira JB, Vagnini LD. Large nuclear vacuoles are indicative of abnormal chromatin packaging in human spermatozoa. *Int J Androl.* 2012; 35:46-51
- Frattarelli JL, Miller KA, Miller BT, Elkind-Hirsch K, Scott Jr. RT. Male age negatively impacts embryo development and reproductive outcome in donor oocyte assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril.* 2008; 90: 97-103
- Haidl G, Jung A, Schill WB. Ageing and sperm function. *Hum Reprod.* ;1996; 1: 558-60
- Klonoff-Cohen HS, Natarajan L. The effect of advancing paternal age on pregnancy and live birth rates in couples undergoing in vitro fertilization or gamete intrafallopian transfer. *Am J Obstet Gynecol.* 2004; 191: 507-14
- Luna M, Finkler E, Barritt J, Bar-Chama N, Sandler B, Copperman AB, Grunfeld L. Paternal age and assisted reproductive technology outcome in ovum recipients. *Fertil Steril.* 2009; 92: 1772-5
- Moskovtsev SI, Willis J, Mullen JB. Age-related decline in sperm deoxyribonucleic acid integrity in patients evaluated for male infertility. *Fertil Steril.* 2006; 85: 496-9
- Mukhopadhyay D, Varghese AC, Pal M, Banerjee SK, Bhattacharyya AK, Sharma RK, Agarwal A. Semen quality and age-specific changes: a study between two decades on 3,729 male partners of couples with normal sperm count and attending an andrology laboratory for infertility-related problems in an Indian city. *Fertil Steril.* 2010; 93: 2247-54
- Nijs M, De Jonge C, Cox A, Janssen M, Bosmans E, Ombelet W. Correlation between male age, WHO sperm parameters, DNA fragmentation, chromatin packaging and outcome in assisted reproduction technology. *Andrologia.* 2011; 43: 174-9
- Oliveira JB, Massaro FC, Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Silva LF, Vagnini LD, Franco Jr JG. Correlation between semen analysis by motile sperm organelle morphology examination and sperm DNA damage. *Fertil Steril.* 2010; 94: 1937-40
- Rives N, Langlois G, Bordes A, Siméon N, Macé B. Cytogenetic analysis of spermatozoa from males aged between 47 and 71 years. *J Med Genet.* 2002; 39: E63
- Rolf C, Behre HM, Nieschlag E. Reproductive parameters of older compared to younger men of infertile couples. *Int J Androl.* 1996; 19: 135-42
- Schmid TE, Eskenazi B, Baumgartner A, Marchetti F, Young S, Weldon R, Anderson D, Wyrobek AJ. The effects of male age on sperm DNA damage in healthy non-smokers. *Hum Reprod.* 2007; 22: 180-7
- Slama R, Bouyer J, Windham G, Fenster L, Werwatz A, Swan SH. Influence of paternal age on the risk of spontaneous abortion. *Am J Epidemiol.* 2005; 161: 816-23
- Sloter E, Schmid TE, Marchetti F, Eskenazi B, Nath J, Wyrobek AJ. Quantitative effects of male age on sperm motion. *Hum Reprod.* 2006; 21: 2868-75
- Spandorfer SD, Avrech OM, Colombero LT, Palermo GD, Rosenwaks Z. Effect of parental age on fertilization and pregnancy characteristics in couples treated by intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1998; 13: 334-8
- Tremellen K. Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum Reprod Update* 2008; 14: 243-58
- Vagnini L, Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Massaro FC, Pontes A, Oliveira JB, Franco Jr JG. The effects of male age on sperm DNA damage in an infertile population. *Reprod Biomed Online.* 2007; 15: 514-9
- Whitcomb BW, Turzanski-Fortner R, Richter KS, Kipersztok S, Stillman RJ, Levy MJ, Levens ED. Contribution of male age to outcomes in assisted reproductive technologies. *Fertil Steril.* 2011; 95: 147-51
- Winkle T, Rosenbusch B, Gagsteiger F, Paiss T, Zoller N. The correlation between male age, sperm quality and sperm DNA fragmentation in 320 men attending a fertility center. *J Assist Reprod Genet.* 2009; 26: 41-6
- Wyrobek AJ, Eskenazi B, Young S, Arnheim N, Tiemann-Boege I, Jabs EW, Glaser RL, Pearson FS, Evenson D. Advancing age has differential effects on DNA damage, chromatin integrity, gene mutations, and aneuploidies in sperm. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103: 9601-6
- Zhu QX, Meads C, Lu ML, Wu JQ, Zhou WJ, Gao ES. Turning point of age for semen quality: a population-based study in Chinese men. *Fertil Steril.* 2011; 96: 572-6

# PGD en una portadora de translocación recíproca 4;13 abordado con QF-PCR múltiple

Judith Mincman, María Eugenia Ducatelli, Alicia Gallo, Nicolás Neuspiller, Roberto Coco

**Fecunditas, Instituto de Medicina Reproductiva afiliado a la UBA**

Resultados parciales del presente trabajo fue presentado en VII Congreso Argentino de SAEGRÉ realizado en Buenos Aires, 18-20 de Abril de 2010

## RESUMEN

Se presenta la resolución de un PGD en una portadora de una translocación recíproca de novo (4;13)(q27;q32) utilizando una PCR fluorescente cuantitativa múltiple (QF-PCR) con marcadores polimórficos (STRs) ligados a los brazos largos de los cromosomas involucrados en la translocación.

Se trata de una pareja joven con una sola hija normal y tres abortos espontáneos. Previo a la realización del PGD, se ensayaron en el DNA de la pareja una serie de 13 marcadores polimórficos (STRs) ligados a los cromosomas 4, 13 y 21 con el propósito de seleccionar aquellos con alelos diferentes entre ambos miembros de la pareja. Resultaron informativos: D13S796, D13S284 y D4S171, los cuales fueron utilizados para la QF-PCR múltiple conjuntamente con el marcador D21S1411 para enumerar al cromosoma 21. La estimulación ovárica fue realizada con protocolo estándar con agonista GnRh + gonadotrofinas recombinantes + HCG. Se obtuvieron 9 embriones biopsiables al tercer día del desarrollo, constituidos por seis o más blastómeras. Cuatro embriones resultaron de ovocitos con segregación alterna y 5 con segregación adyacente 1. Tres embriones con segregación alterna alcanzaron el estado de blastocisto en día 5. Dos fueron transferidos y uno vitrificado. Se logró un embarazo único. Nació un varón normal. Se efectuó cariotipo en sangre de cordón umbilical y se evidenció una constitución 46, XY. Por lo tanto, en los futuros PGD se podría erradicar la translocación ya que ahora se conoce cuales son los STRs ligados a los cromosomas 4 y 13 libres y translocados.

La mujer a los 6 meses del nacimiento del niño se embaraza sin planificarlo. Se realiza amniocentesis a las 15 semanas y se realiza la misma QF-PCR múltiple diseñada para el PGD, un array de CGH y cultivo de amniocitos para estudio citogenético. A las 24 hs. de la punción supimos que se trataba de un feto normal translocado, el cual fue corroborado con el cariotipo convencional. La pareja tiene vitrificado un blastocisto con los cromosomas 4 y 13 libres sin trisomía 21. Deberán evaluar en la futura transferencia si desean completar el estudio con el array CGH.

**Palabras claves:** PGD, diagnóstico genético preimplantacional, QF-PCR, aCGH, cariotipado molecular, PCR fluorescente cuantitativa.

## RESUMO

Apresentamos a resolução de um PGD numa portadora de translocação recíproca de Novo (4, 13) (q27; q32) múltipla, usando quantitativa

PCR fluorescente (QF-PCR) com marcadores polimórficos (STRs) associados com os braços longos dos cromossomas envolvidos na translocação. Trata-se de casal jovem, com uma filha normal e três abortos espontâneos. Antes da realização do PGD, foram testados no DNA do casal uma série de 13 marcadores polimórficos (STRs) ligadas aos cromossomas 4, 13 e 21, a fim de seleccionar aqueles com alelos diferentes entre os dois parceiros. Resultaram informativos os STRs: D13S796, D13S284 e D4S171, que foram utilizados para QF-PCR multiplex, junto com o D21S1411 marcador do cromossomo 21. A estimulação ovariana foi realizada com o protocolo padrão agonista de GnRH gonadotrofinas recombinantes + + HCG. 9 embriões biopsiáveis foram obtidos no dia3 de desenvolvimento, com seis ou mais blastómeros. Resultaram quatro embriões de oócitos com segregação alternativa e 5 com segregação adjacenteadjacente 1. Três embriões com segregação alternativa atingiram o estágio de blastocisto no dia 5. Dois foram transferidos e 1 vitrificado. Houve gravidez única e nasceu um homem normal. Cariótipo do sangue do cordão umbilical mostrou constituição 46, XY. Portanto, PGDs futuros poderiam erradicar esta translocação, conhecidos os STRs ligados aos cromossomas 4 e 13 livres e translocados. Esta mulher gestou espontaneamente após 6 meses do parto, sem planejamento. A amniocentese foi realizada com 15 semanas e realizou o mesmo QF-PCR desenvolvido para PGD, além de um array CGH e amniócitos cultivados para estudo citogenético. Em menos de 24 horas diagnosticou-se um feto normal, translocado, confirmado por cariotipagem convencional. O casal tem um blastocisto vitrificado com cromossomas 4 e 13 livres, sem a trissomia do 21. Numa transferência futura deve-se avaliar se desejam concluir o estudo com o conjunto CGH-array.

## SUMMARY

We present the resolution of a PGD in a carrier of a de novo reciprocal translocation (4, 13) (q27, q32) using a multiple quantitative fluorescent PCR (QF-PCR) with polymorphic markers (STRs) linked to the long arms of the chromosomes involved in translocation. This is a young couple with one normal daughter and three spontaneous abortions.

Before performing the PGD, in the DNA of the couple we tested a series of 13 polymorphic markers (STRs) linked to chromosomes 4, 13 and 21 in order to select those with different alleles between the two partners.

Resulted informative the following STRs: D13S796, D13S284 and D4S171, which were used for QF-PCR multiplex, in conjunction with the marker D21S1411 to enumerate the chromosome 21.

Ovarian stimulation was performed with the standard protocol GnRH agonist + recombinant gonadotropins + hCG. Nine embryos were biopsied on the third day of development, which had six or more blastomeres. Four embryos resulting from oocytes with alternate segregation and 5 of the adjacent 1 segregation. Three alternate segregation embryos reached the blastocyst stage on day 5, two were transferred and one vitrified. Singleton pregnancy was achieved, and a normal male was born. Karyotype was performed in umbilical cord blood and it showed a 46, XY constitution. Therefore, the couple in futures PGDs could eradicate the translocation, because now we know the STRs linked to chromosomes 4 and 13 free or translocated. Six months after birth the woman became pregnant again, without planning it. Amniocentesis at 15 weeks enabled the same designed QF-PCR multiplex, an array of CGH and the culture of amniocytes for conventional cytogenetic study. In less than a day from the amniocentesis we got to know that the fetus was normal translocated (subsequently corroborated by conventional karyotyping). The couple has a normal blastocyst vitrified with free chromosomes 4 and 13 and without trisomy 21. At the right time they should decide whether to complete the study for all chromosomes performing an array CGH previous to the embryo transfer. **Keywords:** PGD, preimplantation genetic diagnosis, QF-PCR, aCGH, molecular karyotyping, quantitative fluorescent PCR.

## INTRODUCCIÓN

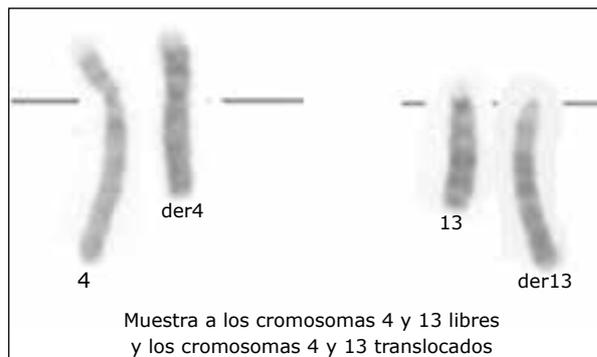
Los portadores de translocaciones recíprocas tienen un riesgo cromosómico teórico de 80% para producir gametos con desbalances de los cromosomas involucrados, y casi siempre el riesgo empírico coincide con el teórico. En una minoría puede ser mucho más bajo o más alto aún (Goldman et al, 1993; Martín et al, 1993; Munné et al, 2000). Las gametas desbalanceadas no son infecundas y originan cigotos anormales. La mayoría de las segregaciones que implican desbalances importantes son letales en la etapa preimplantatoria, en cambio las que implican desbalances mínimos llegan generalmente a término y dan lugar a nacidos malformados. Como este tipo de rearrreglo cromosómico balanceado altera la gametogénesis, los portadores generalmente consultan por infertilidad. El PGD es una alternativa de diagnóstico prenatal, el cual favorece el establecimiento de un embarazo sin desbalance de los cromosomas involucrados en la translocación. Este dato no es menor en Latinoamérica ya que el aborto genético también es penado.

Hasta hace poco la mayoría de los PGDs de portadores de translocaciones recíprocas fueron abordados por FISH (Hibridación in situ Fluorescente) (Munné, 2002), mientras que una minoría por QF-PCR (PCR fluorescente cuantitativa) a pesar de las mayores ventajas respecto del FISH (Traversa et al, 2010). Otra minoría por hibridación genómica comparada convencional (mCGH) o con array (aCGH) (Fiorentino et al, 2011). Si bien estos dos últimos métodos permiten detectar desbalances de todos los cromosomas, no permiten conocer la ploidía ni documentar la existencia de translocaciones balanceadas. Comunicamos el PGD por una translocación recíproca t(4;13) por QF-PCR.

## PACIENTES Y MÉTODOS

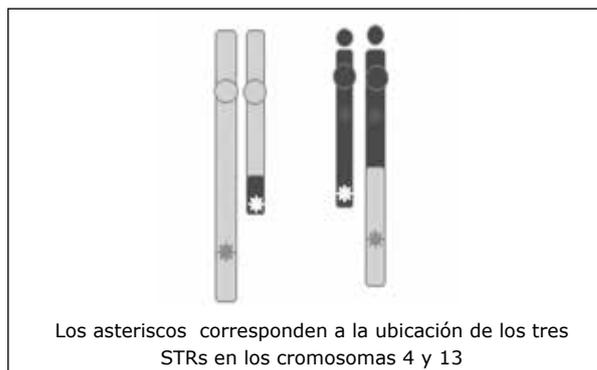
Se trata de una pareja joven de 33 años de edad, no consanguínea, con una hija normal y tres abortos espontáneos del primer trimestre, los cuales no fueron estudiados cromosómicamente.

El estudio citogenético de la pareja, evidenció que la mujer es portadora de una translocación recíproca: 46,XX,t(4;13) (q27;q32) (fig 1). El estudio en los padres de la portadora reveló que eran cromosómicamente normales.



**Figura 1.** Cariotipo parcial de la translocación recíproca

Previo a la realización del PGD se ensayaron en el DNA de la pareja una serie de 13 marcadores polimórficos (STRs) ligados a los cromosomas 4, 13 y 21 con el propósito de seleccionar aquellos con alelos diferentes entre ambos miembros. Resultaron informativos los STRs D13S796, D13S284, D4S171, D21S1411, los cuales fueron utilizados para la QF-PCR múltiple (ver fig2 y tabla 1).



**Figura 2.** Esquema de las translocación y ubicación de STRs informativos

**Tabla 1.** STRs informativos hallados en la pareja

	D13S796	D13S284	D4S171	D21S1411
<b>Madre</b>	M1-M2	M3-M4	M5-M6	M7-M8
<b>Padre</b>	P1-P2	P3-P4	P5-P6	P7-P8

La estimulación ovárica fue realizada con protocolo estándar agonista GnRh + gonadotropinas recombinantes + HCG. La aspiración de los folículos ováricos se realizó por vía ecográfica con anestesia local y neuroleptoanalgesia. Se recuperaron los ovocitos de los fluidos foliculares aspirados y a los ovocitos maduros se les realizó la ICSI. Se obtuvieron 9 embriones biopsiables al tercer día del desarrollo, constituidos por seis o más blastómeras.

Los embriones sin desbalances fueron transferidos en el quinto día al estado de blastocisto. La suplementación de la fase lútea fue realizada con gel de progesterona.

Para la biopsia se perforó la membrana pelúcida con micro disparos de rayos láser cercano a la blastómera elegida para extraer, la que fue aspirada con ayuda de una micropipeta succionadora y posteriormente colocada en un tubo de PCR en un volumen de 1 µl del medio de biopsia, el cual fue guardado en el freezer hasta efectuar la lisis de la célula.

La lisis se efectuó en un buffer conteniendo 10X PCR buffer, tween20 1%, tritonX100 1% y proteinasa K 20 µg/ul, primero a 45°C/20 minutos y luego 96°C /20 minutos. Al producto de lisis se le realizó la QF-PCR múltiple diseñada. La mezcla de reacción fue 5X PCR buffer, dNTPs 10 mM, 0,5 µM de cada uno de los STRs (ver tabla 2) y Taq polimerasa 5 U/µl. Las condiciones de ciclado fueron 95°C/ 5min. seguido de 35 ciclos a 95°C/5 min, 50°C/30seg. 72°C /30seg. con una extensión final a 72°C/5min. Los amplicones obtenidos fueron analizados por electroforesis capilar en un ABIprism 310.

**Tabla 2.** Primers 3' - 5' de los STRs usados en la multiplex

<b>D13S796 F</b>	(PET) CAT GGA TGC AGA ATT CAC AG
<b>D13S796 R</b>	TCA TCT CCC TGT TTG GTA GC
<b>D13S284 F</b>	(VIC) AAA ATC AGG TGG AAA CAG AAT
<b>D13S284 R</b>	AAA GGC TAA CAT CGA AGG GA
<b>D4S171 F</b>	(NED) TGG GTA AAG AGT GAG GCTG
<b>D4S171 R</b>	GGT CCA GTA AGA GGA CAG T
<b>D21S1411 F</b>	(NED) ATG ATG AAT GCA TAG ATG GAT G
<b>D21S1411 R</b>	AAT GTG TGT CCT TCC AGG C

## RESULTADOS

En la tabla 3 figuran los resultados de los STRs hallados en cada uno de los embriones estudiados, luego de la QF-PCR múltiple realizada en las blastómeras de cada uno de los embriones biopsiados.

Si a los STRs de los cromosomas 4 y 13, tanto los libres como los translocados, los denominamos M1, M2, M3, M4, M5 y M6 como aparece en la fig. 3 podremos conocer el tipo de segregación que ocurrió durante la anafase 1. Los embriones 1, 2 y 8 tienen un patrón de segregación alterna; los embriones 3, 4, 5, 7 y 9 el

**Tabla 1.** STRs informativos hallados en la pareja

Embrión	D13S796	D13S284	D4S171	D21S1411	Segregación
<b>1</b>	M1-P1	M3-P3	M5-P5	M7-P8	Alterna
<b>2</b>	M2-P2	M4-P4	M6-P6	M8-P8	Alterna
<b>3</b>	P1	M4-P3	M5-M6-P5	M7-P7	Adyacente I
<b>4</b>	M1-M2-P1	M3	P5	M7-P7	Adyacente I
<b>5</b>	M1-M2-P1	M3	P5	M8-P7	Adyacente I
<b>6</b>	M2	M4	M6	M8	Haploide
<b>7</b>	P2	M4	M5-M6-P6	M7-P7	Adyacente I
<b>8</b>	M1-P2	M3-P4	M5-P6	M7-P7	Alterna

patrón de segregación adyacente 1, mientras que el embrión número 6 sólo evidenció los STRs maternos, como si se tratara de una haploidía, pero compatible con un patrón de segregación alterna.

Los embriones 1, 2, 8 alcanzaron el estado de blastocisto al quinto día. El embrión 6 quedó detenido en 6 células. Dos de los cinco embriones con segregación adyacente alcanzaron el estado de blastocisto ( embriones 7 y 9). La paciente fue transferida con los embriones 1 y 2, logrando un embarazo simple que culminó en el nacimiento de niño normal de sexo masculino.

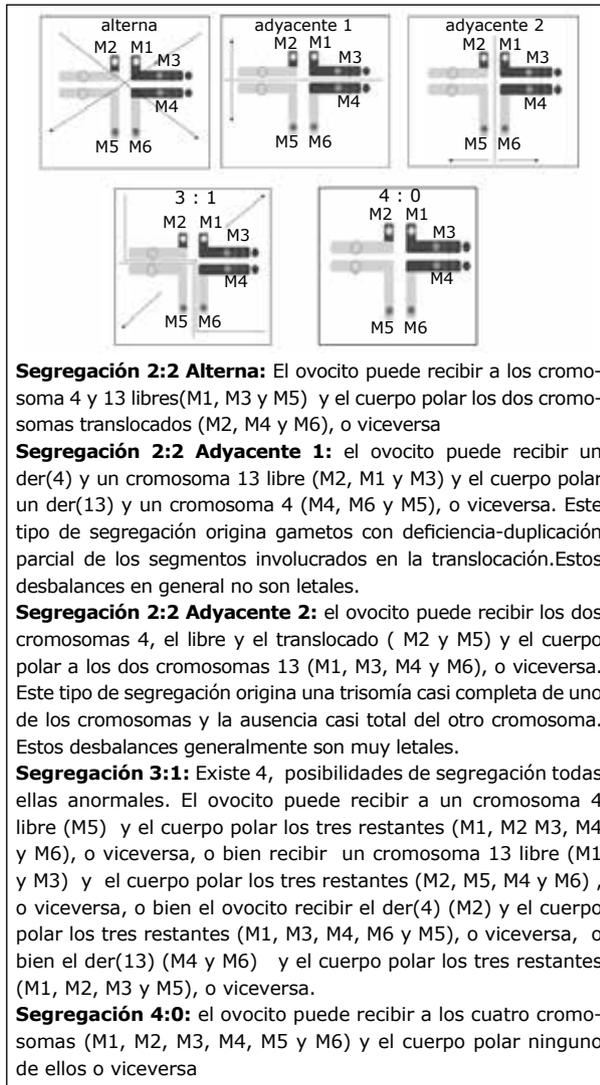
Como se aprecia en la tabla 2, los STRs de los cromosomas 4 y 13 maternos de los dos blastocistos transferidos eran diferentes. Uno tenía los STRs M1, M3 y M5, y el otro los STRs M2, M4 y M6.

Al nacimiento se tomó sangre de cordón para estudio del cariotipo y de los STRs utilizados en la QF-PCR diseñada para el PGD. El cariotipo evidenció una constitución 46,XY y los STRs de los cromosomas 4 y 13 de origen materno fueron: M1, M3 y M5. Por lo tanto, esos STRs están ligados a los cromosomas 4 y 13 libres de la madre.

## DISCUSIÓN

La mayoría de los PGDs por translocación recíproca fue resuelta por FISH usando como mínimo dos sondas enumeradoras y una telomérica de uno de los cromosomas involucrados. El presente PGD fue por QF-PCR. Ambas metodologías permiten distinguir la segregación alterna normal de las otras segregaciones anormales, pero la QF-PCR en las translocaciones familiares, permite diferenciar si la segregación balanceada es portadora de la translocación, además de permitir conocer en qué anafase meiótica ocurrió la aneuploidía y el origen materno o paterno del error meiótico. El reconocimiento del origen es importante desde el punto de vista académico sobre todo cuando se quiere inferir la existencia de otras aneuploidías por efecto intercromosómico (Micman et al, 2008).

Está reconocido que el riesgo empírico en la mayoría de las translocaciones recíprocas coincide con la posibilidad teórica de las cinco segregaciones posibles, de las cuales cuatro son anormales y una sola normal, o sea que el 80% de las gametas son anormales (Coco et al, 2005). En el presente caso, de 9 embriones estudiados 4 fueron balanceados ( 44%). Por lo tanto, se podría decir que la translocación tuvo un comportamiento más benévolo de lo esperado. No fue posible diferenciar en los embriones que resultaron de segregación alterna del cuadrivalente, cual de las dos posibilidades correspondía a los cromosomas 4 y 13 libres y cual a los translocados, debido a que la translocación fue de novo en madre.



**Figura 3.** Posibilidades de segregación del cuadrivalente meiótico durante la anafase 1.

Si bien no fue posible para el presente PGD, cuando nació el niño el estudio del cariotipo y la QF-PCR en la sangre de cordón permitió reconocer los STRs ligados a los cromosomas 4 y 13 libres. Este dato adquiere importancia sobre todo si la pareja quiere erradicar la translocación balanceada en futuros hijos accediendo a un PGD con la QF-PCR múltiple diseñada originalmente. La mujer a los 6 meses del nacimiento del bebé quedó embarazada sin planificarlo. A las 15 semanas de gestación accedió al estudio prenatal por amniocentesis. El líquido amniótico extraído (20 ml) se dividió en tres partes. Una fue cultivada para estudio citogenético convencional. A las otras dos se les extrajo el ADN y se realizó la QF-PCR múltiple diseñada y el array de CGH (hibridación genómica comparada) 24 sure plus de Bluegenome®. En forma ultrarrápida tuvimos los resultados de la QF-PCR y el aCGH.

El aCGH nos permitió inferir que el feto tenía un cariotipo masculino normal sin desbalances, mientras la QF-PCR que era portador de la translocación balanceada ya que los STRs ligados a los cromosomas 4 y 13 maternos eran los M2, M4 y M6. A los 15 días ambos resultados fueron corroborados con el cariotipado convencional logrado con el cultivo de los amniocitos.

La necesidad de realizar estudios genéticos en una única célula o en pocas ha hecho que se desarrollara nuevas metodologías que lo permitiera, sin embargo esas metodologías también pueden ser utilizadas en los diagnósticos genéticos prenatales, sobre todo para aquellas embarazadas con signos de alarma ecográficos detectados al comienzo del primer trimestre.

La pareja aún conserva un blastocisto normal vitrificado con los cromosomas 4 y 13 libres y sin trisomía 21. Cuando decida la transferencia se le informará sobre la posibilidad actual del aCGH que permitiría descartar toda posibilidad de otras aneuploidías por o sin efecto intercromosómico (Coco et al, 2008; Gianaroli et al, 2002; Pujol et al, 2003).

#### Correspondencia:

Dr. Roberto Coco

Fecunditas

Dirección: Larrea 790, CABA 1030 Buenos Aires, Argentina

TE: 5411 49613091

e-mail: robertococo@fecunditas.com.ar

#### REFERENCIAS

Coco R, Coco Ludueña F, Urquiza M, Mincman J, Gallo A, Gismondi F, Neuspiller N. Riesgo genético reproductivo en portadores de rearrreglos cromosómicos. *Reproducción* 2005; 20(1): 25-36.

Coco R, Mincman J, Polo ME, Coco I, Gismondi F. Diagnóstico prenatal ultrarrápido de triploidía por PCR fluorescente. *Reproducción* 2008; 23:3-8.

Fiorentino F, Spizzichino L, Bono S, Biricik A, Kokkali G, Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, Munne S, Balicchia B, Escudero T, et al. Possible interchromosomal effect in embryos generated by gametes from translocation carriers. *Hum Reprod* 2002; 17:3201-7.

Goldman AS, Hultén MA. Meiotic analysis by FISH of a human male 46,XY,t(15;20)(q11.2;q11.2) translocation heterozygote: quadrivalent configuration, orientation and first meiotic segregation. *Chromosoma* 1993; 102:102-11.

Martin RH, Hultén M. Chromosome complements in 695 sperm from three men heterozygous for reciprocal translocations, and a review of the literature. *Hereditas* 1993; 118:165-175.

Mincman J, Medrano S, Gallo A, Longobucco V, Gismondi F, Neuspiller N, Coco R. Diagnóstico preimplantatorio por PCR fluorescente en un varón portador de t(13;14) (q10;q10). *Reproducción* 2008; 23:159-164

Munné S, Sandalinas M, Escudero T, Fung J, Gianaroli L, Cohen J. Outcome of preimplantation genetic diagnosis of translocations. *Fertil Steril* 2000; 73:1209-18.

Munne S. Preimplantation genetic diagnosis of numerical and structural chromosome abnormalities. *Reprod Biomed Online* 2002; 4:183-96.

Pujol A, Durban M, Benet J, Boiso I, Calafell JM, Egozcue J, et al. Multiple aneuploidies in the oocytes of balanced translocation carriers: a preimplantation genetic diagnosis study using first polar body. *Reproduction* 2003; 126:701-11.

Rienzi L, Ubaldi FM, Iammarrone L, Gordon A, and Pantos K. PGD for reciprocal and Robertsonian translocations using array comparative genomic hybridization. *Human Reproduction*, 2011; 26(7): 1925-1935.

Traversa MV, Carey L, Leigh D. A molecular strategy for routine preimplantation genetic diagnosis in both reciprocal and robertsonian translocation carriers. *Mol. Hum. Reprod.* 2010; 16 (5): 329-337.

# Ovarian stimulation in the follicular, late follicular and luteal phases: an ideal protocol for the preservation of fertility?

## Stimulation for fertility preservation.

Alessandro Schuffner, M.D.<sup>a</sup>, Rayana Skroch, B.S.C.<sup>b</sup>, Maria Cecília Da Lozzo Garbelini, B.S.C.<sup>b</sup>, Jose Augusto Lucca Neto, B.S.C.<sup>a</sup>, Ana Paula Peixoto, M.D.<sup>a</sup>, Vinícius Bonato da Rosa, B.S.C.<sup>a</sup>

Institutional affiliations:

<sup>a</sup>Conceber – Reproductive Medicine Center, Curitiba, Brazil.

<sup>b</sup>Faculdade Pequeno Príncipe, Curitiba, Brazil

### ABSTRACT

**Objective:** Show that ovarian stimulation at any stage of the cycle is an alternative for patients who need to undergo chemotherapy in an attempt to preserve fertility.

**Methods:** Case Report. Setting: Clínica Conceber – Reproductive Medical Center

**Patient(s):** Womens were diagnosed with cancer.

**Intervention:** Ovary stimulation, follicular aspiration and cryopreservation of oocytes or embryos. Main Outcome

**Measure(s):** response to ovarian stimulation, follicular growth and number of oocytes recovered at follicle aspiration

**Results:** for the first patient the stimulation start at ninth day whit 300IU of HMG, on the day 16<sup>th</sup> 6500 IU of rhCG was administered and the follicular aspiration was performed 35 hours later resulting in ten oocytes. The second patient starts the ovary stimulation on the 13<sup>th</sup> of the cycle and on day 22 the ovulation immediately induced with 6500 IU of rhCG and ovary aspiration performed 35 hours later and 9 oocytes was recovered and subjected to ICSI, one oocyte was successfully fertilized and cryopreserved. The third patient began stimulation on seventh day of the cycle and the aspiration was performed on the 15<sup>th</sup> day. Seven oocytes was recovered and cryopreserved.

**Conclusion:** This emergency protocol of ovary stimulation proved to be viable for follicular growth, fertility preservation in cancer patients.

**Keywords:** Stimulation, Luteal phase, Follicular phase, Preservation of fertility

### RESUMO

**Objetivo:** Demonstrar que a estimulação ovariana em qualquer estágio do ciclo é alternativa para pacientes que necessitam quimioterapia e desejam preservar a fertilidade.

**Material e método:** relato de casos, Clínica Conceber, 03 mulheres diagnosticadas com câncer, submetidas a estimulação ovariana e criopreservação de oócitos ou embriões. **Desfecho principal:** resposta à estimulação ovariana, crescimento follicular e número de oócitos recuperados na aspiração.

**Resultados:** na primeira paciente ao estímulo se iniciou no dia 9 do ciclo, com 300UI de HMG; no dia 16 recebeu 6500 UI de rhCG, com aspiração folicular em 35 horas, resultando 10 oócitos. A segunda iniciou a estimulação no dia 13 do ciclo, induziu a rotura no dia 22 e teve 9

oócitos recuperados, submetidos a ICSI ( um oócito foi fertilizado e criopreservado). A terceira paciente iniciou o estímulo no dia 7 e a sapiração ocorreu no dia 15, com recuperação de 7 oócitos que foram criopreservados.

**Conclusão:** este protocolo de emergência é viável para o crescimento follicular, e assim para a preservação da fertilidade em pacientes com câncer.

**Palavras-chave:** Estimulação, fase lútea, fase follicular, preservação da fertilidade.

### INTRODUCTION

In 2010, approximately 207.090 women were diagnosed with breast cancer in the United States, and there were 43.470 new cases of uterine cancer (American Cancer Society 2010). The National Cancer Institute of Brazil estimates that there were approximately 253.030 new cancer cases in 2010 (Instituto Nacional de Câncer, 2010).

Stroud et al. (2009) reported that in 1990, the cancer survival rate for young patients (aged 15 to 45 years) was 1 in every 1,000; this rate increased to 1 in every 250 by 2010 ( Bleyer WA, 1990). However, this improved survival rate is accompanied by several types of collateral damage that cancer treatments can inflict.

The ovaries are extremely sensitive to cytotoxic treatments, which can cause premature ovarian failure (POF), resulting in early menopause and functional disorders even when the ovaries are not affected by the disease (Donnez J et al, 2006). According to Sönmezer et al. (2004), the POF rate varies from 14 to 100%, and the level of damage depends on the age of the woman at the time of treatment and the type, dose and duration of the treatments used ( Sonmezer M, Oktay K., 2004).

The importance of early referral for fertility preservation cannot be overestimated. Female patients who are referred to fertility specialists before undergoing cancer treatment (both chemotherapy and radiotherapy) experience better yields of oocytes and embryos (Lee S., et al, 2010). If there is insufficient time for ovarian stimulation before treatment begins, several alternatives are usually available, including less well-established approaches, such as the cryopreservation of ovarian tissue and the in vitro maturation of oocytes ( Sonmezer M, Oktay K., 2010). Recent evidence indicates that there are several opportunities for the recruitment of follicles during the

normal menstrual cycle; therefore, the concept of a narrow window for follicular recruitment may not be accurate (Oktay K, Sonmezer M., 2008). Because of the current availability that GnRH antagonists offer, the utility of follicular recruitment at different stages throughout the menstrual cycle may be feasible, especially for fertility preservation, a scenario in which the development of the endometrium is irrelevant (Sonmezer M., et al, 2011).

Based on published data, we administered emergency ovarian stimulation protocols to three patients during the follicular, late follicular and luteal phases to attempt to preserve their fertility. Here, we report the preliminary results of this new approach.

## CASE REPORTS

Three patients with histories of neoplastic diseases underwent ovarian stimulation. The first patient was 23 years old and was diagnosed with adenocarcinoma of the appendix after an appendectomy and unilateral oophorectomy. The second patient was 30 years old, was diagnosed with breast cancer and underwent a bilateral mastectomy. The third patient was 39 years old and diagnosed with breast cancer and was submitted to oophorectomy in the past, due to ovarian benign disease.

Following consultations with an oncologist, all three patients chose to pursue immediate protection of their fertility through ovarian stimulation and oocyte/embryo cryopreservation before beginning chemotherapy. Because the timing of cancer treatment plays an important role in a patient's prognosis, the ovarian stimulation was initiated at different times from those usually used.

For the first and third patients, the stimulation occurred in the proliferative phase of the menstrual cycle; the first patient was in the late follicular phase, and the third was in the early follicular phase. The second patient was in the luteal phase.

## RESULTS

For the first patient, stimulation began on the ninth day of the cycle with the administration of 300 IU of human menopausal gonadotropin (HMG Merional®), followed by 0.25 mg of a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist (cetorelix, Cetrotide®) and 5 mg of letrozole (Femara®). All the medications were administered daily and adjusted according to the response. The patient's hormone levels on the sixth (d6), seventh (d7) and eighth days (d8) of stimulation were as follows: progesterone 0.5 ng/mL, 0.7 ng/mL and 1.0 ng/mL; luteinizing hormone (LH) 1.1 mIU/mL, 1.0 mIU/mL and 1.0 mIU/mL; and estradiol 555 pg/mL, 709 pg/mL and 794 pg/mL, respectively. On d16 of the cycle, the dominant follicle had reached a diameter of 18 mm, and the patient was given 6.500 IU of recombinant human chorionic gonadotropin (rhCG, Ovidrel®). Oocyte aspiration was performed 35 hours after the administration of rhCG, and ten oocytes were retrieved and cryopreserved. Five oocytes were in metaphase II, two were in metaphase I and three were in prophase I. The second patient presented on the 11<sup>th</sup> day of her cycle, and ovulation was immediately induced with 6500 IU of rhCG because of an 18-mm follicle. Therefore, 48 hours later, the 13<sup>th</sup> day of the cycle became the first day of stimulation with the administration of 300 IU of recombinant follicle-stimulating hormone (rFSH, Gonal F), 0,25 mg of a GnRH antagonist (Cetrotide), and 5 mg of letrozole (Femara). All of the medications

were administered daily and adjusted according to the response. The patient's hormone levels on the eighth (d8) and tenth (d10) days of stimulation were as follows: progesterone 4.8 ng/mL and 1.6 ng/mL; LH 0.4 mIU/mL and 0.5 mIU/mL; and estradiol (E2) 245 pg/mL and 345 pg/mL, respectively. When the dominant follicle reached a diameter of 18 mm on 22<sup>th</sup> day of the cycle, the patient was given 6.500 IU of rhCG. Oocyte aspiration was performed 35 hours later, and nine oocytes in metaphase II were recovered and subjected to intracytoplasmic sperm injection (ICSI). One oocyte was successfully fertilized and was frozen. The third patient began stimulation on the seventh day of her cycle with 300 IU of HMG (Menopur®) and 5 mg of letrozole (Femara®), followed by 0,25 mg of a GnRH antagonist (Cetrotide®) on the tenth day onward. On the 15<sup>th</sup> day of the cycle, follicular aspiration occurred. Three metaphase II, two metaphase I and two prophase I oocytes were retrieved and subsequently cryopreserved.

## DISCUSSION

The effectiveness of ovarian stimulation followed by in vitro fertilization (IVF) or intracytoplasmic sperm injection (ICSI) is well established, and these techniques can be practiced by any fertility center. However, fertility preservation in patients who will soon undergo cancer treatments is more complex, with some protocols requiring more than 6 weeks (for patients who are in the luteal phase) before follicular aspiration (Von Wolff M., et al, 2009).

In three cases related by Sönmezer et al. (2011), good fertilization rates were achieved, seven to ten embryos were frozen and also embryos were generated in all of the cases through the use of in vitro maturation (IVM), wherein immature oocytes are matured in the laboratory within 24-48 hours after collection (Sonmezer M., et al 2011).

In a recent study, Maman et al (2011) analyzed the results of IVM for fertility preservation in two groups of patients with neoplastic diseases: five in the luteal phase and thirteen in the follicular phase (Maman E., et al, 2011). There were no significant differences between the two groups in the numbers of oocytes retrieved, the maturation rates, the fertilization rates, or the total numbers of oocytes and embryos that were cryopreserved (Sonmezer M., et al 2011).

The published data on COH in the late follicular or luteal phase and emergency fertility preservation are scant. Bedoschi et al. (2010) described emergency COH in two cases with breast cancer and Hodgkin lymphoma. Both patients underwent ovarian stimulation with recombinant FSH and GnRH antagonists during the luteal phase of the cycle. Twelve mature oocytes were recovered in both cases. In the first case all of the mature oocytes were subjected to ICSI, with fertilization and cleavage rates of 83.3% and 70%, respectively. In the second case, all of the mature oocytes were cryopreserved (Bedoschi G. M., et al 2010). In contrast to the results described above, we did not achieve a good fertilization rate in the luteal phase of our second case, although a good number of eggs were retrieved. The use of GnRH antagonist to induce luteolysis in the luteal phase was described by Anderson et al. (1999) (Anderson R.A., Kinniburgh D., Baird D.T., 1999). Two patients with histories of breast cancer who were in the luteal phase received GnRH-a, resulting in rapid drops in progesterone followed by menstruation 2-4 days later. After 4 days, ovarian stimulation was begun with 150 IU/day of hMG. The patients were stimulated for 9-11

days, ovulation was induced and 6 and 8 oocytes were aspirated. Of these, 4 and 6 oocytes were successfully fertilized for IVF, respectively, resulting in an average fertilization rate of 71% (Von Wolff M., et al, 2009).

It is not yet known if the frozen oocytes and embryos acquired by stimulation in the follicular or luteal phase will result in pregnancy rates comparable to those originating from conventional stimulation cycles. The existing data have been confirmed by the results of current cases, and favorable fertilization rates have been demonstrated after the ICSI of oocytes collected following ovarian stimulation with letrozole in the late follicular or luteal phase (Sonmezer M., et al 2011). Because of the young ages and consequent high ovarian reserves of the patients reported in the literature, the viability of oocytes obtained through ovarian stimulation at random phases of the menstrual cycle in older women is not known. Therefore, larger prospective studies are necessary to assess the potential of this technique in patients with lower ovarian reserves.

The effectiveness of random-start controlled ovarian stimulation has a solid scientific foundation, including the recent research on healthy volunteers by Baerwald et al. that demonstrated the presence of up to three major follicle recruitment waves during a normal menstrual cycle. Fifty women were monitored by daily ultrasound examinations and blood analyses for E2, luteinizing hormone (LH), and FSH levels. The findings showed that 34 of the 50 women exhibited two follicular waves, and 16 exhibited three waves (Baerwald, Adams, Pierson, 2003).

There is controversy as to whether most of the oocytes that are obtained during the luteal phase are atretic. In a recent report, Bentov et al. 2010 described a patient who conceived after a GnRH antagonist-induced demise of the first cohort of follicles, followed by the emergence of a second wave of follicles and oocyte retrieval on cycle day 30 (Bentov et al, 2010). The above cases are consistent with recent scientific observations and can help bring a new perspective to the approach toward ovarian stimulation in general. As an example of a practical application of random-start controlled ovarian stimulation, oocyte donors could be stimulated without any need for a delay. By the use of the random-start approach, many young donors, who often have scheduling conflicts, could be stimulated at a more convenient time. That possibility is especially exciting in light of the increased success in IVF using thawed oocytes, which is causing oocyte banks to become a reality.

In the present case series, it was demonstrated that controlled ovarian hyperstimulation (COH) can be started at any time during the menstrual cycle in the setting of urgent fertility preservation.

Most reproductive-age women suffering from cancer are not aware of the alternatives for preserving their fertility prior to undergoing cancer treatment. For this reason, it would be beneficial for the entire population to be familiar with the promising new techniques for fertility preservation. Although the recent results achieved with ovarian stimulation and oocyte cryopreservation represent

significant progress, further research is needed to improve fertility preservation methods so that, in the future, the live birth rates obtained using these techniques become similar to those using fresh oocytes.

#### Correspondence:

Alessandro Schuffner  
Av. Republica Argentina, 210 – 17º andar  
Curitiba, Paraná – Brazil  
Zip code: 80240-210  
phone: +55 41 3039-5556  
E-mail: alessandro@clinicaconceber.com.br

#### REFERENCES

- American Cancer Society. Cancer facts and figures 2010. American Cancer Society, 2010.
- Anderson RA, Kinniburgh D, Baird DT. Preliminary experience of the use of a gonadotrophin-releasing hormone antagonist in ovulation induction/in-vitro fertilization prior to cancer treatment. *Hum Reprod.* 1999 Oct;14(10):2665-8.
- Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. A new model for ovarian follicular development during the human menstrual cycle. *Fertil Steril.* 2003 Jul;80(1):116-22.
- Bentov Y, Esfandiari N, Gokturk A, Burstein E, Fainaru O, Casper RF. An ongoing pregnancy from two waves of follicles developing during a long follicular phase of the same cycle. *Fertil Steril.* 2010 Jun;94(1):350 e8-11
- Bedoschi GM, de Albuquerque FO, Ferriani RA, Navarro PA. Ovarian stimulation during the luteal phase for fertility preservation of cancer patients: case reports and review of the literature. *J Assist Reprod Genet.* 2010 Aug;27(8):491-4.
- Bleyer WA. The impact of childhood cancer on the United States and the world. *CA Cancer J Clin.* 1990 Nov-Dec;40(6):355-67.
- Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: INCA. 2010.
- Donnez J, Martinez-Madrid B, Jadoul P, Van Langendonck A, Demylle D, Dolmans MM. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: a review. *Hum Reprod Update.* 2006 Sep-Oct;12(5):519-35.
- Lee S, Ozkavukcu S, Heytens E, Moy F, Oktay K. Value of early referral to fertility preservation in young women with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2010 Nov 1;28(31):4683-6.
- Maman E, Meirrow D, Brengauz M, Raanani H, Dor J, Hourvitz A. Luteal phase oocyte retrieval and in vitro maturation is an optional procedure for urgent fertility preservation. *Fertil Steril.* 2011 Jan;95(1):64-7.
- Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in female patients. *Hum Reprod Update.* 2004 May-Jun;10(3):251-66.
- Sonmezer M, Oktay K. Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2010 Feb;24(1):113-26.
- Sonmezer M, Turkcuoglu I, Coskun U, Oktay K. Random-start controlled ovarian hyperstimulation for emergency fertility preservation in letrozole cycles. *Fertil Steril.* 2011 May;95(6):2125 e9-11.
- Oktay K, Sonmezer M. Chemotherapy and amenorrhea: risks and treatment options. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2008 Aug;20(4):408-15.
- von Wolff M, Thaler CJ, Frambach T, Zeeb C, Lawrenz B, Popovici RM, et al. Ovarian stimulation to cryopreserve fertilized oocytes in cancer patients can be started in the luteal phase. *Fertil Steril.* 2009 Oct;92(4):1360-5.

## Orais

### 01 - A resposta folicular antral à administração de FSH, avaliada por um novo marcador (fort-follicular output rate) pode predizer o desfecho da fertilização in vitro

Ana Luiza Berwanger da Silva, Vanessa Gallot, Vanessa Genro, Michael Grynberg, Nelly Frydman, Renato Fanchin

Hospital Antoine-Béclère, Clamart, França

**OBJETIVO:** Na tentativa de se estabelecer um marcador qualitativo da reserva ovariana, este trabalho buscou verificar se a resposta dos folículos antrais ovarianos à administração de Hormônio Folículo-Estimulante (FSH) exógeno, refletida por um novo marcador proposto, denominado "FORT" (Follicular Output RaTe), está relacionada à sua competência reprodutiva. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram estudadas 322 candidatas à Fertilização In vitro (FIV) entre 25 e 43 anos, as quais foram submetidas à hiperestimulação ovariana controlada com doses iniciais de FSH similares. As contagens de folículos antrais (entre 3 e 8 mm) (CFA) e de folículos pré-ovulatórios (entre 16 e 22 mm) (CFP) foram realizadas, respectivamente, no momento da obtenção da supressão pituitária (antes de se iniciar a terapia com FSH) e no dia da administração de hCG. O FORT foi calculado através da fórmula  $CFP \times 100 / CFA$ . Estabeleceram-se grupos de FORT de acordo com os seguintes valores: baixo (<42%; n = 102), médio (42-58%; n = 123) e alto (>58%; n = 97). **RESULTADOS:** O FORT médio foi de 50,6% (16,7 - 100%). As taxas de gestação clínica por oócito coletado aumentaram progressivamente do grupo de baixo FORT até o grupo de alto FORT (33,3; 51,2 e 55,7%, respectivamente,  $p < 0,003$ ) e tal associação se mostrou independente ao realizar-se regressão logística para possíveis fatores de confusão (idade, CFA e CFP). **CONCLUSÕES:** A associação observada entre o desfecho da FIV e o percentual de folículos antrais que efetivamente responderam à administração de FSH, atingindo a maturação pré-ovulatória, sugere que o FORT possa representar um marcador qualitativo da competência folicular ovariana. Novos estudos com critérios de inclusão mais abrangentes e protocolos mais específicos são necessários para validar tais resultados.

### 02 - As interferências da infertilidade na sexualidade das mulheres

L Leis, Antunes Jr N, Wonchockier R, Tognotti E, Soares JB, Busso NE

Projeto Alfa-Fertilização Assistida

**OBJETIVO:** Investigar possíveis interferências da infertilidade na sexualidade das mulheres, assim como, a presença de depressão nestas pacientes e a influência desta última na vida sexual desta população. **MATERIAL E MÉTODOS:** Participaram desta pesquisa 140 mulheres que buscavam por tratamentos de reprodução assistida, sem ainda terem iniciado nenhum tipo de tratamento até o momento (com idades entre 24 a 47 anos) e 45 mulheres sem desejo reprodutivo e que faziam uso de algum método contraceptivo (grupo controle) com idades entre 20 a 45 anos. Foram utilizados: o Inventário do Quociente Sexual (versão

feminina)- o qual trata-se de um instrumento composto de 10 questões que investigam cada fase do ciclo de resposta sexual, o Inventário Beck de Depressão e um questionário investigando aspectos do relacionamento conjugal e sexual, elaborado especialmente para esse estudo. Utilizou-se o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney para avaliar a associação do QSF com presença de filhos e o teste do qui-quadrado para comparar a presença de disfunção sexual nos dois grupos; já para as demais correlações utilizou-se a Correlação de Pearson. **RESULTADOS:** Notou-se, relacionado às mulheres inférteis, que: 13.5% delas apresentaram falta de libido, 12.1% dificuldade de excitação sexual, 10.8% dispareunia e 20% problemas para atingir o orgasmo; já relacionado ao grupo controle encontramos que: 20% das mulheres apresentaram falta de libido, 0% dificuldade de excitação sexual, 6.6% dispareunia e 13.3% dificuldade para atingir o orgasmo, portanto, nota-se que a dificuldade de gravidez interferiu de forma negativa, principalmente, na excitação sexual destas mulheres ( $p=0.014$ ). Além disso, de forma geral, as mulheres inférteis apresentaram, significativamente, menor satisfação sexual que o grupo controle ( $p=0.003$ ). Houve piora da vida sexual quanto maior o tempo de infertilidade ( $p=0.016$ ). Mulheres inférteis que já possuíam filhos apresentaram melhor satisfação sexual comparadas às que não o possuíam, embora esse dado não tenha sido significativo ( $p=0.052$ ). A presença ou ausência de abortos anteriores não demonstrou interferências na sexualidade destas mulheres. Já relacionado à depressão percebeu-se que esta influenciou negativamente na sexualidade destas mulheres ( $p < 0.001$ ). **CONCLUSÃO:** A vivência da infertilidade, assim como, sentimentos depressivos dela decorrentes, interferem

### 03 - Eficácia da microscopia de polarização como preditor de formação de embriões de boa qualidade

Maria Cristina Picinato; Roberta Cristina Giorgenon; Rui Alberto Ferriani; Paula Andrea de Albuquerque Sales Navarro, Wellington de Paula Martins, Ana Carolina Japur de Sá Rosa e Silva

Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Setor de Reprodução Humana, Ribeirão Preto - SP, Brasil

**OBJETIVO:** Avaliar a aplicação da microscopia de polarização na visualização e posicionamento do fuso meiótico correlacionado-os com as taxas de fertilização, clivagem e formação de embriões de boa qualidade no D2 do desenvolvimento embrionário e aos fatores etiológico mais prevalentes de infertilidade (fator masculino (controle), endometriose e fator ovulatório).

**MÉTODOS:** Trata-se de um estudo retrospectivo, onde foram incluídas 200 pacientes inférteis, predominantemente por fator masculino, endometriose e ovulatório, submetidas à procedimento de Reprodução Assistida. Analisou-se 1000 oócitos com primeiro corpúsculo polar visível por meio de observação não invasiva do fuso meiótico, utilizando-se o sistema de imagem de polarização (OCTAX ICSI Guard™ System). Esta avaliação visou à identificação do fuso meiótico oocitário previamente à realização da Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI), classificando-o como visível em metáfase II (MII), visível em telófase (TI) e não visível (NV). Além disso, nos oócitos em MII foi feita classificação do fuso de acordo com sua localização em relação ao corpúsculo polar. Imediatamente após esta observação, os oócitos foram submetidos à ICSI e avaliados quanto à fertilização, clivagem e formação de embriões de boa qualidade

no D2 do desenvolvimento embrionário. **RESULTADOS:** Dos oócitos analisados, tivemos maior percentagem (82,7%) de fusos MII em comparação ao NV e TI (13,4% e 3,9%, respectivamente). Nos oócitos em MII não houve diferença entre as posições observadas, o que permitiu a análise destes oócitos em um único grupo. Observamos maiores taxas de fertilização e clivagem nos oócitos em MII (84,4% e 70,13%) quando comparados aos em TI (66,67% e 51,28%). Entretanto, não foi encontrada diferença em nenhum dos grupos estudados com relação à formação de embriões de boa qualidade em D2. Considerando-se os principais fatores de infertilidade, também não foi encontrada nenhuma diferença significativa entre eles em relação à apresentação do fuso. **CONCLUSÕES:** A visibilização do fuso de oócitos em MII, por meio da microscopia de polarização, está correlacionada com melhores resultados no desenvolvimento precoce dos embriões (fertilização e clivagem), quando comparado a oócitos em TI, independente de sua posição em relação ao corpúsculo polar; embora isto não garanta maiores taxas de formação de embriões de boa qualidade no D2 do desenvolvimento embrionário. Também não observamos influência do fator de infertilidade na característica do fuso à microscopia de polarização.

#### 04 - Benefícios da injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados (IMSI) em casais com idade materna avançada: um estudo prospectivo e randomizado

Edson Borges Jr<sup>1,2</sup>, M.D., PhD., Amanda Souza Setti<sup>1,2</sup>, B.Sc., Daniela Paes de Almeida Ferreira Braga<sup>1,2</sup>, M.Sc., Rita de Cássia Sávio Figueira<sup>1</sup>, M.Sc., Simone Santaguita Colturato<sup>1</sup>, B.Sc., Assumpto Iaconelli Jr.<sup>1,2</sup>, M.D.

<sup>1</sup>Fertility - Centro de Fertilização Assistida, São Paulo - SP; <sup>2</sup>Associação Instituto Sapientiae - Centro de Estudo e Pesquisa em Reprodução Humana Assistida, São Paulo - SP

**OBJETIVO:** Avaliar a idade materna avançada como indicação para a realização da injeção intracitoplasmática de espermatozoide morfologicamente selecionado (IMSI). Materiais e Métodos: Este estudo incluiu 66 casais submetidos à ICSI como resultado da idade materna avançada ( $\geq 37$  anos). Os casais foram aleatoriamente alocados para receber um dos dois procedimentos de seleção de espermatozoides: ICSI ( $n=33$ ) ou IMSI ( $n=33$ ). Os grupos foram comparados em relação aos resultados dos ciclos.

**RESULTADOS:** As idades materna ( $40,8 \pm 1,7 \times 41,1 \pm 2,6$ ,  $p=0,552$ ) e paterna ( $38,8 \pm 3,3 \times 39,4 \pm 7,4$ ,  $p=0,630$ ) não diferiram entre os grupos ICSI e IMSI. Não houve diferenças significativas entre os grupos ICSI e IMSI em relação ao número de folículos ( $10,0 \pm 15,4 \times 9,0 \pm 5,3$ ,  $p=0,763$ ), oócitos obtidos ( $7,0 \pm 8,8 \times 6,4 \pm 4,1$ ,  $p=0,780$ ) e oócitos maduros ( $5,0 \pm 5,3 \times 5,0 \pm 2,7$ ,  $p=1,000$ ). As taxas de fertilização ( $69,7 \times 67,1\%$ ;  $p=0,727$ ) e de embriões de alta qualidade no terceiro dia de desenvolvimento ( $44,3 \times 48,5\%$ ,  $p=0,615$ ) foram semelhantes entre os grupos ICSI e IMSI. No entanto, a taxa de formação de blastocistos ( $19,6 \times 34,1\%$ ,  $p=0,001$ ) e embriões transferidos ( $1,1 \pm 0,3 \times 1,5 \pm 0,6$ ,  $p=0,003$ ) foram maiores no grupo IMSI. Os ciclos de IMSI apresentaram taxas de implantação ( $12,1 \times 38,3\%$ ,  $p=0,026$ ) e gestação ( $13,8 \times 60,0\%$ ,  $p<0,001$ ) significativamente maiores do que o grupo ICSI. A realização da IMSI influenciou positiva-

mente a taxa de formação de blastocisto (RC: 15,00; R2: 49,9%,  $p=0,001$ ) e a taxa de implantação (RC: 24,04; R2: 9,6;  $p=0,027$ ), e foi determinante para o aumento das chances de gestação (OR: 9,0,  $p=0,001$ ). **CONCLUSÕES:** Em casais com idade materna avançada ( $\geq 37$  anos), a realização da IMSI resulta em maiores taxa de formação de blastocistos, implantação e gestação em comparação com a ICSI. A injeção de um espermatozoide morfologicamente normal parece superar a baixa qualidade dos oócitos em mulheres mais velhas, resultando em embriões de melhor qualidade, maiores taxas de implantação e em um aumento de 9 vezes na chance de gestação.

#### 05 - Valor preditivo do potencial de implantação do blastocisto pelo perfil químico do meio de cultivo e estatística multivariada – Estudo piloto

Sylvia Sanches Cortezzi<sup>1</sup>, PhD., Marcello Garcia Trevisan<sup>2</sup>, PhD., Elaine Cristina Cabral, PhD.<sup>3</sup>, Eduardo Morgado Schmidt<sup>3</sup>, MSc., Marcos Nogueira Eberlin<sup>3</sup>, PhD., Edson Borges Jr<sup>4</sup>, M.D., PhD.

<sup>1</sup>Instituto Sapientiae – Centro de Estudo e Pesquisa em Reprodução Humana Assistida, São Paulo, SP; <sup>2</sup>Instituto de Química, Universidade Federal de Alfenas. Alfenas, MG; <sup>3</sup>Laboratório Thomson de Espectrometria de Massas - Instituto de Química - UNICAMP, Campinas, SP; <sup>4</sup>Instituto Sapientiae – Centro de Estudo e Pesquisa em Reprodução Humana Assistida, São Paulo, SP; Fertility – Centro de Fertilização Assistida, São Paulo – SP

**OBJETIVO:** Avaliar o desempenho de um modelo de estatística multivariada na predição do potencial de implantação do blastocisto pela avaliação do perfil químico de meios de cultivo de embriões humanos por espectrometria de massas (MS). **MATERIAIS E MÉTODOS:** O meio de cultivo no qual os embriões permaneceram por um período de 48 horas foi coletado e armazenado após a transferência de 85 blastocistos de 38 pacientes submetidas à ICSI. As amostras foram divididas em grupos de acordo com os resultados de implantação, 100% ( $n = 15$ , 8 pacientes), 66,7% ( $n = 12$ , 4 pacientes), 50% ( $n = 16$ , 8 pacientes), 33,3% ( $n = 21$ , 7 pacientes) e 0% de implantação ( $n = 21$ , 11 pacientes). As amostras foram diluídas e analisadas individualmente em um espectrômetro de massas LTQ FT Ultra acoplado a uma fonte de nanoelectrospray em modo negativo. Os dados foram exportados pelo programa Xcalibur 2.0 e organizados em uma matriz no programa MarkerLynx. A análise multivariada dos dados foi realizada no programa MatLab versão 7.0, utilizando a ferramenta Partial Least Squares – Discriminant Analysis. **RESULTADOS:** Foram observados 6.476 íons no intervalo de  $m/z$  100 a 1000. Os espectros das amostras de meio de cultivo de blastocistos 0% e 100% de implantação foram organizados em um conjunto de calibração ( $n = 36$ ) e os espectros de amostras 66,7%, 50% e 33,3% de implantação foram utilizados para validação ( $n = 49$ ). O modelo de estatística multivariada descreveu 92,2% da variância dos dados e foi capaz de predir corretamente a origem de todas as amostras de calibração. No processo de validação, o modelo multivariado foi capaz de predir com 87,8% de probabilidade as amostras do grupo 66,7%. Já as amostras dos grupos 50% e 33,3% foram classificadas com precisão de 100% de probabi-

idade. **CONCLUSÕES:** Estes resultados preliminares mostram que o perfil químico de meios de cultivo por MS difere entre os blastocistos com resultado positivo e negativo de implantação. O modelo de estatística multivariada foi capaz de prever com alto nível de confiança o potencial de implantação individual dos blastocistos. Esta tecnologia, aliada à morfologia embrionária, permitirá a seleção do melhor e único embrião para a transferência.

## 06 - Critérios de seleção de pacientes para programas de transferência de blastocisto

Daniela Paes de Almeida Ferreira Braga<sup>1,2</sup>, M.Sc., Rita de Cássia Sávio Figueira<sup>1</sup>, M.Sc., Amanda Souza Setti<sup>1,2</sup>, B.Sc., Matheus de Castro Azevedo<sup>1</sup>, B.Sc., Assumpto Iaconelli Jr.<sup>1,2</sup>, M.D., Edson Borges Jr.<sup>1,2</sup>, M.D., PhD.

<sup>1</sup>Fertility - Centro de Fertilização Assistida, São Paulo - SP;  
<sup>2</sup>Associação Instituto Sapientiae - Centro de Educação e Pesquisa em Reprodução Humana Assistida, São Paulo - SP

**OBJETIVO:** Identificar a possível correlação entre diferentes características das pacientes e dos ciclos de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) e características morfológicas do blastocisto. **MATERIAIS E MÉTODOS:** O estudo incluiu 2781 embriões obtidos de 420 pacientes submetidas a ciclos de ICSI entre Janeiro e Dezembro de 2011. Todos os embriões foram avaliados 16-18 h após a ICSI e nos dias dois, três e cinco de desenvolvimento. Os blastocistos foram classificados de acordo com o grau de desenvolvimento, qualidade do maciço celular interno (MCI) e qualidade do trofotoderma (TA). A correlação entre cada parâmetro do blastocisto e as seguintes variáveis foi avaliada: (i) idade materna; (ii) idade paterna; (iii) dose de FSH para o estímulo ovariano; (iv) nível sérico do 17 $\beta$ -estradiol; (v) número de folículos aspirados; (vi) número de oócitos recuperados; (vii) índice de massa corpórea (IMC); (viii) concentração seminal; (ix) motilidade espermática e (x) morfologia espermática. Além disso, a influência da causa de infertilidade nos parâmetros morfológicos do blastocisto foi avaliada. **RESULTADOS:** O desenvolvimento do blastocisto foi negativamente influenciado pela idade materna (CC: -0.095, p<0.001), pelo IMC (CC: -0.038, p<0.001) e pela dose de FSH (CC: -0.038, p=0.046). A qualidade do MCI foi influenciada apenas pela dose de FSH (CC: -0.031, p=0.044), enquanto a qualidade do TA foi influenciada pela dose de FSH (CC: -0.073, p<0.001), idade materna (CC: -0.067, p<0.001) e número de oócitos recuperados (CC: -0.030, p=0.050). Em relação à causa de infertilidade, foi demonstrado que a presença de fator ovariano (OR: 1.92, IC: 1.86-1.99, p=0.025), síndrome dos ovários policísticos (OR: 1.44, IC: 1.26-1.76, p=0.003) e de endometriose (OR: 2.00, IC: 1.34-3.99, p=0.003) podem diminuir em até duas vezes a chance de se obter um blastocisto de boa qualidade. **CONCLUSÕES:** A seleção de pacientes para transferência de embriões no quinto dia de desenvolvimento deve ser feita com cautela. Pacientes com idade avançada, alto IMC e casais com fator feminino de infertilidade não se beneficiam do cultivo embrionário estendido. Nossos achados sugerem ainda que um estímulo ovariano mais ameno, levando à recuperação de um menor número de oócitos pode ser mais apropriado para programas de transferência de blastocistos.

## 07 - Imagem por time-lapse e o movimento ideal para clivagem embrionária no terceiro dia de desenvolvimento - Resultados preliminares

Semião-Francisco, L.; Samama, M; Ueno, J.

GERA-Grupo de Endoscopia e Reprodução Assistida, São Paulo, Brasil

**OBJETIVO:** O objetivo deste estudo é avaliar o tempo levado pelo embrião para alcançar 2,3, 4 e 8 células e seu potencial de resultar em gestação positiva, através de um sistema de imagem time-lapse. **MATERIAL E MÉTODOS:** Em um estudo preliminar prospectivo, trinta e seis pacientes foram submetidas à estimulação ovariana controlada. Após a ICSI, os oócitos foram colocados em uma placa de nove poços (WOW dish- Cryo Innovation) para avaliação da clivagem por time-lapse (Primovision- Cryo Innovation). O tempo levado para os embriões atingirem 2 (T2), 3 (T3), 4 (T4) e 8 células (T8) foi gravado. A transferência embrionária foi realizada no 3º dia de desenvolvimento. Dois grupos de embriões foram estabelecidos: 32 embriões que levaram a gestação positiva em 15 pacientes (GP= grupo de gestação positiva) e 36 embriões que levaram a gestação negativa em 18 pacientes (GN= grupo de gestação negativa). Para avaliar a associação entre as variáveis independentes (tempo (horas) para alcançar certo número de células) e gestação, foi utilizada uma análise de regressão múltipla; os resultados foram dados em odds ratio, intervalo de confiança de 95% e valor de P significativo a P<0,05 e os modelos de regressão foram ajustados para a idade. **RESULTADOS:** A análise sugere que quanto maior o tempo necessário para o embrião alcançar T8, maior a chance de gestação (OR: 1.6, IC95%: 0.98-2.66, p<0.059) corroborado por uma correlação de Pearson positiva entre T8 e gestação positiva (p=0,03) e chance de implantação (p=0,03). Quando comparado o tempo médio para os embriões GP chegarem a T8 (62.44  $\pm$  2.89 horas) e os embriões GN chegarem a T8 (59.12  $\pm$  3.0 horas, p=0.003), foi observada diferença estatística. Não foram encontradas correlações entre T2, T3, T4 e gestação. **CONCLUSÃO:** Este estudo mostra que não somente o número de células, mas o tempo que o embrião leva para alcançá-las é importante. As chances de gestação são aumentadas em 60% a cada hora que o embrião demora a chegar ao estágio de 8 células, estando de acordo com estudos prévios que indicam que a clivagem rápida pode levar a erros de imprinting e anormalidades cromossômicas.

## 08 - Relato de caso de coleta de sêmen pós-morte para um programa de fertilização in vitro: cuidados a serem tomados

Edilberto Araújo Filho<sup>1</sup>, Cássio Leão Fácio<sup>1</sup>, Luís Antônio Velani<sup>1</sup>, Rui Nogueira Barbosa<sup>1</sup>, Lígia Fernanda Previato de Araújo

<sup>1</sup>Centro de Reprodução Humana de São José do Preto (CRH), São José do Rio Preto, SP, Brasil

**INTRODUÇÃO:** Póstumas de recuperação de espermatozoides é a extração de sêmen viável de homem recém falecido e usá-lo futuramente na fertilização da parceira.

Muito se discute sobre tempo de recuperação do sêmen e dilemas médicos, jurídicos e éticos que esse procedimento representa. **DESCRIÇÃO:** R.T.S., 58 anos e O.V.S., 31 anos procuraram tratamento de FIV. Tentativas anteriores falharam resultando em aborto. A paciente apresentava ciclos menstruais regulares, tireóide e prolactina normais e ultrassom transvaginal sem alterações. O marido apresentava oligospermia severa decorrente de orquite por caxumba. Referia ter Doença de Chagas com arritmia cardíaca controlada. A paciente submeteu-se à estimulação ovariana. No 9º dia do ciclo (durante o tratamento), o marido sentiu-se mal na recepção da clínica sofrendo parada cardiorrespiratória. Realizou-se manobras de ressuscitação e o transferimos para o hospital, local onde faleceu. A esposa questionou sobre possível coleta de material genético do marido. Nosso advogado foi consultado sobre a legalidade desse procedimento, informando-nos que o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) não referia coleta pós-morte. Solicitou então "liminar de autorização de realização de punção testicular para extração de espermatozoides de pessoa falecida" ao juiz (dia do ocorrido), sendo acatada, mas "o material genético deveria ser congelado e não poderia ser utilizado para qualquer finalidade sem prévia autorização judicial". O juiz refere que a requerente deverá posteriormente ajuizar ação própria para obter ou não a autorização para uso dos espermatozoides congelados. Cinco horas após o falecimento a equipe do CRH realizou punção dos epidídimos. Foi coletado 3 milhões de espermatozoides viáveis. Amostra seminal foi congelada. A esposa submeteu-se à coleta oocitária (quatro dias após o incidente): 15 ovócitos maduros foram obtidos e vitrificados. **COMENTÁRIOS:** Esse relato visa alertar centros de reprodução humana da possibilidade de encontrar espermatozoides viáveis pós-morte. Outro ponto é incluir no TCLE um dispositivo que autorize coleta de gametas (masculino e feminino) em caso de morte durante o tratamento para que o cônjuge possa continuar o tratamento que, nesse caso não foi possível e será alvo de disputa judicial.

## 09 - Diagnóstico genético pré-implantacional por CGH-array- Caracterização das aneuploidias e sua relação com a idade materna

Ana Luiza Sgarbi Rossi<sup>1</sup>; Lara Freitas Nunes Correa<sup>2</sup>; José Roberto Alegretti<sup>2,3</sup>; Juliana Cuzzi<sup>4</sup>; Eduardo Leme Alves da Motta<sup>2,3</sup>; Paulo Serafini<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>Centro de Reprodução Humana do Hospital e Maternidade Santa Joana, São Paulo, Brasil; <sup>2</sup>Huntington Medicina Reprodutiva, São Paulo, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, São Paulo, Brasil; <sup>4</sup>Genesis Genetics Brasil, São Paulo, Brasil; <sup>5</sup>Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, Brasil

**OBJETIVO:** Avaliar as taxas de aneuploidias embrionárias obtidas pelo diagnóstico genético pré-implantacional (DPI) pela Hibridação Genômica Comparativa por array (CGH-array) em biópsia de trofotoderma em pacientes com diferentes idades submetidas à Fertilização In Vitro (FIV). **MATERIAIS E MÉTODOS:** Entre 01/2011 até 04/2012 foram avaliados 280 ciclos de FIV+CGH-array em pacientes com histórico de falhas prévias de FIV e abortos recorrentes. O DPI foi realizado em dia 5 (D5) pela remoção de células da trofotoderma. Os dados foram divididos em 5 grupos de acordo com a idade: A= <35 anos, B=35-37 anos, C=38-40 anos, D=41-42 anos, E=>42 anos. Foram analisados

os percentuais de aneuploidias encontradas e foram divididas em anomalias únicas, múltiplas (2 a 3 cromossomos) e complexas (4 ou mais cromossomos). **RESULTADOS:** Foram avaliados um total de 1007 embriões em estágio de blastocisto, sendo 692 aneuploides (68,7%), distribuídos em anomalias únicas (n=290), múltiplas (n=216) e complexas (n=186). O percentual geral de aneuploidias encontrado foi: A=58%, B=69%, C=75%, D=76; E=91%. As anomalias únicas foram distribuídas em: A=46%, B=46%, C=44%, D=32; E=17%. Já a presença de anomalias múltiplas foi: A=23%, B=29%, C=35%, D=38; E=30%. A análise das anomalias complexas mostrou: A=22%, B=21%, C=18%, D=30; E=53%. **CONCLUSÃO:** A interpretação dos resultados obtidos vai de encontro com o preconizado: a presença de aneuploidia embrionária em ciclos de FIV está diretamente associada ao aumento da idade materna. Contudo, nosso estudo evidencia uma maior incidência de anomalias únicas abaixo de 38 anos e um aumento das denominadas anomalias complexas acima desta mesma faixa etária. Fato este também esperado, visto que o aumento da idade materna afeta o mecanismo de disjunção cromossômica, podendo comprometer a segregação de todos os cromossomos, já as aneuploidias em ovócitos jovens é resultado de evento aleatório e isolado. Deste modo, a análise da totalidade cromossômica deve ser indicada para ciclos de DPI.

## 10 - O valor preditivo da morfologia embrionária em dia 3 para o cultivo de blastocistos em diferentes grupos etários: avaliação de 4867 pré-embriões

Paula Matunaga<sup>1</sup>; Mariana Piccolomini<sup>1</sup>; Raquel Mazetor<sup>1</sup>; José Roberto Alegretti<sup>1,2</sup>; EDUA Eduardo Motta<sup>1,2</sup>; Paulo Serafini<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Huntington - Medicina Reprodutiva São Paulo; <sup>2</sup>Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP - Departamento de Ginecologia; <sup>3</sup>Universidade de São Paulo - USP - Centro de Reprodução Humana Mario Covas

**OBJETIVO:** Avaliar o valor preditivo da morfologia embrionária em dia 3 (D3) e sua correlação com a taxa de formação de blastocistos baseado em embriões de boa qualidade morfológica (BQMD3), ainda, sua correlação com diferentes grupos etários em pacientes submetidas a ciclos de Fertilização in vitro (FIV). **MÉTODOS:** Entre janeiro/2010 e março/2012 foram analisados 547 ciclos de casais submetidos à FIV. As pacientes foram divididas em grupos etários: A) ≤35 anos, B) 36-39 anos; C) ≥40 anos. Após a coleta dos óvulos, ICSI foi realizada nos ovócitos maduros e a fertilização foi considerada na presença de 2 prônúcleos (2PN). Em D3, foram classificados como BQMD3 todos entre 7 a 10 células com até 10% de fragmentação, e em dia 5 (D5), como blastocistos todos aqueles com presença de blastocelo. Análises estatísticas foram realizadas com ANOVA, comparação múltipla de Tukey e qui-quadrado (p<0,05). **RESULTADOS:** Um total de 7476 ovócitos foram coletados (A=5030; B=1788 e C=658) destes, 4874 ovócitos maduros foram fertilizados (A=3170; B=1237 e C=467). Observou-se diferenças significativas na análise da média de BQMD3 [(A=3,32±2,9; B=2,72±2,5 e C=2,17±2,2)/(AxB-AxC:p<0,001 e BxC: p=0,024)] e média de blastocistos [(A=4,7±3,0; B=4,3±2,0 e C=2,9±2,0)/(AxC; p<0,001 e BxC; p=0,018)]. A taxa de formação de blastocisto em relação ao número de embriões fertilizados foi diferente no grupo C em relação aos outros 2 grupos [(A=52,5%; B=51,6% e C= 41,4%)/

(AxC:  $p=0,001$  e BxC:  $p=0,01$ ]. Contudo, não foram observadas diferenças entre os grupos na taxa de conversão de BQMD3 para blastocisto (A=94,6%; B=95,1% e C=75,6%;  $p>0,05$ ). **CONCLUSÕES:** O presente estudo corrobora com a influência da idade materna nos ciclos de FIV. Mulheres acima de 40 anos apresentaram declínio no número de blastocistos formados, contudo, a presença de embriões de boa qualidade morfológica no dia 3 possibilitou taxas de conversão a blastocisto similares aos grupos com idade inferior. Deste modo, a boa qualidade morfológica mostrou-se como indicativo eficiente para o cultivo até o dia 5 mesmo em pacientes com idade avançada.

## 11 - Efeito do tratamento com antioxidante nos parâmetros seminais de homens subfêrteis: Estudo duplo cego, randomizado, placebo controlado

Tatiana Moreira da Silva; Mônica Canêdo Silva Maia; Jalsi Tacon Arruda; Mário Silva Approbato; Fabiana Carmo Approbato; Carolina Rodrigues de Mendonça

Laboratório de Reprodução Humana - Hospital das Clínicas / Depto de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal de Goiás

**OBJETIVO:** avaliar o efeito da suplementação com ácido fólico nos parâmetros espermáticos de homens subfêrteis. **MATERIAL E MÉTODOS:** 49 pacientes com idade média de 35,3 anos ( $\pm 7,7$ ) foram randomicamente alocados em dois grupos: tratado (GT) e controle (GC). O GT ( $n=23$ ) recebeu ácido fólico 5 mg/dia e o GC ( $n=26$ ) recebeu placebo, ambos por 3 meses. Para constatar a condição de subfertilidade, realizaram-se dois espermogramas (intervalo de 15 dias entre o primeiro e segundo exame, abstinência 2-7 dias, conforme recomendações da OMS). Exames pré e pós-intervenção realizados no mesmo laboratório por duas profissionais, seguindo os critérios da OMS, 1999. Nessa pesquisa avaliaram-se os seguintes parâmetros: concentração, motilidade, morfologia e vitalidade. **RESULTADOS:** A concentração média de espermatozoides ( $\times 10^6/\text{mL}$ ) no GT antes e após a intervenção foram, respectivamente, 25,9 ( $\pm 24,1$ ) e 26,1 ( $\pm 24,5$ ). No GC as médias foram: 20,8 ( $\pm 19,7$ ) e 20,1 ( $\pm 16,3$ ). Quanto a motilidade, as médias de espermatozoides móveis progressivos no grupo tratado antes e após a terapêutica foram, respectivamente, 46,5% ( $\pm 14,9$ ) e 48,3% ( $\pm 10,7$ ); e no GC foi de 49,2% ( $\pm 13,5$ ) e 49,6% ( $\pm 11,9$ ). A média de morfologia normal no GT antes e após o ácido fólico foram 23,3% ( $\pm 2,9$ ) e 23,9% ( $\pm 3,7$ ); e no GC antes e após o placebo 22,3% ( $\pm 3,5$ ) e 24,2% ( $\pm 3,1$ ), respectivamente. A vitalidade apresentou média de 66,7% ( $\pm 8,7$ ) e 69,6% ( $\pm 8$ ) antes e após a intervenção, respectivamente, no GT. Já o GC apresentou 65,8% ( $\pm 9,4$ ) e 65,4% ( $\pm 12,6$ ), respectivamente. Aplicou-se o teste qui-quadrado em ambos os grupos. Observamos que não houve melhora estatisticamente significativa em nenhum dos parâmetros avaliados. **CONCLUSÕES:** nesse trabalho, o tratamento com ácido fólico na dosagem de 5 mg/dia não melhorou os parâmetros espermáticos em homens subfêrteis. Embora alguns estudos tenham verificado benefícios com o tratamento de antioxidantes (AHMAD et al., 2010; GHANEM et al. 2010; IMHOF et al., 2011; SAFARINEJAD, 2011), outros não conseguiram observar qualquer efeito (SIGMAN et al., 2006; TUNC et al., 2009). A combinação de diferentes substâncias e dosagens durante períodos variáveis dificultam a identificação do componente ativo e a padronização terapêutica. Assim, este trabalho procurou avaliar o efeito do ácido fólico usando-o isoladamente.

## 12 - Utilização do diagnóstico genético pré-implantacional por CGH-array, nas falhas repetidas de implantação e abortos recorrentes

Thelma C. Criscuolo<sup>1</sup>, Bruna C. Barros<sup>1</sup>, Mariana M. Piccolomini<sup>1</sup>, Péricles Hassun<sup>2</sup>, Paulo Serafini<sup>1,3</sup>, Eduardo Motta<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Huntington Medicina Reprodutiva, São Paulo, Brasil; <sup>2</sup>Genesis Genetics Brasil, São Paulo, Brasil; <sup>3</sup>Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, Brasil; <sup>4</sup>Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil

**OBJETIVO:** Reportar a experiência da biopsia pré-implantacional para análise cromossômica por Hibridação Genômica Comparativa por array (CGH-array), na fase de blastocisto, em pacientes submetidas a ciclos de Fertilização in vitro (FIV) com histórico de falhas sucessivas de implantação e/ou abortos de repetição. **MATERIAIS E MÉTODOS:** No período de novembro/2010 a abril/2012 foram analisados 75 ciclos de FIV em casais com histórico prévio de 3 ou mais falhas em ciclos FIV e/ou 2 ou mais abortamentos. Em todos os casos, os embriões foram submetidos a hatching assistido por sistema laser em dia 3, com subsequente cultivo a 90%N2/5%O2/5%CO2 até dia 5. Em dia 5 a biópsia embrionária foi realizada em estágio de blastocisto, com transferência de embriões euplóides a fresco em dia 6. **RESULTADOS:** A idade média das pacientes foi de 37,8 $\pm$ 3,8 anos, com média de 11,5 $\pm$ 5,7 ovócitos coletados, 9,8 $\pm$ 5,1 ovócitos maduros e 8,4 $\pm$ 4,4 ovócitos fertilizados. Um total de 271 blastocistos foram biopsiados (média de 3,7 $\pm$ 1,5/paciente), sendo obtidos 75 blastocistos euplóides (27,6%). Dos 75 ciclos iniciados, em 31 ciclos (41,3%) não foi realizada a transferência embrionária pois foram identificados apenas embriões aneuploides. Foram transferidos um total de 64 embriões em dia 6 (média de 1,45 $\pm$ 0,8/paciente). A taxa de gestação por ciclo iniciado foi de 29,3%, sendo representada por 35,9% de taxa de implantação e de 50% de gestação por transferência realizada. Observou-se ainda 9% de gestações bioquímicas e 10% de perdas gestacionais anteriores a 9 semana. **CONCLUSÕES:** A biópsia embrionária por CGH-array provou ser uma ferramenta importante para casais com falhas recorrentes e/ou histórico de aborto, submetidos à FIV. Quando presentes os embriões euploides, foram corretamente identificados os casais aptos a apresentar resultados positivos. Deste modo, o estudo sugere que a tecnologia, quando aplicada a casais bem selecionados, pode oferecer taxas de implantação e gestação semelhantes às taxas observadas em pacientes sem histórico prévio de falhas de implantação/aborto. Deve-se ressaltar que os casais devem ser preparados para possíveis resultados negativos, pois quase metade deles não obtiveram embriões normais, levando ao cancelamento da transferência dos embriões, embora mesmo nesta situação, a determinação da aneuploidia pode levar ao melhor conhecimento e correto aconselhamento futuro.

## 13 - Cápsula de vitrificação: Uma idéia simples e eficiente para criopreservação de tecido ovariano. Resultados histológicos

Bos-Mikich A, Aquino D, Danielli L, Rigon PSL, Oliveira NP, Frantz N

Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz

**OBJETIVO:** a criopreservação de tecido ovariano é uma opção importante para meninas e mulheres, que enfrentam uma condição oncológica. Vitrificação é uma alternativa de criopreservar o tecido ovariano, mas o contato com o nitrogênio líquido (Nli) pode oferecer riscos futuros à paciente. Nosso objetivo foi testar a eficiência, em termos morfológicos, de cápsulas e um recipiente metálicos, para a criopreservação de tecido ovariano bovino, como modelos para terapia humana com grau clínico. Atenção foi dada aos folículos primordiais e primários e ao estroma, responsável pela re-vascularização pós-transplante. **MATERIAL E MÉTODOS:** ovários de novilhas chegaram ao laboratório em 2hs. Fragmentos de 1 x 1x 1 mm do córtex foram vitrificados ou serviram de controle. Os tecidos passaram pela solução equilíbrio de 7.5% etileno glicol (EG) e DMSO, seguida pela solução vitrificação de 15% de EG e DMSO e 0.6 M sacarose, ambas em HTF, 15min cada,. Após os tecidos foram acomodados na base das cápsulas ou do recipiente metálicos, que estavam em uma bandeja com Nli. As cápsulas introduzidas criotubos e o recipiente vedado foram imersos no Nli. Para reaquecimento, os criotubos e o recipiente ficaram à temperatura ambiente por 30-40 seg e banho Maria a 37°C por 30 seg. Os tecidos foram transferidos direto para as soluções de desvitrificação compostas de 1 e 0.5M de sacarose, por 5 min em cada, antes de serem fixados. **RESULTADOS:** análises histológicas demonstraram não haver diferenças significativas na morfologia folicular e do estroma entre os fragmentos criopreservados nas cápsulas e o controle. Os fragmentos do recipiente metálico apresentaram poucos folículos, metade deles intactos e o estroma sem qualquer diferença em relação ao controle. No estroma, as células mantiveram núcleos fusiformes heteropícnóticos e as fibras colágenas compactadas e íntegras, preenchendo espaços em torno dos folículos e vasos. **CONCLUSÕES:** estes resultados indicam que ambos os sistemas de vitrificação em recipientes metálicos são métodos válidos e apropriados para criopreservação de tecido ovariano visando terapias com grau clínico, devendo-se enfatizar a manutenção da integridade dos folículos primordiais e primários, representantes da reserva ovariana feminina e seu potencial reprodutor.

## 14 - O fluido folicular de mulheres inférteis com endometriose leve pode comprometer o fuso meiótico de oócitos em metáfase II

Michele Gomes Da Broi<sup>1</sup>, Helena Malvezzi<sup>1</sup>, Alessandra Aparecida Vireque<sup>1</sup>, Claudia Paro de Paz<sup>2</sup>, Rui Alberto Ferriani<sup>1, 3</sup>, Paula Andrea Navarro<sup>1, 3</sup>

<sup>1</sup>Setor de Reprodução Humana, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, <sup>2</sup>Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, <sup>3</sup>Instituto Nacional de Hormônios e Saúde da Mulher, CNPq, Brasil

**OBJETIVO:** Os mecanismos envolvidos na etiopatogênese da infertilidade relacionada à endometriose não foram totalmente elucidados, principalmente nos estádios iniciais da doença. Questionamos a possibilidade de haver alterações no microambiente folicular dessas pacientes, o que poderia afetar a aquisição de competência oocitária e comprometer a fertilidade natural e os resultados de fertilização in vitro de mulheres com endometriose.

O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto de diferentes concentrações de fluido folicular (FF) de mulheres inférteis com e sem endometriose sobre a integridade do fuso, alinhamento cromossômico e organização dos microfilamentos de actina de oócitos bovinos maturados in vitro.

**MATERIAL E MÉTODOS:** amostras de FF foram obtidas de 22 pacientes inférteis (11 com endometriose leve (EL) e 11 controles com infertilidade por fator tubário e/ou masculino) submetidas à estimulação ovariana controlada para injeção intracitoplasmática de espermatozóide. Oócitos bovinos foram submetidos à maturação in vitro (MIV) com meio padrão (sem fluido) e com meio padrão acrescido de quatro concentrações (1%, 5%, 10%, e 15%) de dois FF (um de paciente com EL e outro de paciente controle). Foram realizadas 11 MIVs e cada FF foi utilizado apenas uma vez. Os oócitos foram fixados, corados por imunofluorescência para visualização do fuso e cromossomos e analisados em microscópio confocal. Os oócitos em metáfase II em visão sagital, com fuso em forma de barril e cromossomos alinhados na placa metafásica foram classificados como normais. Para análise estatística, utilizou-se Distribuição Gamma e teste do X<sup>2</sup>. Foi considerado significativo  $p < 0,05$ . **RESULTADOS:** Não houve diferença para a frequência de anormalidades meióticas entre as concentrações testadas dentro de cada grupo e entre os grupos controle e sem fluido. A frequência de anormalidades meióticas em oócitos em MII foi significativamente maior naqueles maturados com FF de pacientes com EL (55,8 %) quando comparados com oócitos maturados com FF de pacientes controles (23,07 %) ( $p < 0,01$ ). **CONCLUSÕES:** oócitos bovinos maturados in vitro na presença de FF de mulheres inférteis com EL têm maior frequência de anormalidade meiótica. Estes dados sugerem que o FF de mulheres inférteis com endometriose leve pode comprometer a qualidade oocitária por promover danos ao fuso meiótico e/ou alinhamento cromossômico. **SUORTE:** INCT/CNPq. **PALAVRAS-CHAVE:** endometriose leve; infertilidade feminina; maturação in vitro; fluido folicular; fuso meiótico; qualidade oocitária.

## 15 - Suplementação do meio de congelação com fosfolipídio aumenta a motilidade progressiva de espermatozoides humanos criopreservados: Um estudo piloto.

Vireque AA<sup>1</sup>, Silva OFLLO<sup>1</sup>, Pereira CS<sup>2</sup>, Dantas MHY<sup>1</sup>, Ferriani RA<sup>1</sup>, Reis RM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ginecologia e Obstetrícia – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP; <sup>2</sup>Departamento de Genética – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

**OBJETIVOS:** A inclusão de fosfolipídios e colesterol, derivados da gema de ovo, nos meios de congelação contribuiu consideravelmente para os avanços na criopreservação do sêmen humano. O uso da lecitina de soja, cuja formulação contém 10% dos fosfolipídios presentes na gema de ovo, foi recentemente investigado (Jeyendran et al. 2011). Há uma forte correlação entre o número de espermatozoides (SPTZ) imóveis e a viabilidade espermática (Ozkavukcu et al. 2008) e um teste preliminar em nosso laboratório apontou aumento significativo na motilidade progressiva de espermatozoides criopreservados em meio suplementado com fosfolipídio. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação do meio de congelação com fosfolipídio, na sua forma pura, e em diferentes concentrações, na motilidade e vitalidade pós-criopreservação do SPTZ humano.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Estudo experimental. Amostras de sêmen de 5 voluntários, devidamente esclarecidos e após assinatura do TCLE, foram submetidas à análise seminal de rotina (critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde de 2010) antes e após a criopreservação utilizando meio crioprotetor (TEST-yolk buffer- Irvine Scientific) suplementado com fosfatidilcolina (fosfolipídio - PL) nas concentrações de 1% e 3%. Após a adição do meio crioprotetor TEST-yolk ou TEST-yolk + PL, as amostras de sêmen foram envasadas em criotubos de 2 mL e submetidas à criopreservação pelo método rápido. As amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e mantidas a 37 °C durante a análise seminal. Os resultados obtidos foram analisados pelo teste t de Student, com  $p < 0,05$ . **RESULTADOS:** Os índices de motilidade progressiva e vitalidade dos SPTZ das amostras pré-congelamento foram, respectivamente, 48,1% e 87% e após o descongelamento: 24,4% e 74% (TEST-yolk), 34,6% e 74,6% (TEST-yolk + PL 1%), 41,6% e 76,4% (TEST-yolk + PL 3%). Houve aumento significativo na motilidade progressiva e redução no número de SPTZ imóveis nos grupos suplementados com PL a 3% ( $p < 0,05$ ). **CONCLUSÃO:** O uso de fosfolipídios na sua forma pura pode ser uma alternativa viável como suplemento para o meio de congelamento de sêmen humano e possivelmente como substituto de aditivos de origem animal como a gema de ovo largamente utilizada nos meios crioprotetores convencionais. **PALAVRAS-CHAVE:** Criopreservação; Sêmen; Espermatozóide humano; Fosfolipídio; Motilidade progressiva. **REFERÊNCIAS:** Ozkavukcu S, Erdemli E, Isik A, Oztuna D, Karahuseyinoglu S. Effects of cryopreservation on sperm parameters and ultrastructural, morphology of human spermatozoa. *J Assist Reprod Genet* (2008) 25:403-411. Jeyendran RS, Acosta VC, Land S, Coulam CB. Cryopreservation of human sperm in a lecithin-supplemented freezing medium. *Fertil Steril* 90(4):1263-1265.

## 16 - Gene BMPR2 expresso nas células do cumulus de mulheres com SOP apresenta correlação positiva com o hiperandrogenismo e modula a secreção de progesterona.

Resende LOT<sup>1</sup>, Vireque AA<sup>1</sup>, Santana LF<sup>1</sup>, Moreno DA<sup>2</sup>, Ferriani RA<sup>1</sup>, Reis RM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ginecologia e Obstetrícia - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP; <sup>2</sup>Departamento de Pediatria - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

**OBJETIVO:** O gene BMPR2 codifica o receptor tipo 2 para os fatores oocitários BMP15 e GDF9 e é apontado como o receptor mais efetivo para a bioatividade do BMP15 (Moor et al, 2003). Estudos atuais associam mutações do gene BMP15 em ovelhas e mulheres à hipersensibilidade às gonadotrofinas, resultando em ovulação excessiva e SHO. Além disso, polimorfismos neste gene podem estar potencialmente associados com a SOP, o que ressalta sua importância na fertilidade humana. Recentemente, o BMPR2 foi identificado como o principal modulador dos efeitos sinérgicos do GDF9 e BMP15 nas células da granulosa, apresentando ação potencial na supressão da produção de progesterona induzida pelo FSH (Edwards et al. 2007). O objetivo deste estudo foi avaliar a correlação entre a expressão do gene BMPR2 nas células do cumulus (CCs) com o hiperandrogenismo e as concentrações de progesterona no fluido folicular (FF) de mulhe-

res com SOP. A expressão do gene BMP15 também foi avaliada em oócitos maduros SOP e controles. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Estudo caso-controle. Dezoito oócitos MII e respectivas CCs foram obtidos de 18 mulheres com SOP e 48 oócitos maduros e CCs de 35 mulheres controles. Ambos os grupos foram submetidos à hiperestimulação ovariana controlada (HOC) e o FF coletado de folículos pré-ovulatórios, com diâmetro > 18 mm. O kit Rneasy Micro (Qiagen®) foi usado para extração do RNA e a expressão dos genes quantificada em cada oócito e nas CCs pela técnica de PCR-RT. Os esteroides foram dosados por RIA. Os dados foram analisados por ANOVA, teste Mann-Whitney e correlação de Pearson (Corr, SAS 2003). **RESULTADOS:** A abundância relativa de transcritos do gene BMPR2 foi positivamente correlacionada com as concentrações de testosterona ( $r = 0,29$ ;  $p = 0,04$ ) e androstenediona ( $r = 0,55$ ;  $p = 0,03$ ) no FF de mulheres com SOP. A expressão do gene BMP15 foi maior em oócitos SOP e a concentração de progesterona significativamente reduzida no grupo SOP ( $p = 0,03$ ). **CONCLUSÃO:** A expressão do gene BMPR2 nas CCs de mulheres com SOP pode ser regulada pelos andrógenos. O BMPR2 modula a inibição da secreção de progesterona induzida pelo BMP15, impedindo a luteinização prematura de folículos SOP. **PALAVRAS-CHAVE:** BMPR2, SOP, hiperandrogenismo, células do cumulus, fluido folicular.

## Posterres

### P01 - Avaliação comparativa da recuperação espermática após criopreservação de espermatozoides humanos em nitrogênio líquido, e vapor de nitrogênio líquido

Gustavo Cardoso Borges

CONCEPT Centro de Reprodução Humana

**OBJETIVO:** Comparar dois métodos de criopreservação de espermatozoides, em vapor de nitrogênio líquido e mergulhado no nitrogênio líquido, avaliando 3 variáveis: a concentração final, a motilidade final e o número total de espermatozoides. **METODOLOGIA:** Foram avaliadas 49 amostras de sêmen colhidas através de masturbação. Foi feita análise macroscópica quanto a volume, cor, viscosidade e liquefação, e análise microscópica de concentração e motilidade. O crioprotetor escolhido foi o TYB (Test-yolk Buffer, Irvine). A criopreservação foi realizada após completa diluição da amostra com o crioprotetor gota-a-gota na proporção de 1:1. Após esta homogeneização os criotubos foram acondicionados em vapor de nitrogênio líquido por 20 minutos e, logo após esse período um dos criotubos mergulhado em nitrogênio líquido e o outro mantido no vapor de nitrogênio por um período de 24 horas. As amostras foram descongeladas com 5 minutos em temperatura ambiente e 20 minutos em placa aquecedora a 37°C, e analisadas em microscópio quanto a concentração e motilidade. **RESULTADOS:** A concentração final não foi significativamente superior entre os dois métodos (média no nitrogênio líquido 41,26 milhões/mL X média no vapor de nitrogênio líquido 40,66 milhões/mL) bem como a motilidade ( $p = 0,683$ ) e o número total de espermatozoides móveis ( $p = 0,073$ ). **CONCLUSÃO:** De acordo com os dados estatísticos analisados não houve diferença entre a criopreservação de espermatozoides em vapor de nitrogênio líquido quando comparado ao método convencional.

## P02 - Fragmentação de DNA em espermatozoides humanos com diferentes viscosidades no plasma seminal

KUSSLER APS, PIMENTEL AM, ALCOBA DD, LIU IP, CORLETA HVE

Núcleo de Reprodução Humana Gerar, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, RS, Brasil  
Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia Molecular, Centro de Pesquisas, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brasil e Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil

**OBJETIVO:** Comparar a taxa de fragmentação do DNA de espermatozoides humanos em amostras com viscosidade diminuída, fisiológica e aumentada. Avaliar, em amostras hiperviscosas, se o processo mecânico preconizado pela Organização Mundial da Saúde - OMS (de expulsão do sêmen através de agulha e seringa), utilizado para reduzir a viscosidade, altera significativamente as taxas de fragmentação do DNA dos espermatozoides. **MÉTODOS:** Os parâmetros seminais das amostras de sêmen de 123 pacientes foram avaliados e classificados de acordo com a sua viscosidade. Aquelas com viscosidade aumentada passaram pelo processo de expulsão do sêmen através de uma seringa de 10mL com agulha 18G por 4 vezes, com objetivo de diminuir a viscosidade. A fragmentação do DNA de todas as amostras foi analisada através do ensaio TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl transferase mediated Duplex Nick end labeling assay), sendo que nas amostras com viscosidade aumentada a fragmentação foi avaliada antes e após o processo de expulsão em seringa e agulha. **RESULTADOS:** Não houve diferença na taxa de fragmentação do DNA entre amostras com viscosidade fisiológica, diminuída e aumentada ( $P=0.857$ ). Nas amostras com viscosidade aumentada foi verificado um aumento estatisticamente significativo ( $P=0.035$ ) na fragmentação do DNA espermático após a expulsão do sêmen na seringa e agulha. **CONCLUSÃO:** Não há diferença na taxa de fragmentação do DNA entre amostras com viscosidade diminuída, fisiológica e aumentada, entretanto o processo físico de expulsão do sêmen através de seringa e agulha para redução da viscosidade seminal aumenta significativamente a fragmentação do DNA do espermatozoide. Este procedimento deveria ser proscrito quando os espermatozoides forem utilizados com fins reprodutivos.

## P03 - Comparação entre as características de embriões oriundos de oócitos maturados in vivo ou in vitro em ciclos de FIV

Diego Duarte Alcoba<sup>1</sup>, Anita Mylius Pimentel<sup>2</sup>, Ilma Simoni Brum<sup>1</sup>, Helena von Eye Corleta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Molecular Endócrina e Tumoral - Universidade Federal do Rio Grande do Sul; <sup>2</sup>Associação Hospitalar Moinhos de Vento - Núcleo de Reprodução Humana Gerar;

**OBJETIVO:** avaliar a possibilidade de utilização de gametas recuperados em diferentes estágios de imaturidade em ciclos com estimulação hormonal. **MATERIAL E MÉTODOS:** Estudo retrospectivo realizado em Clínica Privada de Reprodução Humana. Os prontuários das pacientes submetidas à estimulação ovariana para procedimentos de Reprodução Assistida em que houve recuperação de gametas imaturos -

PI (prófase I) ou MI (metáfase I) - foram revisados. Os oócitos imaturos foram maturados in vitro e fertilizados, utilizando-se ICSI. Foram avaliadas as taxas de maturação e fertilização dos gametas e a clivagem, criopreservação e utilização dos embriões (transferência e criopreservação) oriundos desses gametas. Estes parâmetros foram comparados dentre os gametas imaturos e entre os oócitos recuperados maduros (MII - maturação in vivo). Para comparar tais taxas aplicou-se o teste Qui-quadrado, suplementado pela análise dos resíduos ajustados. Empregou-se a correlação de Spearman para avaliar a relação entre a taxa de gametas imaturos e a qualidade dos embriões oriundos de gametas maduros. Considerou-se diferença estatística quando  $p \leq 0.05$ . **RESULTADOS:** Dentre os 398 ciclos avaliados 118 (29,6%) apresentavam gametas imaturos na punção. As características dos embriões gerados por gametas recuperados nos estágios MI e MII foram similares em todas as avaliações. A taxa de fertilização foi inferior no grupo de oócitos PI comparado com seus homólogos MII ( $P = 0.031$ ). Igualmente, a taxa de clivagem embrionária foi inferior no grupo PI comparado com seus homólogos MI ( $P = 0.004$ ) e MII ( $P < 0.001$ ). Não houve diferença entre as demais variáveis. A taxa de gametas imaturos não apresentou correlação com a fertilização ( $P = 0.077$ ), clivagem ( $P = 0.115$ ) ou utilização ( $P = 0.160$ ) dos embriões gerados por gametas maturados in vivo. **CONCLUSÕES:** A recuperação de gametas imaturos é frequente em ciclos estimulados. O desempenho de gametas MI maturados in vitro é similar aos gametas maturados in vivo, permitindo aumentar o número de embriões/ciclo. Gametas PI apresentaram taxas inferiores de fertilização e clivagem embrionária, apesar de exibirem taxas de utilização embrionária similares aos demais gametas, demonstrando potencial de formarem embriões de boa qualidade. Consequentemente, técnicas para discriminar qual gameta PI possui potencial devem ser empregadas com a maturação in vitro.

## P04 - Reprodução humana: os graduandos de enfermagem frente

Juliana Almeida Nunes, Vilma Melo Oliveira Linares, Patricia Correia Silva, Helena Salina Dias

**OBJETIVO:** Avaliar o conhecimento dos Graduandos em Enfermagem sobre a atuação do Enfermeiro na área de Reprodução Humana. **MATERIAL E MÉTODO:** Estudo transversal de caráter descritivo. Amostra constituída de 139 graduandos em Enfermagem do 8º semestre de uma universidade privada de São Paulo, a coleta de dados foi realizada através do preenchimento de questionário entregue pelo próprio autor ao participante após assinatura do termo de consentimento livre esclarecido, o período do estudo foi de 01 a 30 de Setembro de 2010, após aprovação do comitê de ética da instituição. Como critério de inclusão o participante deveria estar no 8º semestre do curso de Enfermagem e como critério de exclusão pertencer a qualquer outro curso e estar cursando qualquer outro semestre que não fosse o 8º. As informações coletadas foram armazenadas em banco de dados utilizando-se o programa Excel 2007, a análise dos dados foi realizada através da frequência relativa. **RESULTADOS:** Dos 139 alunos participantes, 134 (96,4%) afirmaram possuir algum conhecimento sobre Reprodução Humana Assistida (RHA), quando questionados se conheciam algum enfermeiro atuante em RHA 129 (92,8%) não conhecem enfermeiros atuantes neste seguimento. Em relação ao principal local de atuação do enfermeiro 64 (46,05%) responderam ser no Laboratório de Embriologia, 44 (31,65%) no Consultório e 31 (22,03%) no Centro Cirúrgico.

Quando perguntado se somente o conteúdo ensinado na Graduação seria suficiente para a atuação do Enfermeiro na área de RHA 138 (99,3%) responderam não ser suficiente.

**CONCLUSÃO:** Observamos a necessidade de inclusão de disciplina específica sobre RHA na graduação, visto que os alunos mesmo depois de formados não se sentem seguros em atuar nesta área por falta de conhecimento. Apesar das limitações do estudo, concluímos que os alunos possuem pouco conhecimento sobre o assunto, desconhecem o real local de atuação do enfermeiro, visto que a resposta da maioria dos alunos não corresponde com a realidade na prática clínica. Sendo um momento propício para a revisão da grade curricular de enfermagem, visando formar profissionais mais preparados e que possam garantir seu lugar frente à equipe multiprofissional na área de RHA, atualmente ocupado por outros profissionais por falta de preparo específico do Enfermeiro.

## P05 - Correlação entre o índice de massa corpórea, fragmentação do DNA espermático e a motilidade espermática

Macedo, J. F.; Gomes, L. M.; Melo, K. R. B.

Clínica Reprofert

**OBJETIVO:** Estudar a correlação entre o índice de massa corpórea, fragmentação do DNA espermático e motilidade.

**MATERIAL E MÉTODOS:** O estudo retrospectivo envolveu a análise de 93 pacientes avaliados entre agosto de 2011 a março de 2012. Não foram incluídos pacientes submetidos a radio ou quimioterapia. O estudo avaliou o índice de massa corpórea (IMC) categorizado como: 20-25 Kg/m<sup>2</sup> (referência), 25-29,9 Kg/m<sup>2</sup> (sobrepeso) e 30 Kg/m<sup>2</sup> (obeso), os parâmetros utilizados da análise seminal macroscópica (OMS, 2010) foram: motilidade total e motilidade tipo A dos espermatozoides. Avaliou-se o índice de fragmentação do DNA espermático (teste SCSA) que recebeu a seguinte classificação: < 16% (normal), > 16% < 30% (moderada) e > 30% (elevada). Os dados foram submetidos a análise estatística de Kruskal Wallis e pós teste de Student, sendo considerados significantes valores onde  $p < 0,01$ . **RESULTADOS:** O estudo mostrou que 52% dos pacientes com IMC normal têm índice de fragmentação normal, 32% moderado e 16% elevado. Pacientes com sobrepeso apresentaram 39,6% para índice normal de fragmentação, 37,7% moderado e 22,7% elevado. Encontramos nos pacientes obesos 35,7% de fragmentação normal, 42,8% moderado e 21,5% elevado. Na avaliação da motilidade total e tipo A realizadas no estudo não encontramos diferenças significantes, exceto nos casos dos pacientes considerados obesos os quais apresentaram uma motilidade tipo A de  $1,66 \pm 2,22\%$ .

**CONCLUSÕES:** Os pacientes com IMC sobrepeso e obesidade mostraram aumento na taxa de fragmentação do tipo moderada e elevada quando comparados aos pacientes com IMC normal. Na análise da correlação do IMC com a motilidade total, análise do IMC versus motilidade total, versus motilidade tipo A versus índice de fragmentação do DNA espermático não encontramos diferenças estatisticamente significantes para os pacientes com IMC normal e sobrepeso. Em pacientes com IMC obeso e com índice de fragmentação do DNA espermático elevado verificamos que ocorre uma redução na taxa de motilidade tipo A. Nesse estudo verificamos que os pacientes obesos são mais prejudicados em relação à motilidade espermática, assim, realizando uma análise mais aprofundada futuramente, poderemos verificar quais outros fatores podem contribuir para essa queda da motilidade espermática tipo A.

## P06 - Comparação das técnicas de processamento seminal "swim-up" e gradiente descontínuo: análise da concentração, motilidade e morfologia dos espermatozoides

Oliveira, B.S.; Mizrahi, F.E.; Glina, S.; Affonso, F.; Vieira, M.

Aliança de Laboratórios de Fertilização Assistida, Brasil

**OBJETIVO:** Comparação das técnicas de "Swim-up" (SUP) e Gradiente descontínuo (GD) em amostras de sêmen, através da verificação da concentração, motilidade e morfologia espermática pré e pós-processamento seminal, com o intuito de verificar qual das duas técnicas pode garantir melhor recuperação e qualidade espermática. **MATERIAL E MÉTODOS:** Estudo comparativo e prospectivo, no qual, pacientes com queixa de infertilidade foram submetidos, pela primeira vez no local de estudo, a um espermograma realizado de acordo com as normas padronizadas pela Organização Mundial da Saúde. Através da análise macroscópica e microscópica foram selecionados apenas pacientes cuja análise seminal apresentou volume superior a 3mL e concentração mínima de  $5 \times 10^6$  espermatozoides/mL ( $n=40$ ). Cada amostra foi dividida e submetida às técnicas de SUP e GP. A análise estatística foi baseada no Teste dos Postos Sinalizados de Wilcoxon. **RESULTADOS:** A análise inicial das amostras apresentou média de concentração de  $64,11 \times 10^6$ /ml, média de motilidade A + B de 63,07% e média de morfologia de 4,73%. Em relação ao número de espermatozoides móveis recuperados e grau de motilidade, a técnica de SUP apresentou resultados estatisticamente superiores quando comparadas ao GD (SUP:  $31,13 \times 10^6$  espermatozoides/mL com 90,10% grau A e GD:  $22,10 \times 10^6$  espermatozoides/mL com 76,10% grau A,  $p < 0,05$ ). Quanto a análise morfológica não houve diferença estatística quando se comparou as técnicas entre si em relação à taxa de espermatozoides normais (SUP: 8,60% e GD: 8,45%;  $p < 0,05$ ), no entanto, ambas as técnicas mostraram-se superiores quando comparadas com a amostra a fresco (4,73%). **CONCLUSÃO:** A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que a técnica de SUP apresentou-se superior em relação à concentração e motilidade espermática quando comparada com a técnica de GD para as amostras analisadas.

## P07 - Avaliação da reserva ovariana através do hormônio anti-Mülleriano em pacientes submetidas à ligadura tubária

Ana Luiza Berwanger da Silva; Camila da Ré; Cristine Dietrich; Isabela Piva Fuhrmeister; Anita Pimentel; Helena Von Eye Corleta

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Porto Alegre - RS

**OBJETIVO:** Uma parcela considerável das pacientes submetidas à Ligadura Tubária (LT), queixa-se de sintomas surgidos após a sua realização, principalmente relacionados a mudanças no ciclo menstrual. Estas alterações podem estar relacionadas a alterações na reserva ovariana. Este estudo teve como objetivo avaliar se existe associação independente entre LT e diminuição de reserva ovariana,

antes e um ano após a cirurgia, através da dosagem do HAM e, secundariamente, da contagem de folicúlos antrais (CFA) à ultrassonografia transvaginal. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foi realizada uma coorte prospectiva de 80 pacientes férteis consecutivas submetidas à LT entre maio de 2008 e fevereiro de 2009, as quais foram submetidas a coleta de sangue, para dosagem de HAM, e a uma ultrassonografia transvaginal, para a CFA, antes (exames basais) e um ano após a cirurgia. Para a comparação desses resultados, foi utilizado o teste T de Student. Possíveis fatores de confusão (uso de contraceptivos hormonais, tabagismo, técnica cirúrgica, idade e índice de massa corporal) foram avaliados através de regressão linear simples e múltipla. **RESULTADOS:** Não houve alteração significativa nos valores de HAM (média = 1,79ng/ml  $\pm$  1,61 e 2,05ng/m  $\pm$  2,16 antes e após LT, respectivamente) e da CFA (média = 9,7  $\pm$  5,9 e 11,1  $\pm$  5,8 antes e após LT, respectivamente) um ano após a LT. As análises, tanto uni, quanto multivariada, dos possíveis fatores de confusão demonstrou associação significativa entre a variação de HAM e o uso de contraceptivos hormonais, sendo que houve aumento desse hormônio em pacientes que usavam tal método antes da LT. **CONCLUSÕES:** Os resultados desta coorte de 12 meses sugerem que a LT não está associada com alterações significativas da reserva ovariana. O uso de contraceptivos hormonais poderia provocar discreta diminuição do HAM, o qual demonstrou aumento após sua suspensão, entretanto tal conclusão deve ser interpretada com restrições, e estudos de seguimento mais longo devem ser considerados.

## P08 - Motivações para doar ou não gametas em homens e mulheres inférteis

Leis L, Busso CE, Duarte Filho OB, Tso LO, Glina S, Busso NE

Projeto Alfa-Fertilização Assistida

**OBJETIVO:** Compreender as motivações que levam homens e mulheres que vivenciam a dificuldade de gravidez a desejarem doar ou não doar seus gametas para casais inférteis. **MATERIAL E MÉTODOS:** Participaram do estudo 35 homens com idades até 39 anos (elegíveis para doação de sêmen) e 35 mulheres com idades até 34 anos (elegíveis para doação de óvulos), que buscavam por tratamentos para infertilidade (FIV ou ICSI), sem ainda tê-lo iniciado. Utilizou-se como instrumento de pesquisa questionário elaborado especialmente para esse estudo, com perguntas abertas e fechadas, contendo as mesmas perguntas para ambos os sexos. Na análise estatística foi utilizado o teste do qui-quadrado. **RESULTADOS:** Com relação ao desejo de doar ou não espermatozoides/óvulos para outro(a) paciente infértil, a pesquisa constatou que 80% tanto dos homens quanto das mulheres tem esse desejo, porém, nota-se que os motivos para a doação diferem significativamente ( $p=0.007$ ), entre homens e mulheres, já que para a maioria das mulheres que desejam doar seus óvulos, a principal motivação (64%) é a identificação com o sofrimento da receptora, já nos homens, o principal motivo é simplesmente o desejo de ajudar outra pessoa (68%). Entre os pacientes que não desejam doar seus gametas (20%), o principal motivo para não doá-los, tanto nos homens quanto nas mulheres, é o fato de não desejarem ter um filho sem saber onde ele está, (29%) e (43%) respectivamente. É interessante destacar que, 77% das

mulheres aceitariam óvulos doados, se um dia precisassem, já os homens, 54% aceitariam sêmen nesta situação. A recompensa financeira seria um estímulo para doação de gametas para 40% das mulheres e 43% dos homens. **CONCLUSÃO:** Concluiu-se que o desejo de doar gametas está vinculado, principalmente, à razões altruístas nos pacientes e que as motivações para uma possível doação destoam entre homens e mulheres. A recompensa financeira parece ser um estímulo para doação em boa parte da população estudada.

## P09 - Frequência de fertilizações anormais e de embriões precoces em ciclos de IVM

Adriana Bos-Mikich, Mônica Martins da Silva, Gerta N. Frantz, Norma P. Oliveira, Nilo Frantz

Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz

**OBJETIVO:** ocorrência de 10-12% de zigotos anormais (3Pns ou 1 Pn) pós FIV ou ICSI é aceitável para anomalias da fertilização. Por outro lado, a característica de precocidade embrionária (P) é um importante fator para seleção dos embriões a serem transferidos e se reflete diretamente nas taxas de implantação e gestação. Nosso objetivo foi analisar a frequência de fertilizações anômalas, de embriões precoces e o efeito da transferência destes nas taxas de gestações em ciclos de maturação in vitro (IVM). **MATERIAL E MÉTODOS:** estudo retrospectivo de 53 ciclos de IVM, onde foram investigadas as frequências de zigotos 3Pn e 1PN após ICSI (50 ciclos) e IMSI (3 ciclos). Analisamos ainda, sempre que registrado, devido ao horário da observação, a incidência de embriões P e a sua relação com as taxas de gravidez pós-transferência (TE). Em seis ciclos não houve TE e os embriões foram vitrificados. **RESULTADOS:** as frequências de fertilizações anômalas foram de 11% de 3Pn e 6% de 1PN nos 369 embriões analisados. Em 24 ciclos foram observados 92 embriões P representando 74% dos zigotos 2Pn. Em média foram transferidos 3,2 embriões por paciente. Em 15 Tes, 40 embriões P foram incluídos no grupo de transferência resultando em 53% de gestações químicas e 27% clínicas. Em 35 ciclos, nos quais embriões P não foram detectados e/ou selecionados para TE, as taxas de gestações químicas e clínicas foram de 40% e 29%, respectivamente, não havendo diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos. **CONCLUSÕES:** nossos dados demonstram que parece existir uma frequência mais elevada de fertilizações anômalas nos ciclos de IVM, em comparação aos ciclos clássicos. A ocorrência de embriões P gerados após IVM é semelhante ou até superior àquela dos ciclos estimulados. Importante ressaltar que nossos dados sugerem que a observação da clivagem precoce não é fundamental para o sucesso das taxas de gestações químicas e clínicas pós-IVM. Esta constatação contraria o conceito de que a observação de embriões P para sua inclusão no grupo de TE em ciclos clássicos aumenta significativamente as taxas de implantação e gestações.

## P10 - Análise de valor de referência de morfologia espermática em pacientes com parâmetros normais e anormais de concentração e motilidade espermática, com base nos novos valores da organização mundial de saúde (OMS,2010)

Erika Caldas<sup>1,2</sup>; Bárbara Repolho<sup>1</sup>; Sabrina MR Jacinto-Costa<sup>1</sup>; Tatiana CS Bonetti<sup>1,3</sup>; George H. Caldas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CEMISE-VIDA – Centro de Reprodução Humana, Aracaju – SE, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal de Sergipe/ RENORBIO - UFS, Aracaju – SE, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Departamento de Ginecologia, São Paulo – SP, Brasil

**OBJETIVO:** As análises seminais fornecem informações quantitativas sobre a função secretora da próstata, vesículas seminais, epidídimo, fornecendo informações valiosas para manejo clínico. A morfologia espermática é resultado do processo altamente complexo que ocorre durante a espermatogênese que pode ser associada a disfunções masculinas e vem sendo relatada como um dos mais relevantes parâmetros seminais de interesse clínico. A utilização de morfologia espermática como ferramenta para diagnóstico in vivo e in vitro, ganhou reconhecimento crescente como um importante preditor de fertilidade masculina. Muitas críticas vêm sendo realizadas aos novos parâmetros de normalidade morfológica, designados pelo manual da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2010). O objetivo deste trabalho foi analisar o valor de referência de morfologia espermática em pacientes com parâmetros de concentração e motilidade normais, com base nos valores da (OMS,2010). **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram incluídos 1990 espermogramas de pacientes com idade média de 33,96 anos, entre 2009 a 2012 em clínica privada em Aracaju-SE. São realizadas rotinas de controle interno e externo de qualidade para todos os itens das análises. Resultados: Dentre os pacientes estudados 1318 pacientes apresentaram parâmetros normais com relação à concentração e motilidade e valor médio de morfologia ( $5,87 \pm 0,10$ ), 212 pacientes apresentavam astenozoospermia e valor médio de morfologia ( $3,87 \pm 0,23$ ), 245 pacientes apresentavam ligozoospermia e valor médio de morfologia ( $2,77 \pm 0,20$ ), 215 pacientes apresentavam oligoastenozoospermia e valor médio de morfologia ( $1,40 \pm 0,14$ ). O valor médio de morfologia dentre todos os pacientes foi ( $4,79 \pm 0,87$ ) o que corrobora com os valores estipulados pelo manual (OMS, 2010). Dentre os pacientes com concentração e motilidade normais, para morfologia havia 95,6% de pacientes teratozoospermicos segundo OMS 1999 e apenas 33,1% pela OMS 2010. **CONCLUSÕES:** Em nossas características populacionais, a maioria dos pacientes estava acima dos valores de referência (OMS, 2010) em termos de concentração e motilidade, dentre eles 33,1% tiveram morfologia alterada. Quando utilizada a OMS 1999, quase a totalidade dos pacientes (95,6%) apresentaria morfologia alterada. Sendo assim, a morfologia espermática segundo os valores de normalidade estabelecidos pela OMS 2010, pode ser ferramenta preditiva de fertilidade masculina e indicação direta para as técnicas de fertilização in vitro. **PALAVRAS-CHAVE:** Morfologia espermática; Sêmen; Infertilidade Masculina, OMS.

## P11 - Uso de Agonista do GnRH para prevenção da síndrome do hiperestímulo ovariano

João Pedro Junqueira Caetano, Ana Márcia de Miranda Cota, Maria Clara Magalhães dos Santos Amaral, Ricardo Melo Marinho

Pró-Criar Centro de Medicina Reprodutiva

**INTRODUÇÃO:** A síndrome de hiperestímulo ovariano (SHO) é condição grave, de alta morbidade. Trata-se de

complicação totalmente iatrogênica da hiperestimulação ovariana. Pacientes portadoras de síndrome dos ovários policísticos ou que apresentem resposta exacerbada ao estímulo com gonadotrofinas são propensas ao desenvolvimento da SHO. O uso do agonista de GnRH para desencadear o pico de LH para maturação final oocitária tem se mostrado como ótima estratégia para prevenção da SHO. **Objetivo:** avaliar os ciclos de fertilização in vitro (FIV) onde foi utilizado o agonista do GnRH para desencadear a maturação oocitária para prevenção da SHO. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram avaliados retrospectivamente os casos onde foi utilizado o agonista do GnRH para desencadear a maturação oocitária em ciclos de FIV para prevenção da SHO. As pacientes foram submetidas à hiperestimulação ovariana com protocolo antagonista (ganirelix), gonadotrofina menopáusic humana (hMG) e devido a um risco aumentado de desenvolver a SHO foi utilizado o agonista do GnRH (acetato de leuprolide). Todos os embriões que alcançaram o estágio de blastocisto no dia 5 e 6 do desenvolvimento foram congelados. Não houve transferência de embriões a fresco. **RESULTADOS:** Foram avaliados 24 ciclos (24 pacientes) de FIV. A idade média das pacientes foi de 32,4 anos. 62,5% das pacientes tinham infertilidade primária e um tempo médio de infertilidade de 3,1 anos. A média do FSH basal (3º dia) das pacientes foi de 5,83mUI/mL e o número de folículos antrais de 23,5. Na estimulação ovariana, o tempo médio de estímulo foi de 11 dias e foram gastos uma média de 1840,6UI de gonadotrofinas. O número médio de folículos maior ou igual a 17mm foi de 12,4 e de folículos menor que 17mm foi de 16,8. A média do estradiol no dia da administração do agonista do GnRH foi de 6700,44pg/mL. O número médio total de oócitos obtidos foi de 24,7, sendo que destes, 62,5% (15,4) estavam maduros. A taxa de fertilização foi de 77%. A média de blastocistos vitrificados foi de 5,4. Não houve nenhum caso de hiperestímulo ovariano. **CONCLUSÃO:** A utilização do agonista do GnRH para desencadear a maturação oocitária se mostrou eficaz na prevenção SHO.

## P12 - Efeito do ácido linoléico conjugado no acúmulo de lipídeos em mórulas bovinas cultivadas com soro fetal bovino

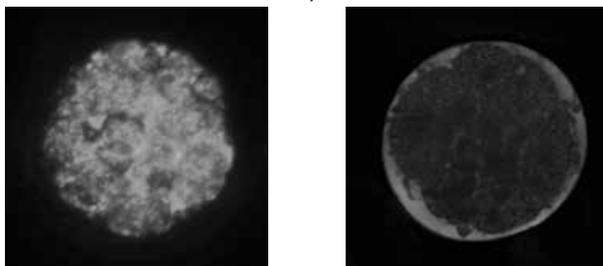
Laila Succar Teixeira do Rosário Rahme, Raquel de Lima Leite Soares Alvarenga, Bárbara Fernandes Cordeiro, Alan Maia Borges

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e Fertitech - Tecnologia em Reprodução Assistida

**OBJETIVO:** Embriões bovinos produzidos in vitro possuem qualidade inferior se comparados com embriões produzidos in vivo. Este fato é devido às condições de cultura e, principalmente, à adição de soro fetal bovino (SFB). O SFB é de extrema importância para o desenvolvimento embrionário por apresentar fatores de crescimento, nutrientes, antioxidantes, proteínas, entre outros. No entanto, a presença do SFB pode acarretar aumento no acúmulo lipídico no citoplasma dos embriões cultivados in vitro, diminuindo assim, a qualidade embrionária. A adição do ácido linoléico conjugado trans 10, cis 12 no meio de cultivo pode diminuir a concentração de gomas lipídicas e aumentar a qualidade embrionária, sem interferir negativamente no desenvolvimento embrionário. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do ácido linoléico conjugado (CLA) no acúmulo

de lipídeos em mórulas bovinas cultivadas na presença de soro fetal bovino. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram utilizados 936 oócitos divididos em dois grupos de cultivo distintos: grupo contendo soro fetal bovino (controle) e grupo contendo SFB e CLA. Os embriões foram cultivados até o estágio de mórula (quinto dia - D5) e então, fixados em solução de 2% glutaraldeído e 2% formaldeído por 30 dias para posterior quantificação do conteúdo lipídico, por meio do corante Nile Red. Os resultados foram examinados para normalidade e independência dos erros, pelo teste de Shapiro-Wilk. Diferenças entre as médias foram avaliadas pelo teste de Wilcoxon, com nível de significância de 5% (SAS version 9.1.3, Institute Inc., Cary, NC, USA). **RESULTADOS:** A intensidade de média de fluorescência, em unidades arbitrárias, das mórulas (D5) foi superior no grupo controle (188,05 UA) em relação às mórulas cultivadas na presença de SFB mais CLA (110,31 UA), figura 1. **CONCLUSÕES:** A adição do ácido linoleico conjugado no meio de cultivo reduz significativamente a concentração do conteúdo lipídico de mórulas bovinas, indicando qualidade superior destes embriões se comparados com embriões cultivados no grupo controle. Mais estudos precisam ser realizados para avaliar taxas de sobrevivência após congelamento e taxas de gestação para verificar a real necessidade de se adicionar o CLA nas rotinas laboratoriais, tendo em vista que este é um reagente que eleva o custo do processo.

A) Mórula cultivada com SFB B) Mórula cultivada com SFB e CLA



**Figura 1:** Imagem de embriões bovinos produzidos in vitro e corados com Nile Red, no quinto dia de cultivo. (A) Embrião do grupo controle; (B) embrião cultivado com SFB mais CLA.

### P13 - Interferência do processo de criopreservação na blastulação de embriões de baixa qualidade

COMAR VA, YOSHIDA IH, PAVÃO DP, MIZRAHI FE E TOGNOTTI E.

Projeto ALFA - Aliança de Laboratórios de Fertilização Assistida. São Paulo - Brasil

**OBJETIVO:** Comparar a taxa de formação de blastocistos provenientes de embriões descongelados em relação a embriões cultivados a fresco, ambos de baixa qualidade, e determinar se o processo lento de criopreservação tem influência na blastulação embrionária. **MATERIAL E MÉTODOS:** Estudo retrospectivo com embriões submetidos ao cultivo prolongado até sexto dia após ICSI/FIV (D6), realizado no período de janeiro a dezembro de 2011, onde foi comparada a taxa de blastulação entre dois grupos de embriões de baixa qualidade submetidos às mesmas condições de cultivo prolongado até D6: Grupo 1 (G1) - embriões a fresco (n=1331) e Grupo 2 (G2) - embriões congelados por método lento em estágio de clivagem (n= 58).

A média de idade das pacientes foi semelhante em ambos os grupos. Os embriões foram avaliados entre 65 e 72 horas (D3) após FIV/ICSI em microscópio invertido com aumento de 400X e selecionados apenas os de baixa qualidade, ou seja, aqueles que apresentaram pelo menos três das seguintes características: 1- fragmentação maior que 30%; 2- 50% ou mais de multinucleação; 3- presença de vacúolos; 4- alterações na zona pelúcida; 5- aumento do espaço perivitelino; 6- pequena interação entre os blastômeros e 7- assimetria dos blastômeros. Para a análise estatística foi utilizado o teste do Qui Quadrado ( $p < 0,05$ ). **RESULTADO:** A taxa de blastulação para o G1 e G2 foi de 17,28% (260/1331) e 10,34% (6/58), respectivamente, não havendo diferença significativa entre os grupos avaliados. **CONCLUSÃO:** Apesar de não haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos analisados, observou-se que entre 10 e 17% dos embriões de baixa qualidade atingiram o estágio de blastocisto nos dois grupos, demonstrando que o processo lento de criopreservação de embriões parece não interferir drasticamente no potencial de blastulação dos mesmos. Portanto, do ponto de vista clínico, o congelamento em D3 ou a cultura prolongada para transferência em blastocisto de embriões de baixa qualidade pode ser uma opção do médico e do casal, visto que o congelamento em D3 não inviabilizou estes embriões. Porém, estudos randomizados com maior número amostral devem ser realizados.

### P14 - Sintomatologia de estresse em casais infertéis

Kátia Maria Straube

Felicittà - Instituto de Fertilidade de Curitiba

Esta pesquisa trata das relações atuais entre estresse e infertilidade, refletindo a experiência cotidiana da autora em clínicas de Reprodução Humana Assistida, em Curitiba, Paraná, onde trabalha no acompanhamento de casais que se deparam com a infertilidade. O objetivo é demonstrar que casais que se defrontam com a infertilidade apresentam ou não sintomas semelhantes de estresse, o que pode sugerir um quadro característico de estresse na infertilidade. Para tanto apresenta estudo com 61 casais em tratamento reprodutivo, nos anos de 2009 e 2010, em clínicas da cidade de Curitiba-PR, nos anos de 2009 e 2010, na faixa etária compreendida entre 23 e 50 anos, sendo que as mulheres entre 23 e 50 anos e os homens, entre 27 e 47 anos. Utilizou-se da aplicação do Inventário de Sintomas de Estresse de Lipp, instrumento reconhecido, confiável e fidedigno ao contexto brasileiro, para a avaliação proposta. A metodologia aplicada nesta pesquisa foi a exploratório-descritiva uma vez que pretende explicitar um problema, descrever as características de determinada população ou fenômeno e estabelecer correlações entre variáveis, utilizando-se de técnica padronizada de coleta de dados. Os resultados mostraram semelhança de sintomas de estresse no casal infértil, visto que os sintomas assinalados no inventário muitas vezes se repetem, atingindo semelhança maior quando considerados em prazo longo, como os ocorridos no último mês, o que possibilita pensar que à medida que o problema da infertilidade persiste ou, não se resolve, o nível de estresse se eleva, pode se cronicar e acentuar a semelhança de sintomas no casal. Conclui-se que é possível pensar que o quadro de estresse na infertilidade se manifesta por sintomas específicos como tensão muscular, vontade súbita de iniciar novos projetos, mudança de

apetite e insônia. Com o passar do tempo, ou seja, com a persistência da infertilidade que não se resolve, tende a se expressar com mais intensidade através de irritabilidade sem causa aparente, sensibilidade emotiva e pensar num só assunto, além de cansaço, sensação de desgaste, insônia e excesso de gases, em menor intensidade, sendo que insônia é o sintoma que apresentou maior tendência a persistir. **PALAVRAS-CHAVE:** infertilidade, estresse, reprodução assistida.

## P15 - Endometriose pleural evidenciada após estimulação ovariana e coleta de óvulos para preservação da fertilidade

Karla Zacharias<sup>1</sup>, Marcia Riboldi<sup>1</sup>, Maria Angélica Peres<sup>1</sup>, Maurício Cehin<sup>1,2</sup>, Eduardo Leme Alves da Motta<sup>1,2</sup>, Paulo Serafini<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>Huntington Medicina Reprodutiva, São Paulo, Brasil. <sup>2</sup>Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, São Paulo, Brasil. <sup>3</sup>Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, Brasil

**OBJETIVO:** Relatar caso de endometriose pleural diagnosticado após estimulação ovariana e coleta de oócitos para preservação da fertilidade em mulher com presença de endometriose pélvica. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Paciente com 36 anos de idade procurou centro de reprodução assistida para vitrificação de óvulos. Anamnese e exame físico somado a exames laboratoriais de imagem como a ultrassonografia transvaginal com preparo intestinal (TVSBP) para pesquisa de endometriose profunda, dosagens de hormônio anti-Mulleriano (HAM) e hormonal foram realizados. **RESULTADOS:** A paciente apresentou evidência de endometriose profunda associado à presença de endometrioma no ovário esquerdo além de espessamento tubário. Níveis séricos de HAM de 1,3 ng/ml associados a níveis de CA125 de 71 U/mL foram observados. Paciente utilizou anticoncepcional oral durante 3 semanas antes de iniciar a estimulação ovariana (EO). Para tanto, usou-se r-FSH 250 UI/dia num total de 2750 UI + 0,5 mg de Cetorelix durante 4 dias + r-hCG gerando 13 oócitos que foram vitrificados. A paciente apresentou boa evolução no período pós-aspiração folicular imediata. No dia seguinte, ela apresentou desconforto respiratório com dor torácica unilateral à direita (D). No pronto atendimento, RX de tórax e RNM pulmonar mostrou mínimo derrame pleural sendo prescrito anti-inflamatórios. Após 1 semana, a paciente negava dispnéia, mas mantinha dor torácica. Nesta ocasião RX de tórax revelou derrame pleural em 2/3 do hemitórax D. Foi realizado drenagem do derrame pleural com biópsia sendo diagnosticado endometriose estromal em pleura com sinais de hemorragia antiga compatível com hemotórax catamenial (ectopia de células estromais endometriais com avaliação histoquímica positiva para CD10). O estudo de citologia oncológica apresentou células mesoteliais isoladas e agrupadas além de esparsos linfócitos distribuídos em fundo amorfo. A paciente foi tratada com agonista de GnRH obtendo melhora clínica. **CONCLUSÃO:** Trata-se de um caso raro com aproximadamente 100 relatos na literatura porém, este é o primeiro relato após estímulo ovariano. Devido à ausência de sintomas podemos sugerir que focos de endometriose pré-existent foram ativados pelo estímulo hormonal utilizado. O diagnóstico diferencial requer exames subsidiários e até a biópsia pleural.

## P16 - Comparação entre as técnicas de congelamento lento e vitrificação de tecido testicular de bovino, como modelo experimental para tecido humano

Adriana Monteiro Damasceno, Laila Succar Teixeira do Rosário Rahme, Raquel de Lima Leite Soares Alvarenga Cegonha

Medicina Reprodutiva e Instituto de Saúde da Mulher

**OBJETIVO:** Na Reprodução Assistida, o congelamento de espermatozoides é indicado para pacientes que irão se submeter a procedimentos que possam comprometer sua produção espermática. Para adultos os bancos de sêmen é uma opção, mas para crianças que ainda não atingiram a puberdade, a única alternativa seria a criopreservação do tecido testicular. No momento, ainda não há um consenso quanto a melhor forma de criopreservar este tecido. A vitrificação tem se mostrado muito eficiente para a preservação de embriões, óvulos e tecido ovariano. O objetivo deste trabalho foi comparar a sobrevivência de espermatozoides móveis e células testiculares em fragmentos de testículo bovino a fresco e congelados pelo método lento ou pela vitrificação. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram utilizados seis testículos oriundos de diferentes animais. Fragmentos de parênquima testicular foram macerados e analisados a fresco, para visualização de espermatozoides móveis e foram corados com azul de trypan para avaliação da vitalidade celular do pool de células do epitélio germinativo. Fragmentos de tecido testicular (3mm<sup>3</sup>) foram vitrificados ou congelados usando-se freezer biológico programável. Após aquecimento ou descongelamento foi avaliada a vitalidade das células e motilidade das espermátides alongadas/espermatozoides. **RESULTADOS:** A motilidade espermática observada inicialmente foi somente preservada após descongelamento na técnica do congelamento lento. Não observamos a motilidade espermática após vitrificação em nenhum dos grupos estudados. A avaliação da vitalidade do pool de células espermáticas com o uso do Teste de exclusão vital com o Azul de Trypan também resultou em melhores resultados após congelamento lento (média de 33,00%), enquanto que na vitrificação a média atingiu 15,67%. **CONCLUSÕES:** Neste estudo, o processo de congelamento lento se mostrou superior à vitrificação, tanto na preservação da motilidade original dos espermatozoides do tecido testicular, quanto na recuperação das células testiculares criopreservadas.

## P17 - A vitrificação de oócitos bovinos prejudica sua capacidade reprodutiva, independente do estado de maturação

Bulgarelli, D.L, Vireque, A.A, Pitangui C.P, Bernuci, M.P, Silva-de-Sá, M.F., Sá Rosa-e-Silva, A.C.

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

A criopreservação de oócitos e tecido ovariano são estratégias para preservação da fertilidade de pacientes oncológicas em idade reprodutiva. Porém, até o momento não há consenso na literatura sobre o melhor estágio de maturação meiótica (imaturado -VG (vesícula germinativa) ou maduro- MII (metáfase II)) onde o oócito mantenha

sua competência para o desenvolvimento reprodutivo após a criopreservação. **OBJETIVO:** Determinar em qual estadió meiótico o oócito é menos susceptível ao dano pela criopreservação, utilizando modelo experimental bovino. **MATERIAL E METODOS:** Oócitos imaturos (n =426) foram selecionados para maturação in vitro (MIV) (TCM-199,10%SFB) ou vitrificação (Cryotop method- Cryotech Lab) e assim foram divididos em três grupos;1°- Controle: oócitos imaturos submetidos à MIV (n =293);2°-CRIO-MIV: oócitos imaturos submetidos à vitrificação e depois à MIV (n=71); 3°-MIV-CRIO: oócitos maturados in vitro e vitrificados (n=62). Antes e após MIV e vitrificação, os oócitos foram avaliados quanto a maturação nuclear (técnica de orceína acética), integridade da zona pelúcida (ZP) (microscopia de polarização), viabilidade oocitária (técnica do DEAD-LIVE) e desenvolvimento embrionário (fertilização in vitro - FIV e ativação partenogenética -AT). **RESULTADOS:** Não houve diferença na capacidade de maturação nuclear entre os oócitos frescos e criopreservados no grupo CRIO-MIV (p=0,23). A avaliação da integridade da ZP apresentou nos três grupos leitura positiva (100%), não havendo correlação com evolução embrionária posterior. A viabilidade oocitária apresentou-se reduzida no grupo MIV-CRIO (27%;p<0.0001). Os grupos CRIO-MIV e MIV-CRIO apresentaram baixas taxas de clivagem após FIV (28%, p<0,0001; 26%, p<0,0001,respectivamente) e AT (28%, p=0,0002; 22%, p<0,0001,respectivamente). Nos grupos CRIO-MIV e MIV-CRIO não houve formação e eclosão de blastocisto. **CONCLUSÃO:** No modelo experimental utilizado, o procedimento de vitrificação comprometeu parcialmente a viabilidade dos oócitos e completamente o desenvolvimento embrionário, independente do estadió de maturação meiótica durante a criopreservação. No entanto, oócitos vitrificados imaturos e submetidos à MIV foram meioticamente competentes e progrediram até o estadió de MII, sugerindo que o dano não compromete a capacidade de maturação nuclear oocitária. Este estudo não conseguiu determinar qual o melhor estadió meiótico oocitário para criopreservação, já que os dois estadiós meióticos (VG e MII) se mostraram igualmente prejudicados pela criopreservação em relação à capacidade reprodutiva. SUPORTE:FAPESP (2009/04102-7 e 2010/09368-2010).

## P18 - Efeito do extrato aquoso de camomila (*Chamomilla recutita* L.) na prenhez de ratas e no desenvolvimento de filhotes

JALSI TACON ARRUDA; TATIANA MOREIRA SILVA; MÔNICA CANÊDO SILVA MAIA; MÁRIO SILVA APPROBATO

Universidade Federal de Goiás, Hospital das Clínicas, Laboratório de Reprodução Humana

As plantas medicinais possuem substâncias ativas e, muitas vezes, o efeito tóxico sobre o organismo é desconhecido ou ignorado pelos usuários. A camomila é muito utilizada pela população, porém, contra-indicada para gestantes por possuir indícios de atividade emenagoga e relaxante da musculatura lisa. Por esses motivos, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do extrato aquoso de camomila na gestação e nos filhotes gerados. Foram utilizadas 9 ratas da linhagem Wistar, divididas em 3 grupos, D1 e D2 que receberam infusão de camomila a 5% e 10% respectivamente e controle que recebeu soro fisiológico. Os tratamentos foram administrados por via oral, do 1o ao 7o dia após o cruzamento. Os parâ-

metros estudados foram prevalência de abortos, ganho de peso materno durante a prenhez, mortes fetal e materna, malformações fetais grosseiras, número de recém nascidos, peso dos filhotes e análise de reflexos neurológicos dos filhotes (postural, preensão e orientação) no 1o, 3o, 5o e 10o dia de vida. Houve gestação em 70% do grupo controle, 40% do D1 e 80% do D2. Não houve diferença no ganho de peso materno no 7o e 21o dias, porém os grupos tratados obtiveram um ganho de peso menor em relação ao controle no 14o dia de gestação (p=0,04). As diferenças entre o número de recém nascidos não foram significantes. No peso dos recém nascidos, os animais tratados apresentaram um menor ganho de peso aos dias 1, 3, 5 e 10 após o nascimento (p=0,005; p=0,001; p<0,001; p<0,001; respectivamente). Nos reflexos neurológicos, ocorreram diferenças do reflexo postural no 1o dia, ocorrendo uma aceleração (p=0,005), já no de preensão (p=0,006), e no de orientação (p=0,01) houve um retardo no desaparecimento não ocorrendo alteração nos demais dias ou outros parâmetros avaliados. A camomila pode influenciar no ganho de peso materno durante a gestação e no dos filhotes após o nascimento e pode provocar alterações nos reflexos neurológicos. Não se observou alteração nos demais parâmetros estudados. Daí a importância do conhecimento sobre o consumo de plantas para fins terapêuticos para uso seguro, eficaz e consciente. **PALAVRAS-CHAVE:** plantas na gravidez, camomila, teratogênese

## P19 - Avaliação dos efeitos da buchinha (*Luffa operculata* (L.) Cogn. Cucurbitaceae) na gestação de ratas wistar e nos filhotes gerados

JALSI TACON ARRUDA; MÔNICA CANÊDO SILVA MAIA; TATIANA MOREIRA SILVA; MÁRIO SILVA APPROBATO

Universidade Federal de Goiás, Hospital das Clínicas, Laboratório de Reprodução Humana

O objetivo foi avaliar os efeitos da *Luffa operculata* na gestação de ratas e nos filhotes gerados. Foram utilizadas 30 ratas Wistar, divididas em três grupos: tratado D1, tratado D2 e controle que receberam a decoção da buchinha por via oral, uma vez ao dia, durante 7 dias após o cruzamento. As doses foram de 150 mg (D1) e 300 mg (D2) de buchinha por Kg de peso corporal. Os parâmetros avaliados foram o ganho de peso durante a prenhez, a prevalência de abortos, morte fetal e materna, malformações fetais grosseiras, número e peso dos recém nascidos e análise de reflexos neurológicos postural, preensão e orientação no 1o, 3o, 5o e 10o dia de vida. Houve diferença estatisticamente significativa quanto ao número de ratas que engravidaram, no ganho de peso materno no 14o dia de prenhez, peso dos recém nascidos em todos os dias observados e no reflexo de orientação no 10o dia de vida. A *Luffa operculata* pode influenciar na fertilidade das ratas, no ganho de peso durante a gestação e no peso dos filhotes. **PALAVRAS-CHAVE:** *Luffa operculata*, fitoterápicos e gravidez.

## P20 - Comparação dos efeitos de atmosfera 21% e 5% de oxigênio na qualidade embrionária e taxas de gestação

Jhenifer Kliemchen Rodrigues (MSc), Ana Luisa Menezes Silva, Julliane Joviano, Rívia Mara Lamaita (MD, MSc,

PhD), Ricardo Mello Marinho (MD, MSc, PhD), João Pedro Junqueira Caetano (MD, MSc, PhD)

Pró-Criar Centro de Medicina Reprodutiva

**OBJETIVO:** Avaliar o efeito da tensão de oxigênio (O<sub>2</sub>) sobre os resultados de procedimentos de fertilização in vitro (FIV). **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram analisados retrospectivamente 55 ciclos de FIV (55 pacientes), com idade inferior a 38 anos, fator tubário como causa de infertilidade, submetidas a protocolos de estimulação ovariana longo, antagonista ou micro-flare. Os embriões foram cultivados em 21% (n = 27) ou 5% de O<sub>2</sub> (n = 28). As taxas de fertilização, clivagem, formação de embriões de boa qualidade no dia 2 e 3 de desenvolvimento, formação de blastocisto no dia 5, e taxas de gestação bioquímica e clínica foram comparados entre os grupos. Foram aplicados os testes T Student e Mann-Whitney, através do programa SigmaPlot 12.0, sendo considerado diferença significativa quando  $P \leq 0,05$ . **RESULTADOS:** Não houve diferença significativa no perfil das pacientes (idade, média de 35 anos e peso) ou nos resultados da FIV. As taxas de fertilização e clivagem foram semelhantes entre os grupos (85% vs 80%), bem como, a qualidade embrionária no dia 2 (78% vs 78%), dia 3 (46% vs 59%) e a taxa de formação de blastocisto no dia 5 (53% vs 53%) ( $P > 0,05$ ). Também não foi encontrada diferença significativa nas taxas de gestação bioquímica (7% vs 8%) e clínica (52% vs 50%) ( $P > 0,05$ ). **CONCLUSÕES:** A tensão de O<sub>2</sub> ser 21% ou 5%, não teve influência sobre as taxas de fertilização, clivagem, qualidade embrionária durante o cultivo, e taxas de gestação bioquímica e clínica nos casos analisados. Dessa forma, o presente estudo sugere que tanto uma atmosfera de O<sub>2</sub> de 21% quanto de 5% são adequadas para cultivar embriões durante o tratamento de fertilização in vitro, sem influenciar nos seus resultados. **PALAVRAS-CHAVE:** Tensão de oxigênio; Qualidade embrionária; Taxas de gestação

## P21 - Gestação após transferência de blastocisto vitrificado no dia 7 de desenvolvimento: relato de caso

João Pedro Junqueira Caetano (MD, MSc, PhD); Rívia Mara Lamaita (MD, MSc, PhD); Ana Luisa Menezes Silva; Jhenifer Kliemchen Rodrigues (MSc); Ana Márcia de Miranda Cota (MD, MSc); Ricardo Mello Marinho (MD, MSc, PhD)

Pró-Criar Centro de Medicina Reprodutiva, Rua Bernardo Guimarães, 2063, Lourdes Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

Paciente LHGG, 33 anos, foi encaminhada ao nosso serviço por infertilidade sem causa aparente. Casada há sete anos e histórico de duas gravidezes espontâneas seguidas de abortos. Relata ciclos irregulares desde a menarca. Cariótipo normal e histerossalpingografia sem alterações. O cônjuge apresentou espermograma normal. Em quatro tratamentos anteriores de FIV, em diferentes serviços, foi utilizado o protocolo longo em um (indução cancelada) e protocolo antagonista em três, quando foram obtidos em média 13 oócitos. Apresentou síndrome de hiperestímulo ovariano (SHO) em todos eles. Em 2 ciclos os embriões foram congelados e transferidos em ciclo posterior, no primeiro ciclo 2 blastocistos e no segundo, 2 embriões dia 3.

No ciclo não cancelado, foram transferidos 4 embriões dia 3. Não ocorreu gestação em nenhum deles. Na quinta tentativa, realizada em nosso serviço, utilizou-se o protocolo antagonista, com análogo do GnRH para desencadear a maturação oocitária e a prevenção da SHO. Foram obti-

dos 23 oócitos maduros e 11 embriões no dia 3. Somente 3 atingiram o estágio de blastocisto e apenas no sétimo dia de cultivo, quando foram vitrificados. No ciclo de descongelamento, o preparo endometrial foi realizado com estradiol oral e progesterona e os três embriões foram transferidos. O beta hCG foi positivo e um saco gestacional bem implantado foi visualizado no primeiro ultra-som. O nascimento ocorreu por parto cesariana, com 39 semanas. O recém nascido pesou 3,655 quilos e mediu 50 centímetros. O prolongamento do cultivo até o sétimo dia não é comum. Neste período o embrião dá início ao hatching e inicia a produção de fatores de crescimento fundamentais para sua interação com o endométrio. Portanto, o ideal é a realização da transferência no dia 5, como é geralmente feito, já estando o embrião no útero no dia 7. No caso relatado, o resultado do procedimento foi satisfatório, mostrando que em ocasiões onde não houver formação de blastocisto no quinto ou sexto dia de cultivo, a tentativa de se prolongar o desenvolvimento embrionário in vitro até o dia 7, e mesmo com a transferência em ciclo posterior, pode ser considerada, na tentativa de se obter gestação. **PALAVRAS CHAVE:** Vitrificação; Blastocisto; Taxas de gestação

## P22 - Efeitos da endometriose nos ciclos de reprodução assistida

JALSI TACON ARRUDA; MÔNICA CANÊDO SILVA MAIA; TATIANA MOREIRA SILVA; MÁRIO SILVA APPROBATO

Universidade Federal de Goiás, Hospital das Clínicas, Laboratório de Reprodução Humana

Técnicas de reprodução assistida podem diminuir os efeitos negativos da endometriose. Essa doença quando comparada ao fator tubário, afeta a qualidade dos oócitos e diminui a taxa de fertilização. Os mecanismos envolvidos na etiopatogênese da infertilidade, em pacientes com endometriose, principalmente nos casos de doença mínima e leve em que não se observa alteração do trato reprodutivo, ainda não foram bem elucidados. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da endometriose nos resultados obtidos em ciclos de reprodução assistida. Pacientes submetidas à fertilização in vitro/injeção intracitoplasmática de espermatozoides (FIV/ICSI) foram divididas em dois grupos: A) portadoras do fator endometriose e B) fator tubário. Comparou-se os grupos quanto ao número de coletas realizadas no período de 2009 a 2011, número de oócitos captados, número de embriões formados, taxa de fertilização e taxa de gravidez. O grupo A com média 34,52 anos  $\pm$  4,3 (variação de 25 a 40) e o grupo B com 33 anos  $\pm$  4,8 (variação de 25 a 41). Foram realizadas 23 coletas no grupo A resultando 83 oócitos; e no grupo B 33 coletas e 187 oócitos ( $p=0,01$ ). A média de embriões transferidos por paciente do grupo A foi de  $1,92 \pm 0,86$  e no grupo B foi de  $2,96 \pm 2,54$ . No grupo A houve uma taxa significativamente menor na formação de embriões em relação ao grupo B ( $p<0,001$ ). O mesmo foi observado no número de embriões transferidos nos grupos A e B ( $p=0,04$ ). A taxa de fertilização também foi menor no grupo A (30,12%) do que no grupo B (43,31%). Não houve diferença na taxa de gravidez entre os grupos. Resultados conflitantes de alguns estudos têm sugerido a ocorrência de menores taxas de fertilização, implantação e de gestação em portadoras de endometriose, decorrente do comprometimento da qualidade oocitária e, conseqüentemente, embrionária e/ou defeitos endometriais ou da interação entre o endométrio e o embrião. A endometriose tem um efeito

negativo sobre os resultados do programa de reprodução assistida e estes efeitos são variáveis de acordo com o estágio da doença. Estudos mostraram um aumento no número de ciclos cancelados devido à resposta hormonal insuficiente, além das taxas reduzidas de implantação. **PALAVRAS-CHAVE:** endometriose, fator tubário, infertilidade.

## P23 - Vitrificação e transplante heterotópico de tecido ovariano murino

RAIMANN BW<sup>1</sup>, FRAJBLAT M2, SALVADOR RA<sup>1</sup>; AMARAL VLL<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>UNIVALI- Universidade do Vale do Itajaí-SC; 2UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro

**OBJETIVO:** O objetivo deste trabalho foi testar a eficiência de um protocolo de vitrificação de tecido ovariano murino submetido a transplante heterotópico. **MATERIAL E MÉTODOS:** Para a execução do trabalho foram utilizadas 10 fêmeas BALB/c. Foi realizada ooforectomia unilateral e uma metade de cada ovário coletado foi vitrificada utilizando-se solução de equilíbrio (VS1) composta por 7,5% etilenoglicol (EG), 7,5% de dimetilsulfóxido (DMSO) e 20% de soro bovino fetal (SBF) em meio HTF-HEPES por 25 minutos, depois transferida para solução de vitrificação (VS2) composta por 20% EG, 20% DMSO, 20% SBF e 0,5 M de sacarose em HTF-HEPES por 15 minutos. O fragmento de tecido foi então colocado sobre uma gaze estéril e imediatamente colocado em um crio tubo contendo nitrogênio líquido, sendo posteriormente fechado e armazenado a -196°C em um botijão criogênico. Após armazenagem por três dias, o tecido foi removido do crio tubo e colocado em meios HTF-HEPES à 37°C suplementado com 1M de sacarose por 1 minuto. Após ser destacado da gaze, o tecido foi transferido para meio HTF-HEPES à temperatura ambiente suplementado com 0,5M de sacarose por 5 minutos e logo após, colocado em solução HTF-HEPES por 10 min. Os nove fragmentos recuperados foram transplantados para o tecido subcutâneo da região occipital inter-auricular da mesma fêmea. Após 21 dias do transplante, foi feita análise histológica de biópsia excisional de sete fragmentos. A avaliação da viabilidade tecidual e folicular foi realizada por microscopia de luz (400x) por meio da identificação da presença e desenvolvimento de foliculos pré-antrais e antrais, assim como danos celulares. **RESULTADOS:** Três dos sete fragmentos recuperados apresentaram-se viáveis, o que resulta em 46% de eficiência do protocolo. **CONCLUSÃO:** Estes resultados indicam que a vitrificação de tecido ovariano é um método viável, com potencial de aprimoramento e alcance de melhores taxas de eficácia.

## P24 - PGD para β-Talassemia e tipagem de HLA: primeiro nascido vivo livre da doença para transplante de célula tronco de cordão umbilical

Amanda Souza Setti<sup>1,2</sup> B.Sc., Sylvia Sanches Cortezzi<sup>2</sup>, Ph.D., Rita de Cássia Sávio Figueira<sup>1</sup>, M.Sc., Ciro Dresch Martinhago<sup>3</sup>, M.D., Ph.D., Assumpto Iaconelli Jr.<sup>1,2</sup> M.D., Edson Borges Jr.<sup>1,2</sup> M.D., Ph.D.

<sup>1</sup>Fertility - Centro de Fertilização Assistida, São Paulo - SP; <sup>2</sup>Associação Instituto Sapientiae - Centro de Estudo e Pesquisa em Reprodução Humana Assistida, São Paulo - SP; <sup>3</sup>RDO Diagnósticos Médicos, São Paulo - SP

**OBJETIVO:** Relatar o primeiro caso brasileiro de diagnóstico pré-implantacional para β-talassemia com tipagem de HLA (human leukocyte antigen) resultando no nascimento de uma criança com possibilidade de salvar sua irmã portadora de talassemia major. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Uma paciente de 34 anos, heterozigota para a mutação IVSI-1G→A para β-talassemia e seu marido, 34 anos, heterozigoto para a mutação Cd39 C→T para o gene da β-globina, com uma filha de cinco anos de idade, homozigota recessiva (portadora das duas mutações, materna e paterna) que requeria transfusões sanguíneas regularmente. Foi extraído o DNA genômico dos pais e da filha a fim de sequenciar a mutação para a β-talassemia e realizar a genotipagem do HLA. Para identificação dos marcadores moleculares mais informativos foram testados 29 microssatélites em reações individuais de PCR. Destes, foram 2 marcadores para a β-talassemia e 7 marcadores para o complexo HLA. O casal realizou procedimento de ICSI e PGD por PCR nos blastômeros biopsiados utilizando os 9 marcadores previamente identificados e validados. A transferência embrionária foi realizada no estágio de blastocisto, após a confirmação do resultado do PGD. **RESULTADOS:** A genotipagem de blastômeros para a mutação foi realizada em 10 embriões. Destes, 5 foram heterozigotos, 3 homozigotos recessivos e 2 embriões homozigotos dominantes. No teste para HLA, apenas 3 embriões foram compatíveis ao da irmã, sendo um embrião homozigoto recessivo, um embrião heterozigoto e um embrião homozigoto dominante. Dois embriões compatíveis para HLA e não afetados (homozigoto dominante e heterozigoto) foram transferidos, resultando em gestação clínica e nascimento de um bebê saudável, homozigoto dominante, portanto, livre da β-talassemia, em fevereiro de 2012. As células tronco do cordão umbilical do bebê foram congeladas e serão utilizadas para transplante na sua irmã em um futuro próximo. **CONCLUSÕES:** Na ausência de um doador compatível, o PGD associado à tipagem do HLA possibilita a identificação de embriões compatíveis, visando à doação de sangue do cordão umbilical ao nascimento. Sua aplicação clínica representa uma abordagem alternativa para o tratamento de crianças com hemoglobinopatias tratáveis a partir de transplantes de células-tronco hematopoiéticas, incluindo a β-talassemia e a leucemia.

## P25 - Perfil sócio demográfico de doadoras de óvulos na realidade brasileira

Rose Marie Massaro Melamed<sup>1</sup>, Daniela Paes de Almeida Ferreira Braga<sup>1,2</sup> M.Sc., Amanda Souza Setti<sup>1,2</sup> B.Sc., Rita de Cássia Sávio Figueira<sup>1</sup>, M.Sc., Assumpto Iaconelli Júnior<sup>1,2</sup>, M.D., Edson Borges Júnior<sup>1,2</sup>, M.D., Ph.D.

<sup>1</sup>Fertility - Centro de Fertilização Assistida, São Paulo - SP; <sup>2</sup>Associação Instituto Sapientiae - Centro de Estudo e Pesquisa em Reprodução Humana Assistida, São Paulo - SP

**OBJETIVO:** Determinar o perfil sócio-demográfico de mulheres submetidas a ciclos de Reprodução Assistida que se propuseram a doar seus óvulos excedentes para outro casal. **MATERIAIS E MÉTODOS:** O estudo avaliou 229 termos de consentimento informado de pacientes atendidas em um centro de reprodução assistida privado. As análises foram efetuadas no início do tratamento, anteriormente ao estímulo ovariano controlado. As pacientes foram divididas em grupos de acordo com a idade, escolaridade e religião e os grupos foram comparados em relação à intenção de doar ou descartar os gametas excedentes. **RESULTADOS:** Das 229 pacientes, 79 (34.5%) doariam seus óvulos excedentes para outro casal. Em relação à idade, foi observada uma diferença significativa entre os grupos quanto à intenção de

doar os gametas excedentes (<35 anos: 42,1%; entre 35 e 39 anos: 20,7% e >39 anos:33,3, p=0.020). Quanto ao nível de escolaridade, não houve diferença entre as pacientes que doariam ou não seus gametas excedentes (pacientes com ensino superior: 31.6% vs pacientes com ensino médio: 41,9%, p=0.256). Em relação à religião, a maioria das pacientes era católica (59.8%) das quais 37.2% seriam doadoras. Das protestantes, mórmons e judias, nenhuma doaria seus óvulos excedentes, p<0.001. **CONCLUSÕES:** A clínica de reprodução assistida sustenta em seus procedimentos científicos e tecnológicos de alta complexidade, recurso às pessoas que não mais possuem seus próprios gametas a contar com a ovodação. A realidade brasileira tem nos mostrado que o tempo de espera para obtenção de óvulos doados tem aumentado significativamente em função da escassez de doadoras. A partir dos dados apresentados notamos que pacientes mais jovens são mais propensas a doarem seus óvulos excedentes assim como o fato de pertencer à religião católica. Ainda assim, nós enquanto profissionais da área de reprodução assistida devemos buscar recursos para manter a ovodação como tratamento viável para pacientes que dela necessitem.

## P26 - Eficácia da motilidade espermática pós-capacitação e incubação na predição de gravidez após a inseminação intrauterina em indivíduos normospérmicos

Lúgia Fernanda Previato de Araújo<sup>1,2</sup>, Edilberto Araújo Filho<sup>1</sup>, Cássio Leão Facio<sup>1</sup>, Márcia Cristina de Oliveira Bossoni<sup>1</sup>, Ligiane Alves Machado-Paula<sup>1</sup>, Anaglória Pontes<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Reprodução Humana de São José do Preto(CRH), São José do Rio Preto, SP, Brasil; <sup>2</sup>Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, Botucatu, SP, Brasil

**OBJETIVO:** Para saber quais casais beneficiariam-se com a IIU, esse estudo teve como objetivo avaliar se a motilidade espermática pós-capacitação em gradiente descontínuo de diferentes densidades e incubação em CO<sub>2</sub> em indivíduos normospérmicos é capaz de prever gravidez. **MATERIAL E MÉTODOS:** 175 casais submeteram-se à IIU. Critérios de inclusão: mulheres com idade ≤ 35 anos; trompas sem alterações; endometriose Grau I e II; ISCA; disfunção ovulatória não hiperandrogênica e homens com parâmetros seminais normais. As pacientes submeteram-se à estimulação ovariana com Citrato de Clomifeno associado à Gonadotrofina menopausal humana ou FSH-r. Quando um ou até três folículos atingiram diâmetro médio desejado, administraram-se hCG ou hCG-r e a IIU realizou-se 36-40h após hCG. Capacitação espermática foi realizada pela técnica Isolate. 20µl da amostra foram incubados por 24h a 37°C em 5% de CO<sub>2</sub>, seguida da análise da motilidade A+B. Foram utilizados testes de Mann-Whitney;  $\chi^2$  para resultado expresso em percentual; curva ROC para determinar valor de corte da motilidade, permitindo calcular valores de sensibilidade, especificidade, vpp, vpn (IC - 95%). Resultados foram representados em medianas, quartis e percentuais. Valor de significância: 5%. **RESULTADOS:** Dos 175 casais, 52 engravidaram e 123 não. Análises quanto idade, duração e etiologia da infertilidade, volume, concentração total de espermatozoides, total de espermatozoides móveis e morfologia não mostraram diferenças estatísticas significantes entre os grupos grávidas e não grávidas, exceto a motilidade espermática (p<0,00001).

Na análise comparando motilidade A+B após o preparo e 24h pós-incubação nos dois grupos, observou-se que a motilidade A+B 24h pós-incubação foi maior no grupo grávidas. Análise de motilidade nas grávidas pós-preparo e 24h pós-incubação não mostrou alteração da motilidade com 24h pós-incubação e, nos casais que não engravidaram, ocorreu diminuição significativa da motilidade 24h pós-incubação (p<0,0001). A curva ROC gerou valor de corte de 56,5% para motilidade progressiva A+B pós-incubação de 24h, produzindo alta sensibilidade 96,1% (90,9-1,0%) e especificidade 92,7% (88,1-97,3%), vpp 84,7% (75,5-93,9%) e vpn 98,3% (95,9-1,0%). **CONCLUSÃO:** A determinação da motilidade dos espermatozoides de indivíduos normospérmicos após a capacitação e incubação em CO<sub>2</sub> a 37°C por 24 horas com valor de corte de 56,5% é capaz de prever o sucesso da IIU.

## P27 - Ciclos de ICSI com todos os oócitos em metáfase I: Qual o potencial de desenvolvimento destes oócitos?

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

FERTIPRAXIS- Clínica de Reprodução Humana - RJ

**OBJETIVO:** Investigar o potencial de desenvolvimento de oócitos metáfase I aspirados em pacientes submetidas a estimulação ovariana para ICSI. **MATERIAL E MÉTODOS:** Estudamos retrospectivamente (janeiro/2009 a abril/2012) 17 ciclos de ICSI com apenas oócitos metáfase I aspirados. Pacientes foram submetidas a estimulação com antagonista do GnRH e rFSH associado ou não ao HMG. O antagonista foi iniciado em presença de folículo de 14mm, diariamente até o dia do hCG. A maturação oocitária induzida com rhCG em presença de pelo menos 1 folículo 18mm ou 2 16mm.. Captação realizada 35 horas após. Duas horas após a captação foi realizada remoção das células da granulosa/corona radiata, dos oócitos constatando-se que todos eram metáfase I. A ICSI foi realizada, de acordo com a maturação dos oócitos, 3 a 8 horas após a captação (Grupo 1) e no dia seguinte, entre 24 e 26 h após a captação (Grupo 2). A transferência de embriões foi realizada no dia 3. Os parâmetros avaliados foram taxa de maturação in vitro, taxa de fertilização, qualidade embrionária, taxas de implantação e gestação. **RESULTADOS:** 41 oócitos metáfase I foram obtidos de 17 pacientes com idade média 39,5 anos. Destes, 5 oócitos não chegaram a metáfase II (12%) e não foram injetados. Na tabela 1 estão registrados os resultados obtidos.

**Tabela 1.** Comparação de fertilização e qualidade embrionária entre os grupos

Variáveis	Grupo 1	Grupo 2	P valor
Taxa de maturação (oócitos injetados)	20 (49%)	16 (39%)	NS
Fertilização (2PN)	9 (45%)	9 (56%)	NS
Fertilização (1 e 3PN)	2 (10%)	4 (25%)	NS
Falha na fertilização	8 (40%)	2(12%)	NS
Embriões G1/G2	5 (55%)	7 (78%)	NS

Chi-quadrado (p<0.05)

Em 11 pacientes foram obtidos embriões para transferência mas não houve gestação. **CONCLUSÃO:** A injeção de oócitos metáfase I que chegam a metáfase II no dia 0 e no dia 1 resultou em taxas semelhantes de fertilização e embriões G1/G2 formados, entretanto, embora única alternativa para pacientes com apenas oócitos metáfase I aspirados, não se mostrou eficiente na obtenção de gestação

## P28 - Métodos de pesquisa especial para comprovação de azoospermia: comparação entre o cytospin e a técnica de ultracentrifugação

Monteiro RAC<sup>1</sup>; Pariz JR<sup>1</sup>; Pieri PC<sup>1,2</sup>; Hallak J<sup>1,3,4</sup>.

<sup>1</sup>Androscience – Clínica e Laboratório de Referência em Andrologia, Criopreservação e Reprodução Masculina, SP-SP; <sup>2</sup>Laboratório de Biologia Molecular e Celular - LIM15 - Faculdade de Medicina da USP, SP-SP; <sup>3</sup>Setor de Andrologia, Departamento de Urologia da Faculdade de Medicina da USP, SP-SP; <sup>4</sup>Unidade de Toxicologia Reprodutiva, Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP, SP-SP

**PALAVRAS-CHAVE:** Sêmen, azoospermia, centrifugação. **OBJETIVO:** A comprovação da azoospermia está indicada para adequada orientação reprodutiva do homem infértil. O método de centrifugação de suspensão celular em lâminas (Cytospin) é amplamente utilizado para essa finalidade, embora nem sempre seja fácil a identificação de cabeças isoladas de espermatozoides em meio à grande quantidade de debris celulares. O objetivo do presente estudo foi comparar o método Cytospin com a técnica de Ultracentrifugação desenvolvida em nosso laboratório. **MÉTODO:** Foram incluídos sêmen de pacientes em idade reprodutiva, com diagnóstico de azoospermia não-obstrutiva em duas análises seminais de rotina, de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2010). A pesquisa especial para comprovação de azoospermia que foi realizada por um dos dois métodos: 1) Cytospin - equipamento especial que aplica a força de rotação diretamente a uma lâmina contendo o material a ser analisado; 2) Ultracentrifugação, método desenvolvido por nosso grupo, que processa duplamente a amostra seminal em microcentrífuga. As lâminas foram então fixadas, coradas com NF-PICS e analisadas em microscópio óptico quanto aos parâmetros: integridade morfológica dos espermatozoides e quantidade de debris celulares presentes na lâmina. Foram excluídas amostras em que houve confirmação da azoospermia. **RESULTADOS:** Um total de 22 amostras foram processadas no Cytospin (n=7) ou por ultracentrifugação (n=15). Houve diferença estatística na comparação entre os dois métodos: 1) Quanto à integridade dos espermatozoides, 72% das amostras do Cytospin apresentaram espermatozoides não íntegros (ausência de cauda e/ou peça intermediária), versus 100% de espermatozoides íntegros no método de ultracentrifugação (p=0,003); 2) Debris celulares foram observados em 100% das amostras processadas no Cytospin e em apenas 28% das obtidas por ultracentrifugação (p=0,002).

	Cytospin (n= 7)	Ultra centrifugação (n= 15)	p
Integridade dos espermatozoides	2 (28%)	11 (73%)	0,003
Debris celulares	7 (100%)	0 (0%)	0,002

**CONCLUSÃO:** O método de Ultracentrifugação seminal mostrou-se tão eficaz quanto o Cytospin. No entanto, a Ultracentrifugação, além de simples e de baixo custo, apresenta a vantagem adicional da facilidade na leitura e interpretação, com espermatozoides íntegros e lâminas livres de debris celulares.

## P29 - Caso clínico: A infertilidade masculina como indicador da saúde integral do homem

Pieri PC<sup>1,2</sup>; Monteiro RAC<sup>1</sup>; Pariz JR<sup>1</sup>; Hallak J<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>Androscience – Clínica e Laboratório de Referência em Andrologia, Criopreservação e Reprodução Masculina, SP-SP; <sup>2</sup>Laboratório de Biologia Molecular e Celular - LIM15 - Faculdade de Medicina da USP, SP-SP; <sup>3</sup>Setor de Andrologia, Departamento de Urologia da Faculdade de Medicina da USP, SP-SP; <sup>4</sup>Unidade de Toxicologia Reprodutiva, Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP, SP-SP

**PALAVRAS-CHAVE:** Infertilidade masculina, toxicologia reprodutiva, microdeleção do cromossomo Y, deleção parcial de AZFc. **OBJETIVO:** Apresentação de caso clínico com associação de múltiplas causas concorrendo para a infertilidade masculina e queda da saúde integral do homem. **MÉTODOS:** Foi realizada anamnese e exame físico do paciente, e solicitados exames laboratoriais que incluíram análise seminal completa, dosagens hormonais e pesquisa ampla de metabólitos urinários/plasmáticos/fecais, cariótipo com bandas e pesquisa de microdeleções do cromossomo Y. **RESULTADOS:** Paciente de 38 anos, casado há 10 anos e história de infertilidade primária há 5 anos. Queixa de cansaço, insônia, dores articulares e musculares, enxaqueca e rinite. Um ciclo de reprodução assistida anterior por ICSI sem investigação inicial que resultou em gestação bioquímica. Ao exame físico foi identificada IMC 30,1, varicocele grau II à esquerda com refluxo bilateral >2seg, Análises seminais 1,2Msptz/mL, 24Msptz/mL, 8Msptz/mL todas com morfologia estrita 0% e A+B+C entre 30-40% (A0%). Cariótipo 46,XY,9ph, microdeleção do Y normal. Metabólitos indicando grave intoxicação por mercúrio, arsênico, xileno e DDE, grave disbiose intestinal, acidose metabólica, déficit nutricional com déficit de produção de energia, estresse oxidativo, imunossupressão, alergia alimentar, grave redução dos níveis de cortisol (salivar e sérico), vitamina D, progesterona e DHEA. Foi realizada varicocelectomia e suplementação com hCG 1.500UI 2x/semana por 6 meses. No pós operatório imediato também foi iniciada ampla reeducação alimentar, detoxificação, correção da flora intestinal, suplementação alimentar, suporte hepático, suplementação de vitamina D e solicitada retirada das obturações de amálgama. Em maio/2011 e ago/2011 houve melhora da concentração seminal (26M/mL e 40M/mL respectivamente) sem melhora da morfologia. Em jan/2012 o paciente havia atingido IMC de 24,5, referiu ausência das enxaquecas, das dores artro-musculares e sem insônia. Mas a análise seminal revelou novamente uma redução na concentração (2M/mL) com melhora para 4M/mL em fev/2012. Diante da oscilação nos valores seminais foi realizada pesquisa de microdeleções parciais no cromossomo Y que revelou deleção das cópias DAZ1/DAZ2/DAZ3 em AZFc. **CONCLUSÃO:** A infertilidade masculina é multi-determinada e o presente caso ilustra a interação de fatores ambientais (intoxicação por metais pesados

e solventes orgânicos) com hábitos e estilo de vida (ingesta hipercalórica e de baixo teor nutricional) e fatores genéticos (midrodeleções parciais de cópias de genes importantes na sub-região AZFc do cromossomo Y). Ilustra também a importância da intervenção multidisciplinar e uma abordagem mais específica e completa na saúde do paciente visando mais que o resgate da fertilidade, a saúde global do homem.

### P30 - "A RHA deve ser uma coisa boa" - percepções de homens a respeito da FIV

Claudia V. FONTENELE; Ana Cristina d'Andretta TANAKA.

Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo/USP

**OBJETIVO:** descrever as percepções sobre a FIV (fertilização in vitro), de homens casados com mulheres laqueadas que estão à espera de tratamento de reprodução humana em hospital da rede pública do Estado de São Paulo<sup>1</sup>.

**MATERIAL E MÉTODOS:** foram colhidas entrevistas abertas com 6 homens que aguardam com suas esposas, tratamento de FIV. Foram utilizadas também anotações das observações de campo. **RESULTADOS:** mesmo que a paternidade seja importante na vida social desses homens, as percepções relacionadas à FIV se mostraram diferentes. Os discursos são perpassados por afirmações que levam a crer que a FIV pode possibilitar "o sonho de ser pai", "a alegria de ter um moleque correndo em casa", uma vez que contraíram matrimônio com mulheres laqueadas. No entanto, o segundo grupo tem percepções diferentes sobre essa possível gestação. Esses homens afirmam que caso a FIV não tenha sucesso, não há problema, pois o casamento é ainda mais importante que o nascimento de um filho. Esses homens enfatizam que o encontro com a esposa é: "mais importante que ter filho, porque ter filhos deve ser bom, mas eles vão embora e é a mulher da gente que fica" ou "se ela tiver o nosso filho de proveta, ótimo, mas se não tiver, ótimo porque ela é mais importante que eles [os filhos]".

**CONCLUSÕES:** A abordagem inicialmente feita permitiu dividir os homens em dois grupos: um que considera que a FIV proporcionará uma gravidez que resultará na alegria de ter o primeiro filho e ser pai. O segundo, a maioria, considera que uma gravidez por meio de FIV será algo de ordem positiva, mas não a mais importante de sua vida. Considera que o casamento ora estabelecido é mais importante que o provável nascimento de um filho. Ambos os grupos consideram importante à busca que empreendem da gravidez, ainda que amparada na tecnologia. **DESCRIPTORIOS:** FIV. Paternidade. Casamento. Gravidez

<sup>1</sup>Esse resumo é concernente às primeiras análises do material de pós-doutoramento intitulado: "Mater semper certa est, pater nunquam" - uma análise da paternidade no contexto da reprodução humana assistida, que tem financiamento do CNPq.

### P31 - Influência do índice de massa corpórea (IMC) na qualidade seminal

Erika Caldas<sup>1,2</sup>; Bárbara Repolho<sup>1</sup>; Sabrina MR Jacinto-Costa<sup>1</sup>; Tatiana CS Bonetti<sup>1,3</sup>; George H. Caldas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CEMISE-VIDA - Centro de Reprodução Humana, Aracaju - SE, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal de Sergipe/ RENORBIO - UFS, Aracaju - SE, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Departamento de Ginecologia, São Paulo - SP, Brasil

**OBJETIVO:** Sobre peso e obesidade se tornaram uma grande preocupação de saúde pública mundial, principalmente em sociedades industrializadas. Tem sido sugerido que o IMC elevado, está associado com infertilidade masculina uma vez que são observadas anormalidades nos níveis séricos de hormônios reprodutivos e, em menor escala, anormalidades na análise seminal e integridade do DNA espermático. O objetivo deste trabalho foi verificar a relação entre IMC e qualidade seminal.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Foram incluídos 3876 espermogramas de pacientes com idade média de 33,83 anos, entre 2001 a 2012 em clínica privada em Aracaju-SE. **RESULTADOS:** Dentre os pacientes estudados 2516 preencheram os critérios de inclusão e apresentaram IMC médio de 26,46 ( $\pm 0,087$ ). Dentre eles 975 pacientes (38,8%) apresentaram IMC normal ( $IMC \leq 25$ ), 12 (0,5%) IMC abaixo da normalidade, 1092 (43,4%) com sobre peso e 437 (17,4%) com obesidade. Na população estudada, não houve uma relação significativa entre os parâmetros seminais analisados de rotina como volume ( $p=0,112$ ), concentração ( $p=0,740$ ) e motilidade progressiva ( $p=0,28$ ) com sobre peso e obesidade, porém houve uma correlação fraca negativa entre a obesidade e parâmetros morfológicos (pearson correlation:  $r=-0,041$ ;  $p=0,038$ ). Conclusões: Nosso estudo inclui uma casuística grande de 10 anos de rotina em análise seminal e não foram encontradas relações entre os parâmetros seminais e sobre peso e obesidade, o que corrobora com estudos de revisões sistemática com metanálise que não mostram evidências de associação entre IMC elevado e parâmetros seminais. Alguns trabalhos sugerem a relação entre obesidade e alterações no volume, morfologia e fragmentação de DNA, o que pode ser explicado através das alterações hormonais geralmente encontradas na obesidade, já que estes controlam as secreções das glândulas genitais acessórias e maturação espermática. Estudos prospectivos avaliando a qualidade seminal de pacientes obesos associando dosagens hormonais e fragmentação de DNA devem ser realizados a fim de esclarecer tais questionamentos. **PALAVRAS-CHAVE:** Obesidade; Sêmen; Infertilidade Masculina.

### P32 - Influência do consumo de medicamentos na qualidade seminal

Erika Caldas<sup>1,2</sup>; Bárbara Repolho<sup>1</sup>; Sabrina MR Jacinto-Costa<sup>1</sup>; Tatiana CS Bonetti<sup>1,3</sup>; George H. Caldas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CEMISE-VIDA - Centro de Reprodução Humana, Aracaju - SE, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal de Sergipe/ RENORBIO - UFS, Aracaju - SE, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Departamento de Ginecologia, São Paulo - SP, Brasil

**OBJETIVO:** Dentre os fatores que afetam a qualidade seminal, a exposição a medicamentos apresenta uma importância particular. É sabido que medicamentos podem ser transportados para o plasma seminal, composto por secreções de várias glândulas genitais acessórias. A solubilidade lipídica e o grau de ionização da droga são fatores importantes neste processo. O objetivo deste trabalho foi analisar a influência do consumo de medicamentos na qualidade seminal. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram incluídos 3289 espermogramas de pacientes com idade média de 33,96 anos, entre 2001 a 2012 em clínica privada em Aracaju-SE. Resultados: Dentre os pacientes estudados 2870 pacientes relataram a não utilização contínua de medicação, enquanto 419 pacientes relataram o uso de drogas como anti-hipertensivos (36,28%), antidepressivos (10,98%), suplementos alimentares (8,11%), finasterida (calvície; 6,2%) e

outros (38,42%). Não houve uma relação significativa entre a concentração espermática e uso contínuo de medicação, porém quando analisados dados de motilidade progressiva (A+B) foi observado que pacientes que fazem uso contínuo de medicação apresentam menor motilidade espermática ( $p < 0,001$ ). Confirmando os dados anteriores, observamos maior porcentagem de pacientes astenozoospermicos entre aqueles que tomam medicação (25,4%), comparado aos que não tomam (21,1%;  $p=0,055$ ). Quando avaliada a qualidade seminal de acordo com tipo de medicamento, observamos que pacientes que tomam antihipertensivos tem motilidade reduzida (45%) comparado com pacientes que não fazem uso contínuo de medicação (50,4%;  $p=0,044$ ).

**CONCLUSÕES:** Anti-hipertensivos foram predominantemente utilizados pelos pacientes do estudo em questão (36,28%) e está relacionado com menor motilidade espermática. A hipertensão arterial representa o sintoma principal da síndrome metabólica, que é conhecida por comprometer a fertilidade masculina causando danos à qualidade seminal, geralmente explicada pela produção excessiva de EROS e defesa antioxidante limitada. Estudos relatam uma baixa qualidade espermática nos indivíduos hipertensos, com uma diferença significativa na motilidade, vitalidade e fragmentação do DNA, o que corrobora com os resultados deste estudo. Entretanto, não se sabe ao certo se a qualidade seminal é prejudicada pela fisiopatologia da hipertensão ou pelos medicamentos utilizados.

Estudos prospectivos avaliando a qualidade seminal de pacientes antes de iniciar o tratamento com anti-hipertensivos e após utilização contínua devem ser realizados a fim de esclarecer tais questionamentos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Medicamentos; Sêmen; Infertilidade Masculina.

### P33 - Flora microbiana vaginal de acordo com o protocolo de bloqueio hipofisário em pacientes submetidas a ciclos de ICSI

Erika Caldas<sup>1,2</sup>; Marco Mesquita Salviano<sup>1</sup>; Monica Almeida<sup>1,2</sup>; Sabrina MR Jacinto-Costa<sup>1</sup>; Tatiana CS Bonetti<sup>1,3</sup>; George H. Caldas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CEMISE-VIDA - Centro de Reprodução Humana, Aracaju - SE, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal de Sergipe/ RENORBIO - UFS, Aracaju - SE, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Departamento de Ginecologia, São Paulo - SP, Brasil

**OBJETIVO:** As infecções genitais podem ser causa importante de infertilidade, pois os microorganismos patogênicos podem se infiltrar para a cavidade uterina. As consequências da vaginose nas taxas de implantação de ciclos de fertilização in vitro são pouco claros e pouco estudados. O objetivo deste estudo foi analisar os microbiológicos da microbiota vaginal no dia da punção folicular, e investigar a possível relação com o protocolo de bloqueio hipofisário e as taxas de gravidez. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram incluídos 70 pacientes com idade 35,5 ± 4,5 anos submetidos à estimulação ovariana e ICSI. O protocolo de estimulação consistiu de bloqueio hipofisário com GnRH agonista ou antagonista; FSH recombinante e Hcg recombinante para a maturação de oócitos final. Foi realizada uma coleta com swab vaginal para exame microbiano, pouco antes da punção folicular, e analisado pelo sistema automatizado (Autoscan 4, Siemens). Um a três embriões de alta qualidade foram transferidos e gravidez clínica foi detectada por ultrasonografia.

**RESULTADOS:** Foi observado crescimento microbiano positivo em 51,4% das amostras vaginais. Entre as culturas positivas, *Escherichia coli* (57,9%) e *Streptococcus sp* (21,0%) foram as mais prevalentes. Os dados sobre a idade dos pacientes (36,2 ± 0,7 x 34,9 ± 0,8;  $p = 0,241$ ), dose administrada FSH (2080 ± 175IU x 1804 ± 115IU;  $p = 0,195$ ), a taxa de fertilização normal (68,9% x 67,1%,  $p = 0,842$ ) e número de embriões transferidos (2,3 ± 0,2 x 2,4 ± 0,2,  $p = 0,574$ ) não variou significativamente entre os pacientes com cultura negativa e positiva.

A prevalência de positividade de culturas vaginais também foi semelhante de acordo com bloqueio hipofisário (GnRH antagonista: 54,6%, GnRH - agonista: 35,7%,  $p = 0,206$ ). A taxa de gravidez foi de 30,0% para pacientes com cultura vaginal positiva e 22,2% para aqueles com cultura negativa ( $p = 0,504$ ). Conclusões: Apesar da alta prevalência de infecção microbiana vaginal (51,4%), esta não é influenciada pelo protocolo de bloqueio hipofisário. Além disso, os resultados sugerem que a infecção microbiana vaginal não afeta o ambiente uterino, pois as taxas de gestação após ciclos de ICSI foram semelhantes em pacientes com análise de swab positivo e negativo.

**PALAVRAS-CHAVE:** flora microbiana vaginal, bloqueio hipofisário, ICSI

### P34 - Comparação entre procololo curto com agonista do gnrh em dias alternadoseprotocololongodeusodiário em pacientes normorrespondedoras em ciclos de fertilização in vitro

Carla Iaconelli<sup>1</sup>, M.D., Rosane Santana Rodrigues<sup>1</sup>, M.D., M.sc., Adriana de Goes Soligo<sup>1</sup>, M.Sc., Amanda Souza Setti<sup>1,2</sup>, B.Sc., Assumpto Iaconelli Jr.<sup>1,2</sup>, M.D., Edson Borges Jr.<sup>1,2</sup>, M.D., PhD.

<sup>1</sup>Fertility - Centro de Fertilização Assistida, São Paulo - SP; <sup>2</sup>Associação Instituto Sapientiae - Centro de Educação e Pesquisa em Reprodução Humana Assistida, São Paulo - SP

**OBJETIVO:** Comparar dois protocolos de bloqueio hipofisário com agonista do GnRH (GnRHa) em pacientes normorrespondedoras submetidas a ciclos de injeção intracitoplasmática de espermatozóides (ICSI).

**MATERIAIS E MÉTODOS:** O estudo incluiu 92 ciclos de estímulo ovariano controlado (EOC) para ICSI realizados em mulheres com até de 35 anos divididas em dois grupos de acordo com o protocolo de bloqueio hipofisário: protocolo curto com uso do GnRHa em dias alternados (Grupo GnRHa-curto, n=26) e protocolo longo com uso diário do GnRHa (Grupo GnRHa-longo, n=66). Para o Grupo GnRHa-curto o bloqueio foi iniciado no 1º dia do ciclo menstrual com administração de acetato de triptorrelina em dias alternados seguido do estímulo com FSH e microdose de hCG. Para o Grupo GnRHa-longo o bloqueio hipofisário foi obtido com acetato de leuprolide seguido do estímulo com FSH. Os dois grupos foram comparados em relação à resposta ovariana, resultados clínicos e custos dos ciclos.

**RESULTADOS:** Os grupos GnRHa-curto e GnRHa-longo não diferiram em relação à idade materna (31,3 ± 2,7 vs 30,7 ± 2,6,  $p=0,355$ ), número de folículos aspirados (28,0 ± 19,4 vs 22,6 ± 11,8,  $p=0,192$ ), oócitos recuperados (16,5 ± 12,5 vs 16,9 ± 9,9,  $p=0,863$ ), oócitos maduros (14,0 ± 11,2 vs 12,7 ± 8,1,  $p=0,609$ ) e taxa de embriões de boa qualidade (57,5% vs 60,9%,  $p=0,536$ ), respectivamente. A dose total de FSH foi menor no Grupo GnRHa-curto (1413 ± 245 vs 2230 ± 454UI,  $p<0,001$ ) e o nível sérico de estradiol mais

alto ( $4462 \pm 2473$  vs  $2480 \pm 1503$  pg/mL,  $p=0,006$ ) quando comparados ao Grupo GnRHa-longo. As taxas de implantação e gestação foram mais altas no Grupo GnRHa-longo (31,5 vs 9,1%,  $p<0,011$  e 40,7 vs 9,1%,  $p < 0,004$ ). Finalmente, o protocolo com GnRHa-curto custou em média R\$4000,00 enquanto o protocolo com GnRHa-longo custou R\$ 6431,00 ( $p<0,001$ ). **CONCLUSÕES:** Os achados do presente estudo sugerem que apesar de ser mais prático e mais barato, o protocolo curto com GnRHa em dias alternados leva a piores resultados clínicos e deve ser utilizado com cautela em paciente submetidas a ciclos de reprodução assistida.

### P35 - Lavagem folicular: Análise das taxas de recuperação oocitária e taxa de gestação

Franciele Farias da Costa<sup>1</sup> – Costa, F.F.<sup>1</sup>; Daniela Scherer da Silva<sup>1</sup> – Silva, D.S.<sup>1</sup>; Carolina Andreoli – Andreoli<sup>1</sup>, C.; Vanessa Genro – Genro, V.<sup>1</sup>; Alberto Stein – Stein, A.<sup>1</sup>; João Sabino Lahorgue da Cunha Filho – Cunha-Filho, J.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Insemine; <sup>2</sup>Insemine e UFRGS (Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

**INTRODUÇÃO:** Durante a estimulação ovariana utilizada nos protocolos de reprodução assistida algumas pacientes não respondem bem a indução dando origem a poucos folículos. A lavagem folicular poderá minimizar as chances de perda do ciclo de tratamento pela ausência de oócito, embora a literatura seja controversa e com poucos casos. **OBJETIVO:** Analisar a taxa de recuperação oocitária e taxa de gravidez de pacientes submetidas a tratamento de fertilização in vitro através da lavagem folicular. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram submetidas à lavagem folicular para recuperação dos oócitos 47 pacientes em tratamento para reprodução assistida que apresentaram menos de 3 folículos durante a indução da ovulação. A lavagem folicular foi realizada através do uso de seringa contendo meio de manipulação, acoplada a agulha de punção guiada por ultra-som. Cada folículo era lavado no mínimo uma vez. Os procedimentos de fertilização in vitro foram realizados segundo protocolo padrão pré-estabelecido pelo laboratório. Após o 3º dia de desenvolvimento os embriões foram transferidos e ao final de 12 dias as pacientes realizaram a dosagem de  $\beta$ hCG. **RESULTADO:** As 47 pacientes analisadas apresentaram média de 36,8 (29-45) anos de idade e as seguintes causas de infertilidade: desconhecida 6,4% (3/47); endometriose 14% (7/47); falência ovariana 6,4% (3/47); múltiplas causas 30% (14/47); SOP 2,21% (1/47); tubária 19,14% (9/47) e masculina 21,27% (10/47). De todas submetidas à lavagem folicular apenas quatro não tiveram oócito recuperado, resultando na taxa de recuperação oocitária de 91,4%. A taxa de fertilização do grupo em questão foi 76% sendo que nove pacientes do total tiveram oócito recuperado, mas não obtiveram desenvolvimento até D3. A média de embrião transferido por paciente foi de 1,3 (1-3) e das 33 pacientes que transferiram embrião em D3, sete pacientes engravidaram sendo 21,2% a taxa de gestação por TE. **CONCLUSÃO:** Observou-se que a lavagem folicular no mínimo uma vez cada folículo tem impacto positivo na taxa de recuperação oocitária e taxa de gravidez sendo uma alternativa nos casos em que se tem uma pobre resposta à indução ovariana a fim de evitar perda total do ciclo de tratamento.

### P36 - Nascimento livre de fibrose cística após diagnóstico genético pré-implantacional (PGD)

Marcela Felix Fortis<sup>1,2</sup>; Marcos Höher<sup>1</sup>; Marcelo Oliveira Ferreira<sup>1</sup>; Caroline Gross Dutra<sup>1</sup>; Gerta Noeli Frantz<sup>2</sup>; Nilo Frantz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz; <sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**INTRODUÇÃO:** A fibrose cística (FC) é uma doença autossômica recessiva resultante de mutações no gene CFTR. A FC causa: bronquiectasia, insuficiência pancreática, infertilidade masculina e disfunções intestinais. Com o uso de técnicas de reprodução assistida indivíduos afetados podem superar o obstáculo em sua fertilidade, entretanto é recomendada a realização do PGD para evitar a transmissão da doença. **DESCRIÇÃO DO CASO:** Casal com infertilidade primária há 5 anos. O marido (34 anos) apresentava azoospermia devido à FC, a mulher (33 anos), portadora de mutação no gene CFTR e com reserva ovariana diminuída (hormônio anti-Mülleriano de 0,68ng/mL). Foram realizados 5 ciclos de estimulação ovariana (antagonista GnRH, HMG e citrato de clomifeno) para a acumulação de oócitos. A captação de espermatozoides foi feita por punção de epidídimo. Os 14 oócitos obtidos nos primeiros 4 ciclos foram desvitrificados e acrescidos de 1 oócito fresco obtido no 5º ciclo. A fertilização com ICSI deu origem a 10 embriões viáveis para o PGD. No terceiro dia foi realizada a biópsia de 1 ou 2 blastômeros para a PCR em busca de mutações no gene CFTR. Dos 10 embriões analisados, 3 eram portadores de mutação no gene CFTR, 4 afetados pela FC e em 3 houve falha de amplificação. Devido à idade da paciente, foram transferidos 2 embriões, ambos sem FC. Houve gestação de feto único do sexo masculino. O parto de um menino saudável foi realizado com 38 semanas. **DISCUSSÃO:** Sem o PGD a probabilidade de o casal produzir embriões afetados pela FC era de 50%. Através das técnicas de reprodução assistida com o diagnóstico genético pré-implantacional, a infertilidade masculina foi superada, foram selecionados embriões livres da fibrose cística e foi gerado bebê sem a doença.

### P37 - Existe diferença entre as taxas de implantação e gestação de embriões cultivados até o estágio de blastocisto por incubadoras convencionais ou de triplo-gás?

Bruna Barros<sup>1</sup>; Mariana Nicolielo<sup>1</sup>; José Roberto Alegretti<sup>1,2</sup>; Marcia Riboldi<sup>1</sup>; Paulo Serafini<sup>1,3</sup>; Eduardo Leme Alves Da Motta<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Huntington – Medicina Reprodutiva São Paulo, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo, Brasil; <sup>3</sup>Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, Brasil

**OBJETIVO:** Avaliar e comparar a eficiência do uso de atmosfera com nível de Oxigênio (O<sub>2</sub>) reduzido (5%) entre os dias 3 a 5 de cultivo embrionário e sua correlação com as taxas de formação de blastocistos, gestação e implantação em pacientes submetidos à Fertilização in vitro (FIV). **MATERIAIS E MÉTODOS:** No período entre janeiro de 2009 e dezembro de 2011 foram avaliados 628 ciclos de FIV com a formação de 5712 embriões. Todos os embriões obtidos foram mantidos

em cultivo em incubadoras tradicionais, sob atmosfera de 20% de O<sub>2</sub>, quando em dia 03, foram divididos em dois grupos: A) incubadora convencional; B) incubadora triplo gás (90%N<sub>2</sub>/5%O<sub>2</sub>/5%CO<sub>2</sub>). Foram considerados embriões em estágio de blastocisto todos aqueles que apresentaram presença de blastocelo com 120h de cultivo. As análises estatísticas foram realizadas com o teste Z, t de Student's e Mann Whitney. Diferenças entre dados com valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo. **RESULTADOS:** Ambos os grupos foram formados por mulheres de idade semelhante (A=34,4±4,0 e B=34,0±5,0 anos;  $p=0,292$ ), contudo foram observadas diferenças significativas no número de ovócitos coletados (A=15,0±7,0 e B=14,0±7,0;  $p=0,039$ ), número de ovócitos em MII (A=12,1±6,0 e B=11,2±6,1;  $p=0,048$ ), número de embriões fertilizados (A=10,1±5,1 e B=9,0±4,1;  $p=0,001$ ) e número de embriões transferidos (A=2,4±0,8 e B=2,3±0,6;  $p=0,038$ ). Os embriões do grupo B apresentaram resultados significantes em relação à formação de blastocistos (B=91% e A=76%;  $p=0,002$ ), taxas de implantação (B=34% e A=28%;  $p=0,048$ ) e de gestação (B=60% e A=49%;  $p=0,011$ ). **CONCLUSÃO:** A transferência de embriões em estágio de blastocisto, embora simule as condições naturais, ainda suscita debates da sua real aplicabilidade, pois é questionável a capacidade laboratorial em mimetizar o ambiente tubário. Nossos resultados demonstraram que oócitos de similar potencial, aferidos pela idade materna, apresentaram, ao final, melhores taxas de formação de blastocisto, implantação e gestação, se cultivados em incubadoras triplo gás em comparação às incubadoras tradicionais, mesmo partindo de um número menor de embriões disponíveis para atingir o 5º dia. Possivelmente, as incubadoras que apresentam o ambiente compartilhado de N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> apresentem melhor habilidade ao desenvolvimento celular.

### P38 - O fator masculino influencia no desenvolvimento embrionário até o estágio de blastocisto e no sucesso em ciclos de ovulação?

Andrea Belo<sup>1</sup>; Thais Serzedello<sup>1</sup>; Érica Semaco<sup>1</sup>; José Roberto Alegretti<sup>1,2</sup>; Paulo Serafini<sup>1,2</sup>; Eduardo Leme Alves Da Motta<sup>1,3</sup>

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

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, Brasil;

<sup>3</sup>Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, São Paulo, Brasil

**OBJETIVO:** Avaliar a relação entre os parâmetros seminais e o desenvolvimento embrionário até o estágio de blastocisto em ciclos de ovulação e taxas de gestação e implantação.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** No período entre janeiro/2010 e dezembro/2011 foram avaliados 72 ciclos de ovulação. Em todos os casos a técnica ICSI foi utilizada para a fertilização dos ovócitos. A transferência embrionária foi realizada no 5º dia de desenvolvimento (estágio de blastocisto). Os grupos foram divididos de acordo com a qualidade seminal segundo a OMS-2010 em: Grupo A: Normozoospermicos (n=19); Grupo B: Teratozoospermicos (n=41); e Grupo C: Oligoteratozoospermicos (n=12). As análises estatísticas foram realizadas com os testes qui-quadrado, ANOVA e comparação múltipla de Tukey ( $p < 0,05$ ). **RESULTADOS:** Houve diferença estatística entre todos os grupos em relação à concentração de espermatozoides/ml (A=71,1±37,5 milhões, B=47,6±28 milhões, C= 5,7±4,5 milhões;  $p < 0,05$ ) e entre a morfologia

estrita (Kruger) (A=5%, B= 2%, C=1,4%\*;  $p < 0,05$ ). Não houve diferença estatística entre os grupos em relação à idade masculina (A=44,4±6, B=42,4±6, C=41,8±8;  $p > 0,05$ ); número de ovócitos recebidos (A=10,16±3,8, B=10,73±3,6, C=10,83±4;  $p > 0,05$ ); taxa de fertilização (A=88%, B=83%, C=77%;  $p > 0,05$ ); número de embriões em D2 (A=8,68±3,4, B=8,63±3,3, C=7,75±2,9;  $p > 0,05$ ); número de embriões de boa qualidade morfológica em D3\*\* (A=5,2±2,4, B=5,0±2,9, C=4,8±1,6;  $p > 0,05$ ); número de embriões em estágio de blastocisto (A=5,1±2,4, B=5,1±2,4, C=4,3±2,1;  $p > 0,05$ ); número de embriões transferidos (A=2,4±0,6, B=2,3±0,6, C=2,50±0,5;  $p > 0,05$ ); taxa de gestação química (A= 84%, B=80%, C=100%;  $p > 0,05$ ); e taxa de implantação (A=48%, B=55%, C=79%;  $p > 0,05$ ).

\*\* Não foi possível analisar a morfologia estrita de cinco pacientes do grupo C devido à baixa concentração de espermatozoides.

\*\* Foram considerados embriões de boa qualidade morfológica todos aqueles que em D3 apresentaram entre 6 e 10 células com até 10% de fragmentação celular (grau morfológico I).

**CONCLUSÃO:** Nosso estudo demonstrou que o desenvolvimento embrionário não é influenciado pela qualidade seminal desde as primeiras divisões celulares até o estágio de blastocisto, mesmo em paciente com alterações severas nos parâmetros seminais. A taxa de gestação química e a taxa de implantação também não são influenciadas por esses parâmetros. Com o advento das técnicas os fatores masculinos são facilmente transpostos corroborando para o sucesso do tratamento.

### P39 - Qual o melhor dia de cultivo embrionário para realizar a biópsia, em diferentes idades, no diagnóstico pré-implantacional por cgh array

José Roberto Alegretti<sup>1,2</sup>, Pérciles Hassun<sup>3</sup>, Juliana Cuzzi<sup>3</sup>, Maria Angélica Peres<sup>1</sup>, Paulo Serafini<sup>1,4</sup>, Eduardo Motta<sup>1,2</sup>.

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

<sup>2</sup>Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP, São Paulo, Brasil;

<sup>3</sup>Genesis Genetics Brasil, São Paulo, Brasil;

<sup>4</sup>Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, Brasil.

**OBJETIVO:** Avaliar as taxas de normalidade cromossômica, em diferentes faixas etárias, de mulheres submetidas a tratamentos de Fertilização in vitro (FIV) por falhas prévias em FIV e/ou abortos recorrentes, através do Diagnóstico Genético pré-Implantacional, pela técnica de Hibridização Genômica Comparativa por array (aCGH), em relação ao dia da biópsia embrionária: em dia 3 (D3) - biópsia de blastômero ou em dia 5 (D5) - biópsia de trofoderma. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Entre novembro/2010 a abril/2012, foram avaliados 332 ciclos, sendo 69 com biópsia em D3 e 263 em D5, totalizando 1254 embriões (D3=273 e D5=981). Os casos foram posteriormente subdivididos em 03 grupos etários: A) ≤35 anos, B) 36-39 anos, C) ≥40 anos. Taxas de euploidia e cancelamento da transferência embrionária (TE) foram analisados pelos testes qui-quadrado, t-student e Man-Withney ( $p < 0,05$ ).

**RESULTADOS:** O mesmo número médio de embriões foi biopsiado entre todas as faixas etárias (D3=3,96±1,8 e D5=3,73±1,6;  $p=0,316$ ). Observou-se diferença estatística, tanto na taxa de euploidia, quanto de cancelamento da TE, entre os grupos A e B, conforme o dia da biopsia embrionária: grupo A (euploidia D3=30% e D5=45%;  $p=0,017$  e cancelamento

D3=37% e D5=13%;  $p=0,004$ ) e grupo B (euploidia D3=16% e D5=31%;  $p=0,002$  e cancelamento D3=65% e D5=27%;  $p=0,001$ ). Contudo, não foram observadas diferenças significantes nas taxas de euploidia e cancelamento da TE, conforme o dia da biópsia embrionária, para o grupo C (euploidia D3=8% e D5=14%;  $p=0,280$  e cancelamento D3=82% e D5=57%;  $p=0,353$ ). **CONCLUSÃO:** Nosso estudo demonstra que a biópsia embrionária, na fase de blastocisto, pela técnica do aCGH, identifica maiores taxas de normalidade cromossômica e produz menores taxas de cancelamento em mulheres até 39 anos, sugerindo que o cultivo estendido laboratorial auxilie nesta determinação. Contudo, nas mulheres com idade superior a 40 anos, este ganho não é tão perceptível, comprovando que este grupo etário se caracteriza por alto índice de aneuploidias. Deste modo, a biópsia embrionária em D5 associada à técnica de aCGH deve ser a opção de escolha, por manipular embriões naturalmente selecionados e identificando aqueles mais aptos na implantação.

#### P40 - Ação de diferentes isoformas do fsh na eletrofisiologia das células do cumulus oóphorus humano

Laura Silveira Ayres, Nilo Frantz, Norma Pagnoncelli Oliveira, Ana Paula Jacobus, Adriana Bos-Mikich, Eloísa da Silveira Loss

Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz

**OBJETIVO:** As células do cumulus têm um papel fundamental na maturação e capacidade de desenvolvimento do oócito pós-fertilização. Em ciclos de reprodução assistida clássicos emprega-se o FSH exógeno para estimulação ovariana. Esta gonadotrofina é apresentada em duas isoformas, uma mais ácida e outra menos ácida. Esta diferença pode potencialmente exercer um efeito diferencial no crescimento folicular e maturação oocitária afetando as taxas de sucesso nos tratamentos de infertilidade. Tratando-se de um estudo inédito, nosso objetivo inicial foi padronizar as condições de trabalho para observar a ação das diferentes isoformas de FSH comerciais no potencial de membrana das células do cumulus, comparativamente à ação de um FSH padrão do laboratório e menos purificado ovino. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram utilizadas células do cumulus de 12 pacientes. Células provenientes de diferentes pacientes tiveram registros individuais. O potencial de membrana foi registrado com microcapilares acoplados a um eletrometro. FSH ovino foi aplicado topicamente após estabilização do potencial em repouso. Os resultados foram dados como média  $\pm$  SEM. Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para Pesquisas em Humanos da UFRGS (processo número 20173). **RESULTADOS:** Os experimentos realizados até o momento permitiram que padronizássemos o meio de perfusão Krebs Ringer bicarbonato (37°C, pH 7,4 com Hepes) e o tempo de cultura das células pré-registro em 48 horas. A resistência dos eletrodos foi padronizada entre 15 e 25 M $\Omega$ . Registramos potencial de membrana em repouso de 10 células do cumulus ooforus humano, obtendo uma média  $-34,02$  mV  $\pm$  6.46 e erro padrão da média  $\pm$  2.04. A resistência média ao fluxo de íons através da membrana foi de  $16,5$  m $\Omega$   $\pm$  4.03 e SEM  $\pm$  1.8. Além disso, os experimentos com FSH ovino em

células do cumulus de duas pacientes demonstraram uma despolarização lenta seguida de um aumento na resistência da membrana. **CONCLUSÕES:** Os dados preliminares demonstram a adequação da metodologia de eletrofisiologia nas células do cumulus e estes resultados preliminares permitem fazermos a comparação das isoformas comerciais com o padrão de FSH ovino.

#### P41 - Estudo comparativo da liberação in vitro de progesterona micronizada veiculada em cápsulas de gelatina mole e em óvulos manipulados, usados para suporte da fase lútea no tratamento de infertilidade

Marta Curado Carvalho Franco Finotti<sup>1</sup>, Délio Marques Conde<sup>2</sup>, Mariana de Oliveira Berreta<sup>3</sup>, Eliana Martins Lima<sup>3</sup>, Rodopiano de Souza Florêncio<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Serviço de Reprodução Humana da Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Goiás; <sup>2</sup>Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Goiás; <sup>3</sup>Laboratório de Tecnologia Farmacêutica e Sistemas de Liberação de Fármacos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás

**OBJETIVOS:** Avaliar o perfil de dissolução da progesterona micronizada nas formas farmacêuticas de cápsulas de gelatina mole e de óvulos manipulados, para suporte de fase lútea no tratamento de infertilidade. Métodos: Realizou-se estudo laboratorial, avaliando-se a progesterona micronizada veiculada sob a forma de cápsulas de gelatina mole, provenientes de dois laboratórios farmacêuticos diferentes (produtos A e B) e sob a forma veiculada em óvulos, provenientes de três farmácias magistrais. A investigação foi realizada por meio de ensaios de liberação in vitro. Para as formas farmacêuticas de cápsulas de gelatina mole foram investigados o perfil de dissolução, a cinética e a eficiência de dissolução. As características dos produtos com a mesma forma farmacêutica foram comparadas. Foram aplicados a ANOVA e os testes de Tukey e t de Student, utilizando-se o programa SPSS. **RESULTADOS:** O perfil de dissolução da progesterona micronizada sob a forma de cápsulas de gelatina mole dos três lotes dos produtos avaliados (A e B), provenientes de diferentes laboratórios, demonstrou dissolução de 80% do fármaco até a quarta hora. O perfil de dissolução dos óvulos de farmácias magistrais mostrou-se diferente entre os lotes analisados e entre as farmácias avaliadas. Nos óvulos, a média das concentrações máximas de progesterona micronizada não ultrapassou 80% da dose declarada no rótulo. Houve diferenças estatisticamente significativas com relação à média das concentrações de progesterona entre lotes da mesma farmácia e entre as farmácias pesquisadas. Conclusões: O perfil de dissolução da progesterona micronizada sob a forma de cápsulas de gelatina mole estava dentro das especificações definidas na validação do método, e foi semelhante para os dois produtos avaliados. Os óvulos das farmácias magistrais não atenderam os critérios estabelecidos pelas agências reguladoras e compêndios oficiais quanto aos requisitos de qualidade para medicamentos. Nesse contexto, recomenda-se que os óvulos não façam parte do arsenal terapêutico para suporte da

fase lútea, uma vez que os mesmos não demonstraram uniformidade nas formulações analisadas e que a média da concentração máxima da progesterona micronizada foi abaixo do esperado. Dessa forma, não é possível estabelecer intercambialidade dos produtos manipulados testados com os produtos de referência.

## P42 - Perfil clínico epidemiológico de casais inférteis considerando história de vida, exposição a fatores de risco para a saúde reprodutiva e parâmetros seminais

Whitaker Jean Jaques e Silva, Sirlene Lucena de Moura, Tonia Costa, Ricardo Vasconcelos Bruno, Maria do Carmo Borges de Souza

Instituto de Ginecologia- UFRJ

O estudo objetiva estabelecer o perfil clínico-epidemiológico do casal infértil por meio da análise de questionário orientado e de duas amostras de sêmen (OMS 1999,2010). Estudo exploratório longitudinal. No total, 110 casais consentiram em participar, 17 sem resultado de espermograma. Perfil dos casais: 75% das mulheres entre 26 a 35 anos e 100% dos homens entre 21 e 40 anos; 62% possuem renda mensal total familiar até R\$ 1500,00, 35% entre R\$ 1501,00 e R\$3500,00, 1% entre 3.500 e 5.500 e 2% superior a 5.500. 30% das mulheres e 43% dos homens têm até nove anos de estudo, 58% delas ingressaram no Ensino Médio e 30% deles o concluíram; 9 mulheres (9%) e 10 homens (9%) iniciaram o Ensino Superior. Dentre as mulheres, 9,18% trabalham em indústrias de transformação, 36,12% serviços domésticos e 30,48% comércio; 18% dos homens na construção, 21,3% comércio, 12,24% transporte e 16,32% em atividades administrativas e serviços complementares. Água da torneira foi a principal fonte de consumo: 87% das mulheres, 93% dos homens: não tratada para 15,45% delas e 28,18% deles. Quanto à adicção: 11 mulheres a tabaco, 30 álcool e 7 drogas ilícitas (maconha e cocaína); 50 homens a álcool, 14 tabaco e 22 drogas ilícitas (maconha, cocaína, crack e outras); 15 mulheres (13,6%) e 20 homens (19,6%) ex-tabagistas. Exposição a fatores de risco: 14,3% a cloro, 33,3% produtos de limpeza, 23,8% produtos químicos, óleos e solventes, 9,5% tinta (homens) e 38,9% a cloro, 38,9% produtos de limpeza (mulheres). **HISTÓRIA REPRODUTIVA:** fator ovariano (56,5%), infecção (75,3%), obstrução tubária (32,8%) e 13,8% de alterações na forma/motilidade dos espermatozoides, 12,9% varicocele, 20,7% doenças sexualmente transmissíveis e 14,9% baixa concentração de espermatozoides. A comparação considerando os parâmetros de 1999 e 2010, em homens com dois resultados de espermogramas, revelou maiores diferenças em relação ao volume (11,31%), motilidade progressivos (16,98%) e morfologia (22,64%). A adoção dos novos parâmetros pode desconsiderar alterações importantes na avaliação da saúde reprodutiva masculina, que, acrescida da recusa em realizar o espermograma (estoicismo), dificulta o diagnóstico e estabelecimento de condutas, ampliando o tempo de tratamento, altamente relevante na rede pública. **PALAVRAS-CHAVE:** infertilidade masculina, fatores ambientais, exposição ocupacional.

## P43 - Prevalência da chlamydia trachomatis pela reação em cadeia da polimerase (pcr) em mulheres inférteis

Fabiana Carmo Approbato, Mario Silva Approbato, Rodopiano Florencio, Monica Canedo Silva Maia, Tatiana Moreira da Silva, Jalsi Tacon Arruda

Laboratório de Reprodução Humana - Hospital das Clínicas / Depto de Ginecologia e Obstetria da Universidade Federal de Goiás

**OBJETIVO:** Avaliar a prevalência de Chlamydia trachomatis por PCR e ensaio imunoenzimático ou imunofluorescência indireta em pacientes com esterilidade feminina. **MATERIAL E MÉTODOS:** Desenho: Estudo de prevalência. Teste diagnóstico. Pacientes: Foram estudadas 120 pacientes atendidas entre 2011 a 2012 com idade entre 20 e 48 anos. Principais resultados medidos: Faixa etária, tempo de exposição à gravidez, prevalência da clamídia, risco de Odds para obstrução tubária, gravidez ectópica e outras DSTs. Calculou-se o histogramas de frequência para idade e tempo de exposição. Foi utilizada a estatística de Qui quadrado para cálculo do risco de Odds de obstrução tubária entre as pacientes soro positivas; o risco de Odds de gravidez ectópica em pacientes soro positivas e o risco de Odds das pacientes soropositivas ter outras DSTs. O nível de significância escolhido foi 5 % (p = 0,05). **RESULTADOS:** A média de idade das pacientes foi 33,2 anos. A média de tempo de exposição à gravidez foi de 48,6 meses. A prevalência de infecção detectada pelo exame de PCR foi menor do que 1 % (0,83 %). A prevalência da infecção pelo exame de PCR entre as pacientes soro positivas foi 2,4 % (uma paciente). Não encontramos PCR positivo entre as soro negativas. O risco de Odds entre as pacientes soro positivas para obstrução tubária foi 2,5. Valor estatisticamente significativo. O risco de Odds entre as pacientes soro positivas para apresentar gravidez ectópica foi 1,31. Não significativo. O risco de Odds entre as pacientes soro positivas foi de 4,1 para apresentar outras DSTs. Valor estatisticamente significativo. O risco de Odds entre as pacientes com obstrução tubária para apresentar gravidez ectópica foi de 19,1. Valor significativo (p = 0,001). Encontramos um NNT de 42 neste trabalho. **CONCLUSÕES:** A prevalência da clamídia detectada por PCR foi menor do que 1 %. Encontramos associação entre a sorologia positiva para Chlamydia trachomatis e obstrução tubária, gravidez ectópica e outras DSTs. A média de idade das pacientes foi 33,2 anos, acima da faixa de prevalência nas adolescentes, quando a presença de clamídia é elevada.

## P44 - Persistência recorrente da vesícula germinativa em oócitos, com ausência de maturação in vitro, em ciclos subsequentes de fiv, em paciente jovem: Relato de caso

Nícolas Thiago Nunes Cayres, Hitomi Miura Nakagava, Íris de Oliveira Cabral, Antônio César Paes Barbosa, Adelino Amaral Silva, Bruno Ramalho de Carvalho

Genesis- Centro de Assistência em Reprodução Humana, Brasília-DF

**INTRODUÇÃO:** A identificação da vesícula germinativa em oócitos obtidos após estimulação para fertilização

in vitro (FIV) sugere interrupção da maturação na fase de prófase I da meiose, identificável pela observação de nucléolo compacto típico. Isso ocorre a despeito da administração do hCG recombinante (hCGr), que, ao simular ação do LH, deveria conduzir o oócito à fase de metáfase II. Relatamos um caso de reincidência de imaturidade total de oócitos após estimulação controlada para FIV, com falha total de maturação in vitro (MIV), em paciente jovem. **DESCRIÇÃO DO CASO:** 32 anos, infertilidade primária há 5 anos, endometriose grau IV, de acordo com a American Society for Reproductive Medicine. Procurou o serviço em uso de goserelina por 18 meses. Parceiro com 57 anos, saudável, vasectomia há 20 anos, dois filhos. Aproveitou-se o análogo do GnRH em uso para protocolo ultralongo, em primeiro ciclo de indução com FSH recombinante (FSHr), 225 UI/dia. Ciclo cancelado por resposta monofolicular. Instituiu-se novo ciclo em protocolo longo com leuprolida, 0,1 mL/dia, reduzido para 0,05 mL/dia ao início de FSHr, 200 UI/dia, associado a LH recombinante (LHr), 75 UI/dia. Maturidade oocitária induzida com hCGr, 200 mcg. Recuperados 6 óocitos em fase de vesícula germinativa (VG), com ausência de maturação após 24 horas de cultivo em meio G-IVF™ Plus. Nova tentativa em protocolo longo com leuprolida, 0,05 mL/dia, com FSHr, 225 UI/dia, associado a LHr, 75 UI/dia. Maturidade oocitária novamente induzida com hCGr, 200 mcg. Recuperados 3 óocitos em fase de VG, novamente sem MIV após 24 horas. **COMENTÁRIOS:** Relatamos caso de falha total de maturação de oócitos in vivo após estimulação ovariana em protocolo padrão para FIV, de rara incidência, com possível associação à endometriose. Existem, portanto, lacunas referentes ao seu entendimento. O cancelamento de ciclos de FIV devido a persistência da VG constitui frustração para o casal infértil e, ainda hoje, desafio para serviços de medicina reprodutiva. Embora a MIV tenha mostrado resultados promissores, com taxas de aneuploidia semelhantes às observadas para oócitos maturados in vivo, ainda são baixas as taxas de gestação e nascimentos, e permanece indefinido protocolo ideal para sua realização.

## P45- Preparo endometrial para transferência de embriões vitrificados: Ciclo natural modificado é uma boa opção?

Lopes V.M.<sup>1</sup>; Brasileiro J.P. B.<sup>1</sup>; Pereira T.R.<sup>1</sup>; Café T.C.<sup>1</sup>; Melo F.A.S.<sup>1</sup>; Lopes J.R. C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto VERHUM- Brasília; <sup>2</sup>Cenafert -Salvador

**OBJETIVO:** Comparou-se a eficácia do preparo endometrial para transferência de blastocistos desvitrificados através de duas técnicas: ciclo natural modificado ou bloqueio hipofisário com agonista de GnRH. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Coletaram-se os dados retrospectivamente. Avaliaram-se as transferências realizadas entre 01/01/2011 e 30/03/2012, após desvitrificação de blastocistos. O protocolo utilizado foi escolhido pelo médico assistente, baseado nos custos e na conveniência da paciente. O protocolo do grupo A (ciclo natural modificado) consistiu em: ultrassonografia basal ( $\pm$  D-3 do ciclo menstrual) e seriada a partir do D-10/D11 até o folículo atingir diâmetro médio de 18mm, quando era aplicado 250 $\mu$ g de hCG recombinante. Após dois dias administrou-se 400mg/dia de progesterona via vaginal e 4mg/dia de estradiol oral. Procedeu-se a desvitrificação e

transferência dos blastocistos no sexto ou sétimo dia após a aplicação do hCG. No grupo B, utilizou-se a-GnRH (nafarelina nasal) na segunda fase do ciclo interrompendo no dia de início da progesterona. No preparo endometrial usou-se valerato de estradiol, via oral, em doses crescentes até 6-8 mg/dia. Transferiram-se os blastocistos no quinto dia de uso de progesterona micronizada, via vaginal, na dose de 600mg/dia. As variáveis analisadas foram: Média de idade e embriões transferidos; taxa de abortamento, implantação e gestação (BCF+ na ecografia de 12 semanas); Foram comparadas as taxas de gestação e implantação de acordo com a faixa etária (20-29; 30-34; 35-39;  $\geq$ 40) e tipo de preparo. Na análise estatística utilizou-se o nível de significância  $p < 0,05$ . Resultados: Foram avaliados 40 ciclos no grupo A e 49 no grupo B. A média de idade e de embriões transferidos foram: 34,5 vs 35,7 ( $p=0,14$ ) e 2,1 vs 2,3 ( $p=0,03$ ) para o grupo A e B respectivamente. As taxas de abortamento, implantação e gestação foram respectivamente para o grupo A e B: 2/17(11,7%) vs 5/20(25%) ( $p=0,39$ ); 17/84(20,2%) vs 16/114(14,0%) ( $p=0,24$ ) e 14/40(35%) vs 14/49(28,5%) ( $p=0,42$ ). Em relação às faixas etárias apenas houve diferença estatística para a taxa de implantação do grupo de 35-39 anos, apresentando melhores resultados com ciclo natural 8/28(28,5%) vs 7/50(14%) ( $p=0,03$ ). Conclusão: O preparo endometrial, para transferência de embriões criopreservados, através do ciclo natural modificado traz resultados semelhantes ou melhores ao preparo com bloqueio hipofisário.

## P46 - Taxas de gestação e perfil das pacientes submetidas à técnica de reprodução assistida de baixa complexidade em hospital público

Priscila Scalco, Letícia Filippon, Luciane Baptista, Simone Mattiello, Andrea Nácul

Hospital Femina

**OBJETIVO:** Avaliar a taxa de gestações, assim como o perfil de pacientes inférteis submetidas à inseminação intra-uterina (IIU) em um hospital público de Porto Alegre. **MÉTODO:** Foram incluídas no estudo pacientes que realizaram IIU como tratamento de infertilidade no período de 2009 a abril 2012. Todas foram submetidas à ecografia basal entre o 1º e o 3º dia do ciclo e orientadas sobre o esquema de indução da ovulação, sendo utilizado, preferencialmente, o citrato de clomifeno e hMG. Após 6 dias de indução, as pacientes retornaram para realização de nova ecografia e foram monitorizadas até que seus folículos dominantes atingissem o diâmetro médio de 18mm. Neste momento, as pacientes foram orientadas a realizar a aplicação do hCG e 36 horas após foram submetidas a IIU com sêmen preparado pelo método Percoll. **RESULTADOS:** Foram incluídas, no estudo, 178 pacientes com indicação de IIU para o tratamento da infertilidade. Destas, 49 tiveram procedimento cancelado devido a não resposta a indução, múltiplos folículos, dentre outros fatores. A média de idade das pacientes foi de  $34 \pm 5$  anos. A mediana do tempo de infertilidade foi de 5 (3 - 8) anos. Cento e trinta e quatro pacientes (75,3%) apresentavam infertilidade primária e 44 (24,7%) infertilidade secundária. Endometriose foi a causa mais prevalente, sendo encontrada em 21,3% das pacientes, seguida pelo fator masculino (18%) e infertilidade sem causa aparente (12,9%). A associação de fator masculino e endometriose foram encontradas em 6,7%. Em relação à concentração de espermatozoides

no Percoll, 14% apresentaram quantidade menor de 5 milhões, 20,2% entre 5 e 20 milhões e 65,9% maior que 20 milhões. Quanto aos dias de indução, a mediana foi de 12 dias, variando de 10 a 14 dias. A mediana dos folículos dominantes foi de 1. A dosagem de hMG utilizada teve uma mediana de 300UI (225 - 375 UI). A taxa de gestação das pacientes submetidas à IUI foi de 17% (22 pacientes), destas, 18 (81,8%) apresentaram gestação única, duas (9,1%) múltipla e duas (9,1%) abortaram. **CONCLUSÃO:** Os resultados encontrados, em relação à taxa de gestações em pacientes submetidas à técnica de reprodução assistida de baixa complexidade, são semelhantes aos descritos na literatura. A IUI permanece sendo uma opção entre os tratamentos de reprodução assistida.

## P47 - Criopreservação de gametas uma alternativa nas clínicas de reprodução humana

Kvitko D<sup>1</sup>; Okada L<sup>1</sup>; Reig V<sup>1</sup>; Azambuja R<sup>1</sup>; Badalotti M<sup>1,2</sup>; Petracco A<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Fertilitat - Centro de Medicina Reprodutiva. Porto Alegre, RS, Brasil; <sup>2</sup>Departamento de Ginecologia, Faculdade de Medicina, PUCRS Porto Alegre, RS, Brasil

**OBJETIVO:** Determinar as taxas de sobrevivência e gravidez após a vitrificação dos oócitos, através de um estudo retrospectivo observacional. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram utilizados neste estudo 18 ciclos de oócitos congelados no ano de 2012 (Janeiro-Maio). A estimulação hormonal foi realizada com gonadotrofina, após dessensibilização hipofisária com acetato de leuprolide. A captação oocitária ocorreu por ecografia pélvica transvaginal 34 ± 2 horas após a administração de gonadotrofina coriônica humana, sendo as amostras seminais preparadas usando gradiente de concentração descontínuo. Os oócitos então foram congelados segundo o protocolo de Kuwayama et al., 1998, e descongelados dois dias antes da transferência utilizando este mesmo protocolo. Duas horas após o descongelamento foi realizada ICSI nos oócitos sobreviventes, e após este procedimento, os embriões foram mantidos em estufa a 5% de CO<sub>2</sub>, a 37°C até a data da transferência. Para a transferência, o endométrio foi preparado 3 dias antes, utilizando-se 90mg/dia de progesterona sob forma de gel, e também Estradiol via oral com uma dose inicial de 2mg/dia, a partir do terceiro dia do ciclo menstrual. A dose máxima usada foi 6mg/dia, quando o endométrio atingia uma espessura de 8 mm no controle ecográfico. As taxas de sobrevivência, fertilização e gestação foram comparadas com os dados disponíveis na literatura. **RESULTADOS:** A idade média das pacientes que realizaram o descongelamento de oócitos foi de 33,6 ± 4,9. Foi descongelado um total de 148 oócitos, dos quais 124 sobreviveram (83,8%), 76 (61,3%) fertilizaram de forma normal e 38 (50%) embriões foram transferidos. A taxa de gravidez geral foi de 50% (9/18), sendo que 6 (33,3%) pacientes apresentaram gravidez clínica. **CONCLUSÃO:** Os resultados demonstram que a criopreservação de oócitos é um método eficiente, podendo ser uma opção segura de escolha nas clínicas de reprodução humana.

## P48 - Diagnóstico genético pré-implantacional em ciclos de ovodação: utilização de cgh-array e biópsia de blastocisto

José Roberto Alegretti<sup>1,2</sup>; Marcia Riboldi<sup>1</sup>; Paula Fettback<sup>1,3</sup>; Renata Miranda<sup>1</sup>; Paulo Serafini<sup>1,3</sup> e Eduardo Leme Alves da Motta<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Huntington Medicina Reprodutiva, São Paulo, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal de São Paulo - UNIPESP, São Paulo, Brasil; <sup>3</sup>Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, Brasil

**OBJETIVO:** Analisar os resultados do diagnóstico genético pré-implantacional através da técnica de hibridação genômica comparativa por array (CGH-array) em blastocistos de pacientes submetidas a ciclos de Fertilização in vitro com ovócitos doados (OD). **MATERIAIS E MÉTODOS:** Entre Janeiro/2011 a Abril/2012 foram avaliados 65 ciclos de OD divididos em 2 grupos: A) Ciclos OD com transferência em dia 5 (n=48); B) Ciclos OD com prévia análise por CGH-array em dia 5 e transferência em dia 6 (n=17). Todos os embriões foram cultivados em meio seqüencial, sendo transferidos dia 03 para incubadoras sob atmosfera de 90%N<sub>2</sub>/5%O<sub>2</sub>/5%CO<sub>2</sub>, até o momento da transferência embrionária, além disso, no grupo B, os embriões foram submetidos a hatching em dia 03. O preparo endometrial das receptoras consistiu no uso de valerato de estradiol 4mg/dia e ao atingir a espessura ≥ 8 mm, suplementação com progesterona micronizada 800mg/dia. Estatística foi realizada pelo teste t Student (p < 0,05). **RESULTADOS:** A média de blastocistos formados no grupo A foi de 6,3±2,6 e no B 5,8±2,4 (p=0,48). No grupo B, 88 embriões provenientes de ciclos OD foram analisados por CGH-array, determinando 5,2±2,5 embriões biopsiados por paciente, resultando um total de 53% de embriões anormais. A média de embriões transferidos no grupo A foi de 2,3±0,6 e no B de 2±0,9 (p<0,126), resultando em uma taxa de gestação de 83% e 82% respectivamente. A taxa de implantação entre os grupos foi de 55% no grupo A e 69% grupo B (p=0,233). Contudo, observamos 13% de gestação bioquímica no grupo A e 0% no B, com 8,5% de abortamento no grupo A e 0% no B, perfazendo uma perda gestacional cumulativa (gestação bioquímica + gestação clínica) de 20% no grupo A e 0% no grupo B. **CONCLUSÃO:** Os resultados obtidos no estudo, não evidenciaram diferenças significativas entre as taxas de gestação e implantação entre os grupos. Contudo, observou-se ausência de perdas gestacionais cumulativas no grupo de pacientes submetidas à análise por CGH-array. Deste modo, a biópsia de blastocisto associada à completa análise cromossômica mostrou ser ferramenta válida mesmo quando utilizadas em ciclos de ovodação por minimizar as perdas gestacionais iniciais, e assim, aumentar a eficiência do procedimento.

## P49 - Gestação clínica em reprodução assistida com doação de óvulos

Michelle Silva Borges, Isa Alves Rocha, Genevieve Marina Coelho

IVI Salvador

**OBJETIVO:** Avaliar taxa de gestação clínica em mulheres submetidas a tratamento de Reprodução Assistida como receptoras de óvulos doados. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram avaliadas as taxas de gestação clínica (número de pacientes com saco gestacional intraútero/número de transferências embrionárias realizadas) em todos os ciclos de Reprodução Assistida que utilizaram o programa de doação de óvulos em uma clínica de infertilidade em Salvador-Bahia no período de Novembro de 2010 a

Março de 2012. Os ciclos foram realizados em receptoras hígdas, com média de idade de 44 anos  $\pm$  6 anos, sem anomalias uterinas diagnosticadas em ultrassonografia transvaginal e histeroscopia. Foram realizadas 24 transferências embrionárias a fresco e 22 transferências de embriões provenientes de técnica de descongelamento. As doadoras tinham idade até 35 anos, sem patologia clínica relevante e com cariótipo normal. Todas as pacientes apresentaram consentimento livre e esclarecido para a realização dos tratamentos. O número máximo de embriões transferidos em cada receptora foi no máximo dois e as transferências ocorreram em Dia 3-5/6 de desenvolvimento embrionário. **RESULTADOS:** 46 receptoras foram submetidas a transferências de embriões provenientes de óvulos doados obtendo uma taxa global de gestação clínica de 60,1%. Destas, 66% de gestações clínicas foram de embriões frescos e 54,5% de embriões descongelados. **CONCLUSÃO:** O programa de doação de óvulos permanece como um tratamento de Reprodução Assistida que apresenta taxas de sucesso bastante satisfatórias. Por motivos diversos como Menopausa, Falência Ovariana Prematura, ausência cirúrgica de ovários ou insuficiência ovariana pós quimioterapia, a doação de óvulos é capaz de promover gestação em casais com possibilidades prévias bastante remotas de obtê-la. Tanto a técnica de utilização de embriões frescos quanto a transferência de embriões criopreservados mostraram-se bastante eficazes, confirmando, desta maneira, que a qualidade ovocitária e embrionária são os principais fatores responsáveis pela implantação endometrial e, por conseguinte, maior taxa de gestação clínica.

## P50 - Comparação entre duas formas de realização do gradiente descontínuo de densidade utilizado para o processamento de amostras seminais de pacientes em investigação de infertilidade

Mayara Araujo Baptista Silva, Caio Parente Barbosa, Ângela Nimwegen

Setor de Reprodução Humana da Faculdade de Medicina do ABC. Instituto Ideia Fértil

**INTRODUÇÃO:** O gradiente descontínuo de densidade é a técnica mais freqüentemente utilizada para processamento seminal em associação com o espermograma. Nesta técnica, os espermatozoides de melhor qualidade ficam depositados no fundo do tubo cônico formando um precipitado. Existem dúvidas se a forma de se acessar o precipitado, ou seja, remoção do mesmo ou do sobrenadante, pode influenciar os parâmetros seminais resultantes do processamento. **OBJETIVO:** Avaliar se a forma de acessar o precipitado de espermatozoides resultante do gradiente descontínuo de densidade influencia os parâmetros seminais pós-processamento. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram selecionados 432 pacientes, no período de abril a dezembro de 2011. O critério de inclusão foi análise seminal inicial dentro dos padrões de normalidade segundo os parâmetros estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) de 2010. Após a análise seminal inicial, cada amostra foi dividida em duas (grupo I e grupo II) e colocadas em dois tubos diferentes sobre as colunas com os diferentes gradientes de densidade. Depois da centrifugação, no grupo I foi retirado o pellet e ressuspenso em outro tubo, e no grupo II foi retirado o sobrenadante e ressuspenso no mesmo tubo.

Foram avaliados os seguintes parâmetros: concentração/mL, motilidade e morfologia. Comparação entre os grupos foi realizada com software SPSS versão 15 utilizando o teste T student e o chi-quadrado. Foi considerada diferença significativa quando  $p < 0,05$ . **RESULTADOS:** Comparação entre os dois grupos mostrou diferenças significativas ( $p < 0,001$ ) em todos os parâmetros avaliados. A concentração/mL foi menor no grupo I do que no grupo II, 21,6 milhões/mL e 24,7 milhões/mL, respectivamente. A motilidade foi menor no grupo II do que no grupo I, 84,7% e 91,6%, respectivamente. Enquanto que a morfologia foi melhor no grupo I do que no grupo II, 7,7% e 7%, respectivamente. **CONCLUSÃO:** Os parâmetros seminais pós-processamento obtidos pela técnica do gradiente descontínuo de densidade variam significativamente de acordo com a forma de acesso do precipitado de espermatozói-de formado durante a realização do procedimento. **PALAVRAS-CHAVE:** análise seminal, centrifugação com gradiente de concentração, espermatozoides, motilidade espermática, morfologia espermática.

## P51 - Acurácia metodológica e resultados clínicos obtidos em ciclos de pgs: Análise por cgh-array de 2745 blastocistos

Cuzzi, JF<sup>1</sup>; Vulcani-Freitas, TM<sup>1</sup>; Bertelli, T<sup>1</sup>; Motta, PCR<sup>1</sup>; Hassun, PA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Genesis Genetics Brasil, São Paulo, SP, Brasil

**OBJETIVOS:** Hibridação Genômica Comparativa por arrays (aCGH) é a tecnologia mais usada no Screening Genético Pré-Implantacional (PGS) por ser capaz de detectar aneuploidias dos 23 pares cromossômicos simultaneamente. O objetivo deste estudo foi relatar a acurácia metodológica e descrever os resultados clínicos obtidos pela análise de aCGH em biópsias de blastocistos. **Materiais e Métodos:** A aCGH foi empregada no tratamento de 545 casais. As indicações para o PGS foram: abortos espontâneos, falhas sucessivas de implantação, fator masculino severo, idade materna avançada ou indicações mista. A idade feminina média foi 38,2 anos. Foram biopsiados 2853 embriões no estágio de blastocisto, dia 5 do desenvolvimento in vitro. O protocolo CGH-array foi realizado em 24 horas, incluindo amplificação e marcação do DNA, hibridação, lavagem, escaneamento e análises dos dados. Na manhã do dia 6, embriões foram diagnosticados como euplóides, aneuplóides ou portadores de anomalias complexas (envolvendo pelo menos 4 cromossomos). **RESULTADOS:** A amplificação genômica foi bem sucedida em 2745 biópsias (96,3%). Um total de 2053 embriões foram diagnosticados como alterados (74,8%). Entre os embriões anormais, 677 (33%) foram diagnosticados como portadores de anomalias complexas. Do restante dos embriões alterados, 31% (426/1376) apresentaram aneuploidias apenas para os 9 cromossomos analisados pelo programa FISH (cromossomos 13, 15, 16, 17, 18, 21, 22, X e Y); 37,5% (514/1376) também tiveram aneuploidias para outros cromossomos e em 31,6% (435/1376) foram detectadas somente aneuploidias para cromossomos diferentes dos 9 analisados pela FISH. Em 514 ciclos foram observados embriões euplóides, resultando em uma taxa de implantação de 44,6% por ciclo e 65,4% por transferência. **CONCLUSÕES:** A CGH-array tem provado ser um método diagnóstico robusto e os resultados obtidos nestes dois anos compro-

vam a sua importância clínica, aumentando a acurácia do PGS. Utilizando esta técnica foi possível detectar 31,6% mais alterações cromossômicas do que pela análise por FISH 9 cromossomos. O aprimoramento das técnicas de cultivo embrionário, biópsia de blastocisto e screening cromossômico tem resultado no aumento das taxas de gestação e nascimento de bebês saudáveis.

## P52 - Marcadores de estresse oxidativo no fluido folicular de mulheres inférteis com e sem endometriose submetidas à estimulação ovariana

Michele Gomes Da Broi<sup>1</sup>, Vanessa Silvestre Innocenti Giorgetti<sup>1</sup>, Rui Alberto Ferriani<sup>1,2</sup>, Wellington Martins<sup>1</sup>, Jhenifer K. Rodrigues<sup>1</sup>, Paula Andrea Navarro<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Setor de Reprodução Humana, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, <sup>2</sup>Instituto Nacional de Hormônios e Saúde da Mulher, CNPq, Brasil

**OBJETIVO:** o estresse oxidativo (EO) no microambiente folicular pode promover anormalidades meióticas e estar envolvido na etiopatogênese da infertilidade relacionada à endometriose (E). Assim, o objetivo deste estudo foi comparar seis marcadores de estresse oxidativo no fluido folicular (FF) de mulheres inférteis com e sem E submetidas à hiperestimulação ovariana controlada (EOC) para injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI). **MATERIAL E MÉTODOS:** foram prospectivamente incluídas no estudo 45 pacientes inférteis (18 com endometriose e 27 com fator tubário e/ou masculino de infertilidade) submetidas à EOC para realização de ICSI, com idade inferior a 38 anos, índice de massa corporal menor que 30 kg/m<sup>2</sup> e níveis de FSH basal menor que 10 mil/mL. Amostras de FF sem contaminação sanguínea foram individualmente obtidas do primeiro folículo maior que 15mm aspirado no dia da captação oocitária a fim de determinar os níveis séricos de glutatona (GSH), vitamina E (VITE), superóxido dismutase (SOD), capacidade antioxidante total (CAT), malondialdeído (MDA) e produtos avançados de oxidação proteica (AOPP). Os níveis foliculares de GSH, MDA e AOPP foram mensurados por espectrofotometria. Os níveis de SOD e CAT foram avaliados por ensaio imunoenzimático e os níveis de VITE por cromatografia líquida de alta eficiência. Os níveis totais de proteínas (pt) foram determinados por kits Labtest. Os dados paramétricos foram estatisticamente analisados pelo teste t não-pareado e os não-paramétricos pelo teste de Mann-Whitney. O nível de significância foi estabelecido em 5%. **RESULTADOS:** os níveis de CAT foram significativamente maiores nos FF de mulheres inférteis com E quando comparadas às controles ( $0,51 \pm 0,09$  mMol equivalentes de Trolox /L e  $0,44 \pm 0,14$  mMol equivalentes de Trolox /L, respectivamente). Nenhuma diferença significativa para os demais marcadores foi observada entre os grupos. **CONCLUSÕES:** nossos resultados indicam a presença de EO no FF de mulheres inférteis com endometriose pélvica submetidas à EOC. Níveis aumentados de CAT no FF de pacientes com endometriose podem representar uma tentativa de prevenir o EO neste importante microambiente reprodutivo, o que precisa ser melhor avaliado em estudos futuros.

**SUPORTE:** FAPESP (Proc. 2008/58197-6), CNPq (Proc. 474858/2009-0), INCT.

**PALAVRAS-CHAVE:** endometriose; infertilidade; estresse oxidativo; fluido folicular.

## P53 - Diagnóstico genético pré-implantacional em casais portadores de translocação revela alta incidência de aneuploidias não associadas ao rearranjo

Cuzzi, JF<sup>1</sup>; Vulcani-Freitas<sup>1</sup>, TM; Motta<sup>1</sup>, PCR; Bertelli<sup>1</sup>, T; Alegretti, JR<sup>2</sup>; Hassun, PA<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Genesis Genetics Brasil. São Paulo, SP, Brasil; <sup>2</sup>Huntington Centro de Medicina Reprodutiva, São Paulo, SP, Brasil

**OBJETIVOS:** Alterações cromossômicas estruturais são uma das principais causas de abortos espontâneos e falhas repetidas de FIV. O objetivo deste trabalho é apresentar resultados técnicos e clínicos do diagnóstico genético pré-implantacional (PGD) para casais portadores de translocações e inversões. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram realizados 53 ciclos de PGD em 22 casais. Destes pacientes, 14 eram portadores de translocação recíproca (RecT), 5 portadores de translocação robertsoniana (RobT), 1 portador de 2 translocações recíprocas e 2 portadores de inversões. A maioria dos casos a análise por hibridação genômica foi realizada a biópsia de trofoblasto biopsiados e analisados pela técnica de hibridação genômica comparativa por arrays (aCGH), apenas 30% dos embriões foram biopsiados em dia 3. **RESULTADOS:** No total, 265 embriões foram biopsiados e 258 foram diagnosticados com sucesso (97,3%). Dos embriões analisados em cada grupo, os euplóides ou equilibrados corresponderam a 18,5% em RecT, 30% em RobT e 32% em inversões. Ao fazer o screening completo das células embrionárias, a aCGH mostrou que um terço dos embriões normais para os cromossomos envolvidos no rearranjo apresentaram aneuploidias para outro par cromossômico. A taxa de gestação clínica por transferência foi de 75%. O sucesso reprodutivo destes casais, independentemente da alteração estrutural, sofreu forte influência da idade materna. Para casais RecT em que a idade materna era menor que 37 anos, a taxa de transferência embrionária foi de 27% decaiu para 16% em mulheres com idade avançada. Os resultados também revelaram que o número de embriões euplóides varia de acordo com a origem do rearranjo, favorecendo casais em que o homem é portador da alteração (38 vs 25%). **CONCLUSÕES:** Este levantamento mostrou que as aneuploidias afetam uma porcentagem significativa dos embriões normais para os cromossomos translocados. Desta forma, os resultados confirmam a vantagem metodológica do uso aCGH para o PGD de casais portadores de translocações. Além disso, este estudo também ressalta a importância de fatores clínicos como idade materna, baixa reserva ovariana e até mesmo do sexo do portador do rearranjo cromossômico, no sucesso do tratamento reprodutivo destes casais.

## P54 - Comparação das técnicas de fish e cgh array no diagnóstico genético embrionário de casal portador de translocação

Vulcani-Freitas, TM<sup>1</sup>; Cuzzi, JF<sup>1</sup>; Motta, PCR<sup>1</sup>; Bertelli, TS<sup>1</sup>; Perin, PM<sup>2</sup>; Hassun, PA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Genesis Genetics Brasil, São Paulo, SP, Brasil; <sup>2</sup>Centro Especializado em Reprodução Humana (CEERH). São Paulo, SP, Brasil

**OBJETIVO:** A técnica de Híbridação in situ Fluorescente (FISH) até final de 2010 era a única metodologia empregada no Brasil para diagnóstico genético pré-implantacional (PGD) de casais portadores de transloca o equilibrada. Com a introdu o da H brida o Gen mica Comparativa por microarrajos (CGH array) foi possível analisar não somente os cromossomos envolvidos na transloca o como também os demais cromossomos em um único teste. O objetivo do trabalho foi comparar as técnicas de FISH e CGH array no PGD de um caso de transloca o.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram analisados 8 embriões de um casal portador de transloca o recíproca equilibrada t(4;9)(q31;q32) de origem materna. Quatro embriões foram analisados pela técnica de FISH, utilizando sondas para os cromossomos (4 e 9) e mais os cromossomos (13, 18, 21, X e Y) que estão associados com o nascimento de crianças cromossomicamente afetadas. Os quatro restantes foram analisados pela técnica de CGH array.

**Resultados:** Dois embriões, um por cada metodologia, foram identificados como normais para os cromossomos analisados. Nos dois grupos da FISH e CGH array, 3 embriões possuíam altera es envolvendo os cromossomos 4 e 9, 2 destes apresentavam anomalias em outros cromossomos pela técnica de FISH e 1 pela CGH array. Além disso, pela CGH array foi possível detectar altera o em cromossomo em que a FISH não seria capaz de identificar e também possibilitou análise de dele es e duplica es nos cromossomos translocados. O casal obteve sucesso gestacional após a transferência realizada em D6 do embrião diagnosticado como normal pela CGH array, pois houve falha de implanta o na primeira tentativa pela técnica de FISH. **CONCLUSÃO:** As duas técnicas foram capazes de detectar altera es nos cromossomos envolvidos na transloca o. No entanto, a técnica de FISH possui uma limita o quanto ao número de cromossomos analisados e na identifica o de microaltera es como duplica es e dele es, o que pode ter levado a falha de implanta o do embrião identificado como normal. Já a técnica de CGH array além de analisar os cromossomos envolvidos na transloca o consegue analisar todos os demais cromossomos, incluindo pequenas altera es, tornando-se a metodologia mais indicada para identifica o precisa e elucida o de altera es cromossômicas provenientes das transloca es.

## P55 - Mulheres inférteis com endometriose submetidas   estimula o ovariana apresentam maiores níveis circulantes de marcadores de estresse oxidativo no dia da capta o oocitária

Michele Gomes Da Broi<sup>1</sup>, Vanessa Silvestre Innocenti Giorgi<sup>1</sup>, Rui Alberto Ferriani<sup>1,2</sup>, Wellington Martins<sup>1</sup>, Luciana  zor Dib<sup>1</sup>, Paula Andrea Navarro<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Setor de Reprodu o Humana, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, <sup>2</sup>Instituto Nacional de Hormônios e Saúde da Mulher, CNPq, Brasil

**OBJETIVO:** o estresse oxidativo (EO) tem sido implicado na patog nese da infertilidade relacionada   endometriose (E). Evidências recentes tem sugerido a presença de EO sist mico em mulheres com E, o que pode ser influenciado pela hiperestimula o ovariana controlada (EOC). Assim, o objetivo deste estudo foi comparar oito

marcadores de EO no soro de mulheres com e sem endometriose submetidas   EOC no dia da capta o oocitária. **Material e Métodos:** foram incluídas neste estudo 85 pacientes inférteis (39 com E e 46 com fator tubário e/ou masculino de infertilidade) submetidas   EOC para inje o intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) com idade inferior a 38 anos. Amostras de sangue periférico foram coletadas no dia da capta o oocitária a fim de determinar os níveis séricos de total de hidroperóxidos (FOX1), glutathione (GSH), vitamina E (VITE), superóxido dismutase (SOD), capacidade antioxidante total (CAT), malondialdeído (MDA), produtos avançados de oxida o proteica (AOPP) e 8-hidroxidesoxiguanosina (8-OHdG). FOX1, GSH, MDA e AOPP foram analisados por espectrofotometria. SOD, TAC e 8-OHdG foram analisados por ensaio imunoenzimático e VITE por cromatografia líquida de alta eficiência. Níveis totais de proteínas (pt) foram determinados por kits Labtest. Os dados foram estatisticamente analisados pelo teste t não-pareado. O nível de significância foi estabelecido em 5%. **RESULTADOS:** os níveis de FOX1, GSH, VITE e SOD encontrados foram significativamente maiores, enquanto a CAT foi significativamente menor no soro de mulheres com E (8,57 ± 1,79 µMol/ g pt; 227,48 ± 51,16 nMol/g pt; 24,25 ± 6,93 µMol/L; 95,98 ± 39,94 U/mL; 0,36 ± 0,17 mMol equivalentes de Trolox/L, respectivamente) comparadas às controles (7,65 ± 1,78; 193,00 ± 46,09; 21,22 ± 6,13; 77,55 ± 31,71; 0,46 ± 0,15, respectivamente). **CONCLUSÕES:** nossos dados indicam a ocorrência de EO sist micamente identificável em mulheres inférteis com E submetidas   EOC no dia da capta o oocitária. Outros estudos são necessários para elucidar se a ocorrência de EO sist mico no dia da capta o oocitária pode ser relacionada com piores resultados de ICSI.

**SUPORTE:** FAPESP (Proc. 2008/58197-6), CNPq (Proc. 474858/2009-0), INCT.

**PALAVRAS-CHAVE:** endometriose; infertilidade feminina; estresse oxidativo; soro; capta o oocitária.

## P56 - PGD para doenças monog nicas associado ao screening de aneuploidias

Vulcani-Freitas, TM<sup>1</sup>; Cuzzi, JF<sup>1</sup>; Moraes, CE<sup>1</sup>; Motta, ELA<sup>2</sup>; Serafini, P<sup>2</sup>; Hassun, PA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Genesis Genetics Brasil; <sup>2</sup>Huntington Medicina Reprodutiva

**OBJETIVO:** Diagnóstico genético pré-implantacional (PGD) para doenças monog nicas tem como objetivo identificar embriões livres da muta o gênica herdada dos pais, sem se preocupar com a análise de altera es cromossômicas as quais são frequentes em casais que buscam a reprodu o assistida. O objetivo deste trabalho foi avaliar os resultados das análises de altera es cromossômicas de casais que fizeram PGD para doenças monog nicas. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram avaliados 7 casais portadores de doenças monog nicas com idade materna média de 33 anos. Esses casais fizeram juntamente com o PGD, o Screening genético pré-implantacional (PGS) pela técnica de CGH array. No total, 41 embriões foram analisados. **RESULTADOS:** Do total de embriões analisados, 63% eram normais para doença gênica e desses 35% eram cromossomicamente alterados. Dos 7 casais, apenas um não teve transferência pois os 3 de 4 embriões, normais para doença monog nica, eram alterados cromossomicamente. Este casal

tinha idade materna acima de 37 anos enquanto que os demais apresentaram idade abaixo de 37 anos. Dois casais que já transferiram os embriões livres da mutação e de aneuploidias estão com gestação em andamento. Os outros 4 casais estão aguardando o próximo ciclo para fazer a transferência embrionária. **CONCLUSÃO:** Associar o PGS pela técnica de CGH array ao PGD para doenças monogênicas pode auxiliar no sucesso reprodutivo de casais portadores de doenças gênicas, uma vez que reduz os índices de falha de implantação e abortos decorrentes das aneuploidias, principalmente em casais com idade materna avançada.

## P57 - Estudo caso-controle das alterações metabólicas no comprimento do telômero nas mulheres com síndrome dos ovários policísticos

Pedroso, D.C.C.<sup>1</sup>, Okuka, M.<sup>2</sup>, Martins W.P.<sup>1</sup>, Keefe D.L.<sup>2</sup>, Silva C.<sup>2</sup>, Reis R.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Setor de Reprodução Humana, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil; <sup>2</sup>Setor de Endocrinologia Reprodutiva e Infertilidade, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Universidade do Sul da Flórida, Tampa, FL, Estados Unidos da América.

**OBJETIVO:** Analisar o tamanho do telômero nas mulheres com Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) e a associação do comprimento do telômero com a Resistência à Insulina (RI) e os marcadores inflamatórios. **MATERIAL E MÉTODOS:** Neste estudo caso-controle cada mulher com SOP foi pareada por idade ( $\pm 2$  anos) e índice de massa corporal (IMC) ( $\pm 2$  kg/m<sup>2</sup>) com uma mulher controle. Pressão arterial sistêmica, circunferência da cintura, perfil lipídico, glicemia, insulina, modelo homeostático da sensibilidade à insulina (HOMA-IR), LH (hormônio luteinizante), FSH (hormônio folículo estimulante), testosterona, androstenediona, 17-hidroxiprogesterona, prolactina, globulina de ligação de hormônio sexual (SHBG), proteína C reativa (PCR), homocisteína, Índice de androgênio livre (FAI) e hormônio estimulador da tireóide (TSH) foram analisados. O comprimento do telômero foi mensurado nos leucócitos através da Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa em Tempo Real. Os dados foram analisados pelo teste não paramétrico de Wilcoxon para as amostras dependentes e o modelo de regressão linear com efeitos mistos foi utilizado para avaliar as variáveis preditoras do tamanho do telômero. **RESULTADOS:** Um total de 50 mulheres com SOP e 50 mulheres Controle foram avaliadas. O grupo SOP apresentaram níveis mais elevados de pressão arterial sistólica (116,6 mmHg  $\pm$  9,55 vs 112,11  $\pm$  12,64, p=0,02), insulina (8,14  $\mu$ U/ml  $\pm$  7,37 vs 4,98  $\pm$  4,52, p<0,01), HOMA-IR (2,27  $\pm$  2,18 vs 1,42  $\pm$  1,35, p=0,03), LH (7,4 mU/ml  $\pm$  5,21 vs 4,98  $\pm$  3,26, p<0,01), FSH (4,39 mU/ml  $\pm$  2,05 vs 3,57  $\pm$  1,93, p=0,03), testosterona (86,78 ng/dl  $\pm$  31,5 vs 66,5  $\pm$  29,76, p<0,01), androstenediona (104,68 ng/dl  $\pm$  45,24 vs 87,2  $\pm$  32,04, p=0,01) e FAI (8,98  $\pm$  9,61 vs 4,92  $\pm$  3,43, p<0,01). O comprimento do telômero no grupo SOP (3347,56 Kb  $\pm$  536,27) não diferiu do controle (3435,18  $\pm$  483,02) (p = 0,52). Não houve associação da RI e da PCR com o comprimento do telômero. **CONCLUSÕES:** Não encontramos encurtamento do telômero nas mulheres com SOP. Também não foi encontrada associação da RI e da PCR com o tamanho do telômero. Mais estudos em diferentes faixas etárias são necessários para determinar a influência das alterações metabólicas da SOP no comprimento do telômero.

## P58 - O conhecimento dos níveis séricos do hormônio anti-mülleriano (AMH) é fundamental para uma boa estimulação ovariana, independentemente da idade e do peso corporal

Nilo Frantz, Andrea Nácul, Marcos Höher, Mônica Martins da Silva, Marcelo O. Ferreira, Adriana Bos-Mikich

Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz

**OBJETIVOS:** Verificar a possível correlação entre concentração sérica do AMH e a quantidade de gonadotrofinas necessárias para estimulação ovariana em diferentes faixas etárias e índices de massa corporal (IMC). Acessar a potencialidade do uso do nível sérico de AMH como um instrumento prognóstico de gestação em ciclos de RA. **MATERIAL E MÉTODOS:** análise retrospectiva dos dados de AMH, IMC e gestações de 190 ciclos de RA, nos quais as pacientes foram estratificadas em 3 grupos: <35 anos, de 35 a 39 ou >40. **RESULTADOS:** nossos resultados demonstram que não houve diferença significativa nas taxas de gravidez em quaisquer das faixas etárias, nem entre as pacientes com IMC <25 ou >25. Houve, entretanto, em todas as faixas etárias e em ambos os grupos de IMCs uma diferença estatisticamente significativa nas doses de gonadotrofinas utilizadas para a estimulação ovariana em pacientes com AMH < 1ng/ml. **CONCLUSÕES:** a dosagem do AMH é um excelente indicador da quantidade de gonadotrofinas exógenas que devem ser administradas às pacientes, especialmente àquelas jovens, mas que já apresentam de forma oculta uma reserva ovariana comprometida. Uma vez bem ajustada a estimulação ovariana, as taxas gestacionais não são diferentes entre pacientes mais jovens ou aquelas acima de 40 anos, com peso corporal aumentado ou não.

## P59 - Solicitar ou não o amh como rotina para mulheres que recorrem às técnicas de reprodução humana assistida?

Marcos Höher, Adriana Bos-Mikich, Marcela Felix Fortis, Nilo Frantz

Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz

**OBJETIVOS:** AMH constitui útil ferramenta na escolha do protocolo e da dose de gonadotrofinas, além de predizer com acurácia o risco de má resposta e de hiperestimulação ovariana. No entanto, muitas instituições não o adotam nas suas rotinas ou solicitam somente após os 35 anos. O objetivo deste estudo foi revelar o perfil de reserva ovariana, através da dosagem do AMH, de mulheres de 20 a 39 anos que consultaram em uma clínica de reprodução assistida (RA). Com base nos dados obtidos, avaliar a aplicabilidade deste exame na rotina de um serviço de RA. **MATERIAL E MÉTODOS:** análise dos registros de 209 mulheres que buscaram, de 2010 a 2012, atendimento em clínica de RA e tiveram os níveis de AMH aferidos. O grupo comportou pacientes com infertilidade conjugal (n=198), interessadas em criopreservação oocitária (n=10) e doadora (n=1), estratificadas em 2 faixas: 20-34 anos (n=103) e 35-39 anos (n=106).

**RESULTADOS:** dos casos analisados, 135 (48,2%) apresentaram níveis de AMH abaixo do percentil 25 (28,2%) ou acima do percentil 75 (20%) para a faixa etária. Do total, 22(10,5%) eram fumantes, 10 (4,8%) tinham endometrioma, 13 (6,2%), foram submetidas à cirurgia ovariana e 5 (2,4%) tinham somente um ovário. No grupo com idade de 20 a 34 anos, verificou-se que 9 (8,7%) tinham AMH entre os percentis 25 e 10, e 13 (12,6%) abaixo do percentil 10, totalizando 21,3% de pacientes dessa faixa etária com AMH considerado baixo. Também foi constatado que 27 (26,2%) apresentaram níveis acima do percentil 75, sendo que 15 (14,6%) acima do percentil 90. **CONCLUSÃO:** Com base nos nossos dados, acreditamos ser a relação custo-benefício favorável à sistemática dosagem do AMH, inclusive em mulheres jovens por adequar as expectativas de pacientes e profissionais envolvidos. É justamente neste grupo que, sem a prévia análise do AMH, nos deparamos freqüentemente com desempenhos inesperados, frustrantes ou exacerbados após a estimulação ovariana. Ressalta-se que, se é o AMH o melhor método para avaliar quantidade de folículos/oócitos, segue sendo a idade o melhor parâmetro qualitativo.

## P60 - Gestaçãoclínicaapóstransferência de embriões desvitrificados obtidos em ciclo de IVM

Marcos Höher, Adriana BosMikich, Gerta Frantz, Norma P Oliveira, Nilo Frantz

Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz

**OBJETIVO:** descrever um caso de gestação clínica após a combinação bem sucedida de duas promissoras técnicas de reprodução humana assistida no Brasil, a maturação in vitro de oócitos (IVM) e a vitrificação de embriões. **MATERIAL E MÉTODOS:** paciente PWM, 34 anos, AMH de 27.3 ng/ml, acometida por infertilidade de causa anovulatória devido à síndrome dos ovários policísticos se submeteu a ciclo de IVM. Foram coletados e encaminhados à maturação in vitro 27 complexos cumulus-oócitos. Os mesmos foram então denudados, sendo que 24 deles atingiram MII. Após inseminação por IMSI se obteve 15 zigotos, dos quais 10 apresentaram no mínimo 6 células no terceiro dia pós-fertilização. Diante de espessura endometrial desfavorável à transferência embrionária (3 mm), três embriões de 7-8 células e 1 mórula inicial foram vitrificadas. Após ciclo de preparo com 6 mg diários de valerato de estradiol via oral foi obtido endométrio medindo 7 mm e aspecto trilinear. Quando reaquecidos, dois embriões com boas características morfológicas foram selecionados e transferidos. **RESULTADO:** a paciente apresentou gestação química que evoluiu para saco gestacional único na 5ª semana gestacional, não sendo, no entanto, verificado desenvolvimento embrionário à ultrassonografia. **CONCLUSÃO:** apesar de esta gestação ter se interrompido, o seu relato corrobora recentes referências internacionais que indicam a vitrificação de embriões obtidos por IVM como alternativa para contornar a insuficiente proliferação endometrial, uma das limitações em ciclos não estimulados. Assim, este caso contribui para o maior entendimento e utilização da IVM em ciclos de RA humana.

## P61 - Análise comparativa do fuso meiótico de oócitos humanos maturados in vivo pela microscopia de polarização e confocal de alto desempenho

Dib LA, Da Broi MG, Picinato MC, Giorgenon RS, Ferriani RA, Navarro PAAS

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/FMRP - USP

**OBJETIVOS:** Tendo em vista a escassez de dados na literatura sobre a capacidade preditiva de microscopia de polarização (PM) na identificação de anormalidades meióticas em oócitos humanos, os objetivos deste estudo foram comparar a concordância entre as técnicas da PM e da microscopia confocal (CM) na identificação do grau de maturidade nuclear oocitário e avaliar a percentagem de oócitos com fuso celular em posicionamento normal e de risco com normalidade e anormalidade meiótica e a percentagem dos oócitos com fuso visível ou não com normalidade e anormalidade meiótica.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Estudo prospectivo realizado com pacientes inférteis submetidas à estimulação ovariana controlada para a realização de injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI). Oócitos humanos maturados in vivo com extrusão do primeiro corpúsculo polar (CP) foram avaliados por meio da técnica de PM e imediatamente após, foram fixados e corados para avaliação dos microtúbulos e cromatina por CM. **RESULTADOS:** Foram analisados 73 oócitos frescos com presença do primeiro CP, oriundos de 23 pacientes. A análise pela PM evidenciou 03 oócitos em telófase I (TI) e 70 oócitos em metáfase II (MII), sendo 54 com o fuso celular visível. Dos 73 oócitos analisados pela CM, 06 estavam em TI e 67 em MI (47 foram fixados em visão sagital, sendo considerados analisáveis no presente estudo). Dos 47 oócitos MII analisáveis, 28 apresentaram fuso e distribuição cromossômica anormal e 19 apresentaram anormalidades meióticas. Observamos que 72.7% (08/11) dos oócitos em MII com fuso celular não visível à polarização apresentaram anormalidades meióticas à análise confocal e que 55.6% (20/36) dos oócitos em MII com fuso celular visível à polarização apresentaram-se com fuso e distribuição normal à análise confocal. **CONCLUSÕES:** A visualização do fuso meiótico de oócitos humanos em MII pela PM não seria um bom preditor para normalidade meióticas oocitárias. Os presentes achados tornam questionável a utilidade desta metodologia como ferramenta para a seleção não invasiva oocitária para os procedimentos de reprodução assistida.

## P62 - O fluido peritoneal de mulheres inférteis com e sem endometriose mínima/leve reduz a expressão dos genes gsr e cat em oócitos bovinos

Helena Malvezzi<sup>1</sup>, Michele Gomes Da Broi<sup>1</sup>, Julio Cesar Rosa e Silva<sup>1</sup>, Rui Alberto Ferriani<sup>1,2</sup>, Juliana Meola<sup>1</sup>, Paula Andrea Navarro<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Setor de Reprodução Humana, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, <sup>2</sup>Instituto Nacional de Hormônios e Saúde da Mulher, CNPq, Brasil

**OBJETIVOS:** os mecanismos envolvidos na etiopatogênese da infertilidade relacionada à endometriose, especialmente nos estágios iniciais (endometriose mínima e leve, EI/II), não foram completamente elucidados, podendo a piora da qualidade oocitária estar envolvida. O potencial papel deletério do fluido peritoneal (FP) de mulheres com endometriose na qualidade oocitária tem sido questionado. Enzimas do sistema antioxidante, como a superóxido dismutase 1 (SOD1), catalase (CAT) e glutatona redutase (GSR) parecem ser importantes para a aquisição de competência oocitária. Assim, o objetivo do presente estudo foi verificar o impacto do FP de mulheres inférteis com EI/II, controle infértil (CI, fator masculino e/ou tubário de infertilidade) e controle fértil (CF) na expressão dos genes SOD1, CAT e GSR em oócitos bovinos maturados in vitro na presença de FP de pacientes desses 3 grupos.

**MATERIAL E MÉTODOS:** amostras de FP foram obtidas de 30 pacientes (10 com EI/II, 10 CI e 10 CF) durante videolaparoscopia. Oócitos bovinos imaturos foram submetidos à maturação in vitro (MIV) sem adição de FP (S-FP) e com a adição de 4 concentrações de FP de CI e CF. A expressão relativa dos genes SOD1, CAT e GSR nos oócitos maturados foi determinada por PCR em tempo real. **RESULTADOS:** não houve influência das concentrações de FP na expressão gênica dentro de cada grupo analisado. Uma redução significativa na expressão dos genes GSR e CAT foi observada nos grupos EI/II e CI, comparados ao grupo CF. **CONCLUSÕES:** os presentes achados demonstram haver uma menor expressão dos genes GSR e CAT em oócitos bovinos maturados in vitro na presença de FP de mulheres inférteis (com e sem EI/II) comparadas a mulheres férteis. Nossos resultados apontam à possibilidade da infertilidade por se poder estar associada com a piora da capacidade antioxidante dos oócitos, o que pode comprometer a qualidade dos gametas, mesmo em mulheres que, aparentemente, não apresentam fatores para piora da qualidade oocitária. Estes achados precisam ser melhor avaliados em estudos futuros com metodologias pertinentes.

**SUPORTE:** INCT/CNPq.

**PALAVRAS-CHAVE:** endometriose; infertilidade feminina; maturação in vitro; fluido peritoneal; estresse oxidativo; expressão gênica.

## P63 - Importância da espessura endometrial nos resultados de gravidez em ciclos de fertilização in vitro

Ana Paula Peixoto, Vinícius Rosa, José Augusto Neto, Alessandro Schuffner

Clínica Conceber - Centro de Medicina Reprodutiva - Curitiba/PR

**OBJETIVO:** Demonstrar a importância da espessura endometrial nos resultados de gravidez em ciclos de fertilização in vitro (FIV), corroborando a literatura.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Foi realizado um estudo retrospectivo de caso-controle onde foram selecionadas 183 pacientes submetidas a protocolos diferenciados de fertilização in vitro (FIV), no período de Janeiro de 2011 a Março de 2012. Foi analisado a taxa de gravidez comparando as diferentes espessuras endometriais no dia da aplicação do hCG (gonadotrofina coriônica humana). Apenas foram considerados ciclos com transferência de embriões a fresco. Ciclos de doadoras não foram incluídos na análise. Foram realizadas três análises em relação ao ponto de corte da espessura endometrial no dia do Hcg: com 07, 08 e 09mm.

**RESULTADOS:** Conforme análise estatística realizada pelo teste de Fisher e considerando um  $p < 0,05$  como critério para significância estatística, observou-se que a taxa de gravidez ( $\beta$ -Hcg) foi menor no grupo com espessura inferior a 07mm (10%) versus 42,8% no grupo com espessura maior que 07mm, com  $p = 0,04$ . Nos pontos de corte 08 e 09mm também foi observada maior taxa de gravidez para endométrios mais espessos (27,8 e 56%; 33,3 e 45,3% respectivamente), contudo não houve significância estatística nestes grupos ( $p = 0,08$  e  $p = 0,12$  respectivamente). **CONCLUSÕES:** A taxa de implantação de embriões com boa qualidade ainda permanece baixa em ciclos de FIV, apesar dos grandes avanços nos regimes de estimulação ovariana e nas condições de manipulação dos gametas e embriões. É consenso na literatura que o sucesso na implantação depende de uma forte relação entre o endométrio e o blastocisto, onde vários fatores estão envolvidos, sendo um deles a espessura endometrial no dia do Hcg. Ainda não há consenso em relação à espessura endometrial mínima para a ocorrência de gravidez. A maioria dos autores concordam que a gravidez não ocorre com uma espessura endometrial menor que 07mm. Neste estudo, foi possível observar uma diferença estatisticamente significativa neste ponto de corte, corroborando a literatura.

## P64 - Evidência de baixa reserva ovariana em mulheres inférteis com endometriose profunda infiltrativa

Carolina Kimati<sup>1</sup>, Luciana Chamié<sup>2</sup>, Carolina Piazza<sup>2</sup>, Marcia Riboldi<sup>1</sup>, Eduardo LA Motta<sup>1,4</sup>, Paulo Serafini<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>Huntington Medicina Reprodutiva, São Paulo, Brasil; <sup>2</sup>Chamié Imagem da Mulher e Grupo Fleury, São Paulo, Brasil; <sup>3</sup>Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, Brasil; <sup>4</sup>Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, São Paulo, Brasil

**OBJETIVO:** Avaliar a incidência de endometriose profunda infiltrativa (EPI) bem como a contagem de folículos antrais (CFA) e dos níveis séricos de hormônio Anti-Mulleriano (HAM) em mulheres inférteis. **MATERIAL E MÉTODOS:** 334 mulheres inférteis com idade entre 26-43 anos foram avaliadas para EPI através de ultrassonografia transvaginal com preparo intestinal (TVSBP), através do ultrassom Voluson® E8. Presença de nódulos, infiltrado na parede intestinal, espessamento nas regiões dos ligamentos uterosacrais e cistos ovarianos (endometriomas) foram anotados. Dosagens de HAM foram realizadas por imunoensaio (Quest Diagnostics-ng/mL). Pacientes foram divididas de acordo com a ausência/presença de EPI e de endometriomas em 3 grupos: Grupo I: ausência de EPI; Grupo II: presença de EPI sem OMAS e Grupo III: presença de EPI e OMAS. A análise estatística foi realizada pelo teste de ANOVA;  $p < 0,05$ . **RESULTADOS:** O intervalo de infertilidade foi de  $2,4 \pm 1,1$  anos enquanto a idade das pacientes foi: GI:  $32,4 \pm 4,7$ ; GII:  $35,3 \pm 4,1$  e GIII:  $34,6 \pm 3,9$  anos ( $p = 0,37$ ). Em 132 mulheres avaliadas, no GI não foi detectado EPI (39,5%), no GII 176 pacientes apresentavam EPI (52,7%) e no GIII 26 pacientes apresentavam EPI+OMAS (7,8%). Em GII e GIII foi observado um total de 120 EPI, sendo 71 ligamento redondo e 49 bexiga e peritônio véscico-uterino. No compartimento posterior foram detectadas 322 EPI, sendo 223 ligamentos uterosacrais, 32 rectovaginal/paracervical, 2 ureteral e 65 entre retosigmoides e região ileocecal. No GIII mulheres apresentaram 59 endometriomas (1-60 cm<sup>3</sup>). A CFA por grupos foi GI:  $13,6 \pm 8,2$ ;

GII:9,5±6,9 e GIII:7,2±5,1;  $p < 0,001$ . Significante diminuição dos níveis séricos de HAM foi observada nas comparações entre os grupos; (GI) 1.8±0,9; (GII) 1,3±1,0; e (GIII) 0,9±0,7 ng/mL; ( $F=15.74$ )  $p=0,000$ .

**CONCLUSÃO:** A comprovação da elevada incidência de EPI presente em vários sítios da pelve de mulheres inférteis tornam o exame de TVSBP com profissional experiente imprescindível. Aconselhamento detalhado após exame é imperativo. OS achados de significativa redução da CFA e do HAM em mulheres com múltiplas lesões de EPI e as com a presença de endometriomas tem grande relevância clínica e para estimar futuro reprodutivo. Adiciona-se também a importância destes dados quanto ao aconselhamento da paciente e na escolha da dose dos fármacos a serem usados para a fase da indução da ovulação.

## P65 - A idade da doadora até os 36 anos não afeta os resultados da doação compartilhada de oócitos

Lopes V. M.<sup>1</sup>; Brasileiro J.P.B.<sup>1</sup>; Pereira T. R.<sup>1</sup>; Santos J.M.<sup>2</sup>; Adami K.<sup>2</sup>; Lopes J.R.C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto VERHUM- Brasília; <sup>2</sup>Cenafert -Salvador

**OBJETIVO:** Comparar índices de gravidez em ciclos de FIV/ICSI, em receptoras que receberam óvulos frescos doados. **MATERIAL E MÉTODOS:** Resultados de doação compartilhada de óvulos no período de janeiro/1993 a dezembro/2008, em dois serviços brasileiros, foram analisados, totalizando 362 transferências de embriões frescos em receptoras. Critérios de seleção das doadoras: idade entre 18 e 23 anos, histórico familiar, cariótipo, FSH basal <10 UI/L e avaliação psicológica. Critérios de seleção das receptoras: necessidade óvulos doados para submeter-se a FIV/ICSI, boa saúde, avaliação psicológica e idade <51 anos. Utilizou-se bloqueio hipofisário com agonista do GnRH, na fase lútea média, em todas as doadoras e em receptoras com função ovariana. Estimulação ovariana com FSH e/ou HMG. Preparo endometrial das receptoras com valerato de estradiol em doses crescentes, desde o início de estímulo das doadoras. Óvulos partilhados igualmente entre doadoras e receptoras. Apoio luteal com progesterona IM/vaginal. Transferências realizadas no quarto dia de uso de progesterona. Receptoras divididas em: Grupo A - (218 transferências), recebendo óvulos de doadoras <31 anos; Grupo B (144 transferências) recebendo óvulos de doadoras ≥ 31anos. Média de idade das doadoras do Grupo A foi de 27,4 (± 5,14) e Grupo B foi de 32,5 (± 1,31)anos, respectivamente. Idade das receptoras, nº de oócitos inseminados, embriões transferidos e índices de gestação evolutiva (≥12 semanas) analisados estatisticamente (Statistical package for social Science versão 10.0), Mann Whitney U teste e Student's t-test. **RESULTADO:** Média de idade das receptoras no Grupo A de 41,7 (± 4,95) vs 42,0 (± 5,14) no grupo B. Média de oócitos injetados e embriões transferidos para o Grupo A e Grupo B foram, respectivamente, 7,4 vs 7,9 e 3,1 vs 3,5 ( $p=0,39$ ). Os índices de implantação e gestação evolutiva foram, respectivamente, Grupo A e Grupo B: 17,0% (127/744) vs 16,5% (84/508) ( $p=0,80$ ) e 33,03% (72/218) vs 27,78% (40/144) ( $p=0,29$ ). Sem diferença estatisticamente significativa ao intervalo de confiança de 95% entre os resultados. **CONCLUSÕES:** Doadoras com <31 anos não oferecem melhores resultados gestacionais em receptoras, em relação ao grupo de doadoras na faixa etária de 31 a 36 anos.

## P66 - ANÁLISE DOS RESULTADOS DE ANÁLISES SEMINAIS CONSIDERANDO OS PARÂMETROS DE NORMALIDADE ESTABELECIDOS NOS MANUAIS DA OMS 1999 E 2010 EM POPULAÇÃO DO NORDESTE DO BRASIL.

Erika Caldas<sup>1,2</sup>; Bárbara Repolho<sup>1</sup>; Monica Almeida<sup>1,2</sup>; Sabrina MR Jacinto-Costa<sup>1</sup>; Tatiana CS Bonetti<sup>1,3</sup>; George H. Caldas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CEMISE-VIDA – Centro de Reprodução Humana, Aracaju – SE, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal de Sergipe/ RENORBIO - UFS, Aracaju – SE, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Departamento de Ginecologia, São Paulo – SP, Brasil

**OBJETIVO:** O método padrão para análise seminal se baseia no manual da Organização Mundial da Saúde (OMS), WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. O manual publicado em 1999 foi utilizado até 2009 e o manual atualizado e publicado em 2010 traz modificações nos limites de normalidade para concentração (de 20x10<sup>6</sup> para 15x10<sup>6</sup> espermatozoides/mL), motilidade progressiva (de 50% para 32%), e morfologia baseada nos critérios de Tygerberg (de 14% para 4%). O objetivo deste estudo foi verificar concordância dos resultados de análises seminais considerando os parâmetros de normalidade estabelecidos nos manuais da OMS 1999 e 2010. **CASUÍSTICA E MÉTODO:** Foram avaliadas retrospectivamente 1884 análises seminais realizadas entre 2001 e 2012, cujos resultados não apresentassem azoospermia. Os exames foram classificados de acordo com concentração, motilidade e morfologia utilizando os parâmetros de normalidade estabelecidos nos manuais da OMS de 1999 e 2010. **RESULTADOS E CONCLUSÕES:** Em relação à concentração, 32,4% dos pacientes eram considerados oligozoospermicos segundo OMS 1999, e 26,9% pela OMS 2010 (Kappa 0,87). Para motilidade, 25,7% eram astenozoospermicos (OMS 1999) e apenas 17,2% pela OMS 2010 (Kappa 0,75). Para morfologia, havia 84,4% de pacientes teratozoospermicos segundo OMS 1999 e apenas 31,7% pela OMS 2010 (Kappa 0,16). Pudemos notar que em todos os parâmetros, principalmente na morfologia, muitos pacientes que antes eram considerados com parâmetros anormais, passam a ter resultados dentro dos novos limites de normalidade modificando a interpretação dos resultados, podendo acarretar em mudanças incluindo o efeito sobre o encaminhamento do paciente, diagnóstico e tratamento de condições reconhecidas, tais como varicocele, e sobre as indicações de tecnologias de reprodução assistida. Nossos achados corroboram com a diminuição dos limites de normalidade dos parâmetros seminais. **PALAVRAS-CHAVE:** OMS; análise seminal; infertilidade masculina.

## P67 - Uso de hmg isolado versus fsh recombinante (Fsh-R) isolado versus fsh-r associado a hmg em ciclos de fertilização in vitro (FIV) e taxa de gravidez

Ana Paula Peixoto, Vinícius Rosa, José Augusto Lucca Neto, Alessandro Schuffner

Clínica Conceber – Centro de Medicina Reprodutiva – Curitiba/PR

**OBJETIVO:** Analisar a taxa de gravidez obtida, incluindo gestações bioquímicas, com diferentes protocolos de indução ovulatória para ciclos de FIV realizados na clínica no período de janeiro de 2011 a março de 2012. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foi realizado um estudo observacional com um total de 185 pacientes, sendo estas divididas em três grupos, de acordo com os protocolos utilizados: 88 receberam hMG isolado (grupo 1), 63 receberam FSH-r isolado (grupo 2) e 21 receberam FSH-r associado a hMG (grupo 3). A média de idade foi de 35 anos para o grupo 1, 33 anos para o grupo 2 e 37 anos para o grupo 3. O principal fator de infertilidade foi causa feminina para os três grupos. Em relação ao uso de agonista ou antagonista de GnRH, optou-se por agrupar estes 02 subgrupos, sendo o esquema com antagonista o principal utilizado (93 %). **RESULTADOS:** Conforme análise estatística realizada pelo teste chi-quadrado e considerando um  $p < 0,05$  como critério para significância estatística, observou-se que a taxa de gravidez positiva (clínica) foi semelhante nos 03 grupos: 30,0% para o uso de hMG isolado versus 34,9% para o uso de FSH-r isolado versus 33,3% para o uso de FSH-r associado a hMG. Também não houve diferença estatística entre os grupos em relação às taxas de gravidez negativa e de gravidez bioquímica. **CONCLUSÕES:** Inúmeros estudos são constantemente realizados comparando os diversos protocolos de estimulação ovariana controlada e sua eficácia. No entanto, não existe um consenso para cada grupo, devendo cada paciente ser analisada individualmente de acordo com a idade, fator causal da infertilidade, resposta anterior a outros tipos de protocolos, entre outras variáveis. Este estudo mostrou uma taxa de gravidez positiva semelhante com os 03 principais tipos de protocolos utilizados em ciclos de FIV.

## P68 - Diagnóstico genético pré-implantacional por cgh-array em 223 ciclos de fertilização in vitro com biópsia de blastocisto

Mariana Nicolielo<sup>1</sup>, José Roberto Alegretti<sup>1,2</sup>, Bruna Barros<sup>1</sup>, Natali Guimarães Nóbrega<sup>1</sup>, Paulo Serafini<sup>1,3</sup>, Eduardo Motta<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Huntington - Medicina Reprodutiva São Paulo; <sup>2</sup>Universidade Federal de São Paulo- UNIFESP- Departamento de Ginecologia; <sup>3</sup>Universidade de São Paulo- USP- Centro de Reprodução Humana Mario Covas

**OBJETIVO:** Comparar as taxas de implantação e gestação em pacientes de diferentes idades que se submeteram a ciclos de FIV, após realização do Diagnóstico Genético Pré-implantacional (PGD) por indicação de falhas de implantação, abortos espontâneos, mulheres com idade avançada ou histórica de alteração genética familiar, através da técnica de Hibridação Genômica Comparativa por array (CGH-array). **MATERIAIS E MÉTODOS:** Entre novembro/2010 a março/2012 foram analisados 223 pacientes. As mulheres foram divididas em 2 grupos etários: A)  $\leq 37$ ; B)  $\geq 38$  anos. Em dia 3 de cultivo embrionário, os embriões entre 06-10 células foram submetidos ao hatching e cultivados a 90%N<sub>2</sub>/5%O<sub>2</sub>/5%CO<sub>2</sub>. Em dia 5, procedeu-se a biópsia de trofocodermia nos blastocistos e em dia 6, os embriões euplóides foram transferidos ao útero. Os resultados foram comparados pelo teste t de Student e qui-quadrado ( $p < 0,05$ ). **RESULTADOS:** Foram avaliadas 89 pacientes no grupo A e 134 no grupo B. A média de ovócitos coletados foi semelhante entre os dois grupos (A=12,40±5,90; B=10,90±5,50;  $p=0,051$ ). Observaram-se diferenças significativas no número de: ovócitos maduros (A=10,50±4,90; B=9,10±4,40;  $p=0,03$ ), ovócitos

fertilizados (A=8,70±4,20; B=7,60±3,09;  $p=0,047$ ) e blastocistos (A=4,30±2,30; B=3,70±1,60;  $p=0,013$ ). No grupo A, todos os casos apresentaram blastocistos formados em dia 05, já no grupo B, 01 caso não apresentou formação de blastocisto, com a biópsia cancelada (0,7%). Observou-se menor taxa de embriões aneuplóides no grupo A em relação ao grupo B (A=62,0%; B=82,0%;  $p < 0,001$ ), menor taxa de cancelamento por ausência de embriões euplóides (A=20,20%; B=53,0%;  $p < 0,001$ ) e número de embriões transferidos (A=1,50±0,60; B=1,30±0,50;  $p=0,025$ ). Contudo, não foram verificadas diferenças estatísticas significativas nas taxas de implantação (A=36,0%, B=33,0%;  $p=0,627$ ) e taxas de gestação (A=47,0%; B=39,0%;  $p=0,482$ ). A taxa de gestação por ciclo iniciado foi de 37,0% no grupo A e 18,0% no grupo B ( $p < 0,001$ ). **CONCLUSÕES:** Nosso estudo sugere que ciclos de FIV após a identificação cromossômica embrionária, através da técnica de aCGH com biópsia em blastocisto e transferência em dia 6, que apresentem embriões euplóide, proporcionaram maiores taxas de implantação e gestação, independente da idade reprodutiva da mulher.

## P69 - Marcadores séricos e foliculares de estresse oxidativo e resposta à hiperestimulação ovariana controlada em ciclos de ICSI

Paula Andrea Navarro<sup>1</sup>, Gustavo Salata Romão<sup>2</sup>, Michele Gomes Da Broi<sup>1</sup>, Wellington de Paula Martins<sup>1</sup>, Rui Alberto Ferriani<sup>1</sup>, Alceu A Jordão Junior<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP; <sup>2</sup>Departamento de Medicina da Universidade Federal de São Carlos

**OBJETIVO:** o estresse oxidativo (EO) pode estar envolvido na etiologia da maturação oocitária e desenvolvimento embrionário afetados. Entretanto, o potencial impacto do EO na resposta ovariana à hiperestimulação controlada (EOC) para ciclos de FIV ainda não foi avaliada. Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar a relação entre os níveis de marcadores de EO no soro e fluido folicular (FF) e os padrões de resposta à EOC em ciclos de FIV. **MATERIAL E MÉTODOS:** foram incluídas no estudo 85 mulheres inférteis com idade inferior a 38 anos e fator masculino e/ou tubário de infertilidade submetidas à EOC para realização de injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI). Amostras de sangue periférico e de FF sem contaminação sanguínea foram coletadas no dia da captação oocitária. Os níveis de total de hidroperóxidos (FOX1), glutathiona (GSH), vitamina E (VITE), superóxido dismutase (SOD), capacidade antioxidante total (CAT), malondialdeído (MDA), produtos avançados de oxidação protéica (AOPP) e 8-hidroxi-desoxiguanosina (8-OHdG) foram avaliados. FOX1, GSH, MDA e AOPP foram avaliados por espectrofotometria; SOD, TAC e 8-OHdG foram avaliados por ensaio imunoenzimático e VIT E por cromatografia líquida de alta eficiência. Os níveis totais de proteínas (pt) foram determinados por kits Labtest. Com base no número de oócitos recuperados, as pacientes foram divididas em más-responderas ( $\leq 3$  oócitos; 24 pacientes) ou normo-responderas ( $> 3$  oócitos; 61 pacientes). **RESULTADOS:** as más-responderas apresentaram níveis séricos de AOPP e MDA significativamente menores, maiores níveis circulantes de 8-OHdG e maiores níveis foliculares de FOX-1 quando comparadas às normo-responderas. **CONCLUSÕES:** níveis circulantes diminuídos de AOPP

e MDA, indicadores de dano oxidativo às proteínas e lipídicos, respectivamente, e aumentados de 8-OHdG, marcador de dano oxidativo ao DNA, assim como maiores níveis foliculares de FOX1 no dia da captação oocitária, sugestivo da presença de estresse oxidativo no microambiente folicular, podem estar relacionados a má resposta à EOC em ciclos de FIV. **PALAVRAS-CHAVE:** ICSI; resposta à hiperestimulação ovariana controlada; estresse oxidativo; fluido folicular; soro; **SUPOORTE:** FAPESP (Proc. 2008/58197-6), CNPq (Proc. 474858/2009-0), INCT.

## P70 - Fator de estimulação de colônia de granulócito (g-CSF) pode melhorar resultados em ciclos de fertilização in vitro em más respondedoras

Arnaldo Schizzi Cambiaghi, Rogério de Barros Ferreira Leão e Patricia Figueiredo do Nascimento

IPGO - Instituto de Ginecologia, Obstetricia e Medicina da Reprodução

**OBJETIVO:** O objetivo do estudo foi avaliar a eficácia do G-CSF em melhorar a resposta em ciclos de Fertilização in vitro (FIV) de pacientes más respondedoras. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foi realizado um estudo prospectivo de Julho a Dezembro de 2011, onde foram selecionadas 10 mulheres que seriam submetidas a ciclos de FIV e que cumpriam os seguintes critérios: 2 falhas prévias de FIV em ciclos com menos de 3 óvulos e FSH sérico normal no terceiro dia do ciclo. Todas foram submetidas ao mesmo protocolo de estimulação ovariana realizado no seu último ciclo, associado a 0,25 ml Filgrastim 300 mcg/ml subcutâneo em dias alternados a partir do início da estimulação ovariana e repetido por 4 vezes. As variáveis estudadas foram: número de oócitos, número de oócitos maduros e número de embriões, expressas como médias; e taxa de gravidez, expressa em porcentagem. As variáveis foram comparadas entre o ciclo atual e o último ciclo prévio. Médias foram comparadas utilizando teste t de Student. Para comparar a taxa de gravidez, foi realizado teste exato de Fisher. **RESULTADOS:** No ciclo prévio, sem G-CSF, tinham sido obtidos em média 0,9 oócito, 0,7 oócito maduro e 0,5 embrião, sem nenhuma gravidez. Nos ciclos com G-CSF, foram obtidos 3,4 oócitos, 2,3 oócitos maduros, 1,8 embriões e taxa de gravidez de 20%. Apesar do aumento em todos os parâmetros, nenhum teve diferença estatisticamente significativa. **CONCLUSÃO:** Em mulheres más respondedoras, a terapia adjuvante com G-CSF parece aumentar o número de oócitos e embriões, assim como melhorar a taxa de gravidez. Entretanto, são necessários estudos com maiores casuísticas para se confirmar a eficácia do tratamento neste grupo de pacientes.

## P71 - Prevalência de causas de infertilidade em pacientes atendidos em um serviço de reprodução assistida

Mônica Canêdo Silva Maia; Tatiana Moreira Da Silva; Jalsi Tacon Arruda; Mário Silva Approbato

Universidade Federal de Goiás, Hospital das Clínicas, Laboratório de Reprodução Humana

**OBJETIVO:** O objetivo do presente estudo foi descrever a prevalência das causas de infertilidade em casais atendidos em um serviço de Reprodução Humana.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Foi realizada uma análise retrospectiva e quantitativa utilizando planilha Excel do banco de dados do serviço. **RESULTADOS:** Foram estudados 428 casais atendidos no período de Janeiro de 2008 a Dezembro de 2011. Esses casais apresentaram 480 causas de infertilidade, já que a associação de fatores é comum. O fator mais frequente foi o tubário-peritoneal, correspondendo a 160 casos (37,4%), destes, 88 (55,0%) foram mulheres arrependidas da laqueadura tubária (LTB) prévia. Em seguida: fator masculino com 157 registros (36,7%) e endometriose com 50 registros (11,7%). Com menor frequência: fator ovariano/ovulatório com 25 casos (5,8%), infertilidade sem causa aparente 23 casos (5,4%), fator uterino/cervical 5 registros (1,2%) e causa sistêmica 8 registros (1,8%).

**CONCLUSÃO:** Os resultados analisados demonstraram que o fator predominante como causa de infertilidade foi o tubário-peritoneal, relacionado em grande parte, à esterilização cirúrgica. Os resultados obtidos estão de acordo com os descritos na literatura.

**PALAVRAS-CHAVE:** infertilidade, fator tubário.

## P72 - Fator estimulador de colônia de granulócito (G-CSF) como terapia adjuvante em ciclos de fertilização in vitro pode ser uma alternativa para mulheres com falhas repetidas de implantação

Arnaldo Schizzi Cambiaghi, Rogério de Barros Ferreira Leão e Patricia Figueiredo do Nascimento

IPGO - Instituto de Ginecologia, Obstetricia e Medicina da Reprodução

**OBJETIVO:** O objetivo do estudo foi avaliar a eficácia do G-CSF em melhorar as taxas de implantação e gravidez em ciclos de Fertilização in vitro (FIV) em pacientes com falhas repetidas de implantação. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foi um estudo prospectivo realizado entre Novembro de 2011 e Março de 2012, onde foram selecionadas 20 mulheres que seriam submetidas a ciclos de FIV com antecedente de pelo menos 2 falhas em ciclos de FIV com transferência de pelo menos um embrião, idade menor ou igual a 40 anos e FSH sérico normal em fase folicular inicial. As pacientes foram divididas aleatoriamente em dois grupos. Todas foram submetidas ao mesmo protocolo de indução ovariana com antagonista de GnRH e hMG. No grupo 1, além do suporte usual de fase lútea, as mulheres receberam 0,25 ml de Filgrastim 300 mcg/ml subcutâneo em dias alternados a partir do dia da transferência de embriões até a confirmação de saco gestacional ao ultrassom realizado 4 semanas após a transferência. No grupo 2, receberam somente suporte de fase lútea. As variáveis estudadas foram: idade, número de oócitos, número de oócitos maduros e número de embriões, expressas como médias; e taxa de implantação e gravidez, expressas em porcentagem. Médias foram comparadas utilizando teste T de Student. Para comparar as taxas, foi realizado teste exato de Fisher. **RESULTADOS:** Não houve diferença em relação à idade, número de oócitos, oócitos maduros e embriões entre os dois grupos. No grupo que utilizou G-CSF, foram observadas maiores taxas de implantação (19% versus 10%) e de gravidez (40% versus 20%). Os resultados não foram estatística-

mente significativos, talvez devido ao pequeno número de casos. **CONCLUSÃO:** Terapia adjuvante com G-CSF pode melhorar a taxa de gravidez em ciclos de FIV de pacientes com antecedente de falhas prévias. Entretanto, estudos com casuísticas maiores devem ser feitos para se confirmar sua eficácia assim como o grupo de pacientes que poderiam ser beneficiadas com seu uso.

### P73- Injeção intra-uterina de fator de estimulação de colônia de granulócito (G-CSF) para expandir endométrio fino em ciclos de fertilização in vitro: Relato de 6 casos

Arnaldo Schizzi Cambiaghi, Rogério de Barros Ferreira Leão e Patrícia Figueiredo do Nascimento

IPGO - Instituto de Ginecologia, Obstetria e Medicina da Reprodução

**OBJETIVO:** O objetivo do estudo foi avaliar a eficácia do G-CSF para expandir endométrio fino arresposivo em ciclos de transferência de embriões. **MATERIAL E MÉTODOS:** Nós relatamos 6 casos de pacientes submetidas a ciclos de FIV com endométrio sem resposta (<7mm) mesmo com altas doses de estradiol e terapia com sildenafil. Todas foram submetidas a injeção intra-uterina de 1 ml de Filgrastim 300UI/ml. Três delas eram receptoras de oócitos doados e 2 estavam em ciclo de transferência de embrião congelados. Elas receberam a injeção no 7º dia do preparo endometrial. Uma delas estava em ciclo de estimulação ovariana para FIV e recebeu a injeção de G-CSF no 8º dia da estimulação ovariana. **RESULTADOS:** A paciente em ciclo de estimulação ovariana teve expansão do endométrio para 8 mm no dia do HCG e obteve gravidez. As receptoras de óvulos doados mantiveram endométrio abaixo de 7 mm e os embriões foram congelados. Uma das pacientes do ciclo de congelado atingiu 7 mm de endométrio e o embrião foi transferido, mas beta-HCG negativo. A outra mulher em ciclo de congelado não teve expansão do endométrio e o embrião não foi transferido. **CONCLUSÃO:** Injeção intra-uterina de G-CSF não apresentou efeito na linha endometrial em pacientes com endométrio fino sem resposta ao preparo endometrial.

### P74 - Injeção intra-uterina de gonadotrofina coriônica humana (HCG) antes da transferência embrionária pode melhorar a taxa de gravidez em ciclos de fertilização in vitro de pacientes com múltiplas falhas de implantação

Arnaldo Schizzi Cambiaghi, Rogério de Barros Ferreira Leão e Patrícia Figueiredo do Nascimento

IPGO - Instituto de Ginecologia, Obstetria e Medicina da Reprodução

**OBJETIVO:** O objetivo do estudo foi avaliar a eficácia da injeção intra-uterina de hCG antes da transferência de embriões em melhorar as taxas de implantação e gravidez em pacientes com falhas em ciclos de fertilização in vitro (FIV) prévias.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Foi um estudo prospectivo realizado entre janeiro e abril de 2012, onde foram selecionadas 11 mulheres que seriam submetidas a ciclos de FIV com antecedente de pelo menos 2 falhas anteriores em ciclos com transferência de pelo menos um embrião, idade menor ou igual a 40 anos e FSH sérico normal em fase folicular inicial. Todas foram submetidas ao mesmo protocolo de estimulação ovariana usada no seu último ciclo. Os critérios de exclusão foram: linha endometrial no dia do hCG não maior que 7mm e menos de 2 embriões para transferência. Todas foram submetidas à injeção intra-uterina de 500 UI de hCG 6 horas antes da transferência. As variáveis estudadas foram: número de oócitos, número de oócitos maduros e número de embriões, expressas como média; e taxa de implantação e gravidez, expressas em porcentagem. Médias foram comparadas utilizando teste T de Student. Para comparar as taxas, foi realizado teste exato de Fisher. **RESULTADOS:** Não houve diferença em relação ao número de oócitos, oócitos maduros e embriões entre os dois grupos. Com o uso do hCG tivemos um aumento na taxa de implantação (de 0 para 14%) e gravidez (0 para 36%). Os resultados não foram estatisticamente significativos, talvez devido ao pequeno número de casos. **CONCLUSÃO:** a injeção intra-uterina de hCG antes da transferência de embriões pode melhorar as taxas de implantação e gravidez em pacientes com história de falhas prévias de implantação. Apesar de não ser um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, os resultados são encorajadores para que maiores estudos sejam realizados para se avaliar a real eficácia desta terapia neste grupo de pacientes.

### P75 - Alterações no exame seminal de pacientes atendidos em um serviço de reprodução assistida

Mônica Canêdo Silva Maia; Tatiana Moreira Da Silva; Jalsi Tacon Arruda; Mário Silva Approbato

Universidade Federal de Goiás, Hospital das Clínicas, Laboratório de Reprodução Humana

**OBJETIVO:** Realizar uma pesquisa, através de nosso banco de dados, dos resultados de exame seminal de pacientes atendidos em um serviço de Reprodução Humana, verificando, entre os exames anormais, qual alteração teve maior prevalência. **RESULTADOS:** Dos 268 exames analisados, 183 (68,3%) apresentaram alterações no líquido seminal, sendo que: 11 (6,0%) eram oligozoospermicos; 7 (3,8%) astenozoospermicos; 11 (6,0%) azoospermicos; 79 (43,2%) teratozoospermicos. Dois tipos de alterações: oligoastenozoospermia 7 casos (3,8%); oligoteratozoospermia 16 casos (8,8%); astenoteratozoospermia 19 casos (10,4%). Em 33 casos (18,0%) havia os três tipos de alterações. **CONCLUSÕES:** As causas mais frequentes de subfertilidade masculina são: varicocele, obstruções, criptorquidia, infecções, gonadotoxinas, disfunção ejaculatória, falência testicular, causas genéticas e fatores ambientais como o fumo e álcool. Verificamos que entre os casos analisados há altas taxas de exame do sêmen alterado. A principal anormalidade verificada no período estudado foi na morfologia dos espermatozoides (teratozoospermia) que tem sido correlacionada clinicamente com varicocele e tabagismo. **PALAVRAS-CHAVE:** espermograma, infertilidade masculina.

## P76-Exposição a dietilestilbestrol (DES) ainda presente, requer atenção na RA: Modificações epigenéticas em curso?

Santos, M.J.B.<sup>1 2</sup>; Mancebo, A.C.A.<sup>1</sup>; Antunes, R.A.<sup>1</sup>; Areas, P.C.F.<sup>1</sup>; Souza, M.M.<sup>1</sup>; Souza, M.C.B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>FERTIPRAXIS- Clínica de Reprodução Humana - RJ;  
<sup>2</sup>Profeminina - Centro de Saúde da Mulher - RJ

**INTRODUÇÃO:** A exposição intra-útero ao DES tem impacto negativo sobre a prole das pacientes submetidas a seu uso. Embora proibido há pelo menos 40 anos, seguimos diagnosticando (Santos e col, 2011) modificações uterinas, possivelmente na segunda geração dos casos. É esperado que algumas destas mulheres busquem as técnicas de RA. **OBJETIVO:** Demonstrar que ainda existem pacientes sob os efeitos do DES como dificultador reprodutivo, o que exige atenção aos métodos de imagem, para diagnóstico e acompanhamento adequados. **MATERIAL E MÉTODO:** Descrevemos 01 caso clínico em paciente de 34 anos com infertilidade primária há 2 anos e 4 meses. Ciclos regulares, útero T-shaped na HSG, segmento inferior longo, cavidade hipoplásica, OI incompetente (achados confirmados na Histeroscopia). Espermatograma normal. Há histórico materno anterior de uso de medicações hormonais na sua gravidez, embora com dificuldade de reconhecer uma lista de nomes comerciais anteriores, do mesmo. Em 2010 submetida a IUI sem êxito. Em 2011 ciclo de ICSI, protocolo com valerato de estradiol 4mg/dia-7 dias, prévio à menstruação. Protocolo: rFSH 2250 UI + antagonista GnRH (4 doses), rhCG. Obteve-se 6 oócitos MII, dos quais 5 fertilizaram, sendo transferidos 2 embriões de boa qualidade, no dia 3. Resultou gestação única, parâmetros ducto venoso, osso nasal e translucência nucal sem anormalidades, colo uterino fechado (12,5 semanas). Monitorada, USG com 14 semanas demonstrava colo uterino aberto, sendo realizada a circlagem. Com 24 semanas, US morfológico normal, segue bem. **DISCUSSÃO:** Estes efeitos DES não deveriam mais estar sendo encontrados. Persiste a dificuldade no relato de dados das mães, que mostram alguma "culpa" quando questionadas. A RA parece ser uma boa opção para as pacientes, e os relatos devem ser mantidos, na busca de uma explicação genética adequada, além de apontar para a necessidade de monitoragem obstétrica. **CONCLUSÃO:** O atual relato de gravidez em paciente de RA sugere também incluir a possibilidade de busca de alterações epigenéticas estendidas para sua prole. Tais registros devem ser estimulados para alcançar uma explicação genética adequada, além de apontar para a necessidade de monitoragem obstétrica.

## P77 - Processamento seminal por gradiente coloidal seleciona espermatozoides de acordo com a atividade mitocondrial

Pariz, JR<sup>1</sup>; Monteiro, RAC<sup>1</sup>; Pieri<sup>1,2</sup>, PC; Hallak, J<sup>1,3,4</sup>.

<sup>1</sup>Androsciece - Clínica e Laboratório de Referência em Andrologia, Criopreservação e Reprodução Masculina, SP-SP; <sup>2</sup>Laboratório de Biologia Molecular e Celular - LIM15 - Faculdade de Medicina da USP, SP-SP; <sup>3</sup>Setor de Andrologia, Departamento de Urologia da Faculdade de Medicina da USP, SP-SP; <sup>4</sup>Unidade de Toxicologia Reprodutiva, Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP, SP-SP.

**OBJETIVO:** Processamento seminal é uma técnica utilizada para separar gametas viáveis, remover toxinas e otimizar o potencial fértil, entretanto, a avaliação das características funcionais dos espermatozoides, importantes para o entendimento das interações celulares nos processos de fertilização, são frequentemente ignoradas durante os procedimentos de reprodução assistida. O objetivo deste estudo é avaliar o papel de seleção de espermatozoides de acordo com sua atividade mitocondrial durante o processamento seminal por gradiente coloidal. **MATERIAL E MÉTODO:** A atividade mitocondrial dos espermatozoides foi avaliada pelo método de coloração por 3,3'-diaminobenzidina (DAB), no qual o corante é oxidado e depositado na bainha mitocondrial ao longo da peça intermediária dos espermatozoides, permitindo classificá-los como: classe I (100% da peça intermediária corada), classe II (mais de 50% da peça intermediária corada), classe III (menos de 50% da peça intermediária corada) e classe IV (ausência de coloração na peça intermediária). Inicialmente, foi realizada a análise seminal de rotina de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (1999), seguida pelo processamento da amostra pelo método de separação por gradiente coloidal utilizando-se Isolate (Irvine Scientific), em que a força centrífuga (300 x g por 15 minutos) aplicada à amostra separa os espermatozoides viáveis, com melhor qualidade e depositados na camada inferior do tubo, dos espermatozoides não viáveis (camada superior do tubo). Foram avaliados a atividade mitocondrial dos espermatozoides da amostra à fresco, dos espermatozoides recuperados na camada inferior e da camada superior do processamento. **RESULTADOS:** Foram avaliadas 7 amostras seminais e os resultados estão ilustrados na tabela a seguir:

	À fresco	Viáveis	Não-viáveis
<b>Concentração (milhão/ml)</b>	92,29	73,57	31,57
<b>Motilidade (%)</b>			
Grau A	12,14	13,57	0
Grau B	42,86	60,14	35,71
Grau C	17,14	4,29	18,86
Grau D	27,86	8,57	32,14
<b>DAB (%)</b>			
Classe I	10,29	24,86	1,71
Classe II	44,43	54,29	23,37
Classe III	17,43	10,29	29,0
Classe IV	28,43	10,57	45,57

**CONCLUSÃO:** Podemos sugerir que o processamento seminal pelo método de gradiente coloidal pode ser utilizado para a separação de espermatozoides de acordo com a sua atividade mitocondrial, demonstrando sua eficácia como meio seletivo de espermatozoides viáveis. **PALAVRAS-CHAVE:** Sêmen, processamento seminal, atividade mitocondrial. P78

## P78 - Intervenção psicológica em um caso de gestação de substituição

Cássia Cançado Avelar, Ana Márcia de Miranda Cota, João Pedro Junqueira Caetano

Centro Pró-Criar Medicina Reprodutiva

**RELATO DE CASO:** de um casal em que a mulher deveria evitar a gravidez, tendo como indicação um tratamento de fertilização in vitro, com útero de substituição.

**OBJETIVO:** avaliação psicológica prévia ao tratamento do casal genético, da candidata ao empréstimo temporário do útero (donatária)- prima de 1ª grau da mãe genética, e sua família. **MÉTODO:** Acompanhamento psicológico do casal genético, da donatária, seu esposo e filha. Foram realizadas sessões psicológicas onde foi utilizada entrevista centrada no problema e entrevistas semi-estruturadas específicas para tratamentos de gestação de substituição. Aplicou-se o teste desenho da família à filha da candidata ao empréstimo temporário do útero. **RESULTADOS:** Todos os envolvidos tiveram atendimento psicológico individual e em grupo, permitindo a expressão de sentimentos e significados para tomada de decisão. Na consulta com casal genético levantamos o histórico clínico, bem como os sentimentos diante da indicação do tratamento. Foi relatado, por ambos, felicidade com a possibilidade do tratamento e a certeza desta escolha. Na consulta com a donatária e esposo, foram avaliados os vínculos com o casal biológico, a motivação e compreensão com relação às implicações psicossociais do tratamento. Em consulta individual, a donatária relatou forte vínculo afetivo com a prima e o desejo genuíno de ajuda-la a ter o filho que desejava. Seu esposo, em consulta individual, relatou estar de acordo com a esposa com relação à gestação de substituição, porém disse do desejo, contrário ao da esposa, por outro filho, relatando ainda sua preocupação com a reação de seus familiares frente ao tratamento – solicitado conversa com os parentes para uma definição sobre o tratamento. Foi realizada uma consulta com a filha do casal, de 3 anos, quando foi aplicado o teste do desenho da família, para avaliar a compreensão da criança com relação ao tratamento, com primeiro diagnóstico favorável, porém com indicação de continuidade de acompanhamento psicológico no decorrer do processo. Na última sessão, o marido da candidata ao empréstimo temporário do útero decidiu não realizar o tratamento, devido a fatores familiares. **CONCLUSÃO:** Os resultados mostraram a importância da intervenção psicológica prévia ao tratamento, uma vez que o tratamento foi cancelado, evitando problemas futuros.

## P79 - Gestação de substituição: Experiência de 10 anos na avaliação psicológica

Cássia Cançado Avelar, Ana Márcia de Miranda Cota, João Pedro Junqueira Caetano

Centro Pró-Criar Medicina Reprodutiva

**OBJETIVO:** analisar os aspectos psicológicos da gestação de substituição, relatando a experiência de 10 anos no acompanhamento de pacientes que buscaram tratamento de gestação de substituição, entre 2002 e 2012. **PACIENTES:** 26 pacientes que buscaram tratamento de gestação de substituição. **MÉTODO:** levantamento da

ficha médica e psicológica dos pacientes, com análise qualitativa dos casos em que o tratamento foi realizado e dos casos que não foram concluídos. Destacou-se aspectos relacionados à indicação médica, avaliação psicológica das pessoas envolvidas e a discussão da posição ética e legal para o procedimento. **RESULTADO:** 22% (6) dos casos tiveram parecer favorável tanto psicológico, quanto do comitê de ética tendo tido os tratamentos realizados, resultando em gravidez. 12% (3) dos casos tiveram parecer favorável tanto psicológico, quanto do comitê de ética, os tratamentos foram realizados, sendo que em dois casos o resultado foi negativo e em um o tratamento foi cancelado, devido à má resposta ovulatória da mãe biológica. Em 12% (3) dos casos, os pacientes tiveram uma primeira consulta médica/psicológica, porém não deram continuidade ao processo, não realizando tratamento. 15% (4) dos casos foram avaliados psicologicamente como inaptos, devido avaliação de relações inadequadas para o tratamento ou com fins lucrativos. 12% (3) dos casos foram indeferidos pelo comitê de ética, sendo que em um caso era de casal homoafetivo em que a paciente não tinha útero e queria utilizar seus óvulos com sêmen doado e transferir os embriões na parceira; um caso em que a paciente teria que utilizar óvulos doados e útero de substituição e um caso onde a paciente tinha problemas de saúde e riscos com uso medicamento para estimulação. Em 12% (3) dos casos, as pacientes realizaram tratamento de criopreservação oncológica, para realização de tratamento de gestação de substituição futura. Atualmente, 15% (4) dos pacientes estão com tratamento em avaliação ou andamento.

**CONCLUSÃO:** A gestação de substituição é uma alternativa para que pacientes sem útero funcional possa atingir a maternidade, desde que bem conduzida do ponto de vista não só médico, mas também psicológico e ético.

## P80 - Eficiência da vitrificação de óvulos para pacientes más respondedoras

Azambuja R<sup>1</sup>; Kvitko D<sup>1</sup>; Okada L<sup>1</sup>; Reig V<sup>1</sup>; Badalotti M<sup>1,2</sup>; Petracco A<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Fertilitat- Centro de Medicina Reprodutiva. Porto Alegre, RS. Brasil; <sup>2</sup>Departamento de Ginecologia, Faculdade de Medicina, PUCRS Porto Alegre, RS. Brasil

**OBJETIVO:** Avaliar se existe um efeito positivo em criopreservar oócitos de um ciclo prévio, para posterior utilização, juntamente com um novo ciclo, nas pacientes más respondedoras. **MATERIAIS E MÉTODOS:** As pacientes que apresentavam uma baixa resposta à estimulação ovariana, criopreservavam oócitos deste ciclo. Quando era realizada uma nova estimulação, os oócitos a fresco, juntamente com os previamente armazenados, eram utilizados para a fertilização. Esta alternativa foi oferecida para 29 pacientes, com idade média de 39,7 anos, entre os anos de 2009 a 2012. A estimulação hormonal foi realizada com gonadotrofina, após dessensibilização hipofisária com acetato de leuprolide. A captação oocitária ocorreu por ecografia pélvica transvaginal 34 ± 2 horas após a administração de gonadotrofina coriônica humana. As amostras seminais eram preparadas usando gradiente de concentração descontínuo. Os oócitos foram criopreservados, pelo método de vitrificação por Kuwayama et al. (1998), e descongelados no mesmo dia da aspiração folicular. Todos os oócitos viáveis eram então inseminados através da injeção intracitoplasmática do espermatozóide (ICSI). As transferências foram realiza-

das, sob controle ultrassonográfico, e todas as pacientes foram mantidas com 600mg de progesterona diariamente durante 12 semanas quando o resultado do  $\beta$ -Hcg era positivo. **RESULTADOS:** Foram congelados e posteriormente descongelados 96 oócitos (média de 3,3 oócitos/paciente), sendo que 86 (70,8%) sobreviveram. Obtivemos 11 gravidezes (37,9%), destas 10 gravidezes clínicas (34,5%). **CONCLUSÕES:** Estes resultados preliminares mostraram que, para as pacientes com uma baixa resposta à estimulação ovariana, a alternativa de realizar um ciclo prévio para congelar oócitos parece ter um efeito positivo. As pacientes deste estudo, utilizando-se desta alternativa, obtiveram uma taxa de gestação superior aos 22% observada em ciclos à frescos para mulheres acima de 40 anos, nesta clínica.

## P81 - Comparação das taxas de gestação entre transferência no terceiro e quinto dia

Reig V<sup>1</sup>; Azambuja R1; Kvitko D<sup>1</sup>; Okada L<sup>1</sup>; Badalotti M<sup>1,2</sup>; Petracco A<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Fertilitat- Centro de Medicina Reprodutiva. Porto Alegre, RS. Brasil; <sup>2</sup>Departamento de Ginecologia, Faculdade de Medicina, PUCRS Porto Alegre, RS. Brasil

**OBJETIVO:** Determinar se existe diferença na taxa de gravidez, de acordo com o dia da transferência embrionária (terceiro ou quinto dia após a inseminação). **MATERIAIS E MÉTODOS:** Através de um estudo retrospectivo observacional, foram analisados 409 ciclos de pacientes entre os anos de 2011 e 2012. Estas pacientes submetem-se a uma estimulação hormonal realizada com gonadotrofina, após dessensibilização hipofisária com acetato de leuprolide. A captação oocitária ocorreu por ecografia pélvica transvaginal 34 ± 2 horas após a administração de gonadotrofina coriônica humana. As amostras seminais eram preparadas usando gradiente de concentração descontínuo. Os oócitos eram então inseminados através da injeção intracitoplasmática do espermatozóide (ICSI). As transferências embrionárias foram realizadas no terceiro ou quinto dia de cultivo, sob controle ultrassonográfico, e todas as pacientes foram mantidas com 600mg de progesterona diariamente durante 12 semanas quando o resultado do  $\beta$ -hCG era positivo. **RESULTADOS:** A idade média das pacientes que transferiram no terceiro dia foi 36,12 e no quinto dia foi 33,96 anos. As taxas de gestação e gestação clínica estão relacionadas na tabela 1. Foi observada diferença estatística ( $p < 0,05$ ) na taxa de gestação, contudo esta diferença não se manteve na gestação clínica.

**Tabela 1.** Taxas de gestação e gestação clínica de acordo com o dia da transferência embrionária (\* $p < 0,05$ ).

DIA	GESTAÇÃO	GESTAÇÃO CLÍNICA	TOTAL
DIA 3	131 (44,7%)	119 (40,6%)	293
DIA 5	67 (57,8%)*	55 (47,4%)	116

**CONCLUSÕES:** Os resultados demonstraram que não há diferença significativa na taxa de gravidez clínica de acordo com o dia da transferência. Portanto, sugere-se que a data da transferência não interfere no resultado de gestação. P82

## P82 - Análise dos pronúcleos e sua relação com a clivagem embrionária

Andrea Mesquita Lima, Sebastião Evangelista Torquato Filho, Tullius Augustus Freitas, Fábio Eugênio Magalhães Rodrigues, Marcus Aurélio Bessa Paiva, Eduardo Gomes Sá

BIOS – Centro de Medicina Reprodutiva do Ceará

**OBJETIVOS:** Correlacionar tamanho e posição dos pronúcleos, bem como alinhamento dos nucléolos, com a clivagem no terceiro dia de cultivo embrionário. **MATERIAL E MÉTODOS:** No período de Janeiro de 2012 a Maio de 2012, foram analisados 230 ciclos de ICSI. Foram analisados 1129 zigotos entre 16 a 18 horas de cultivo após Injeção Intra Citoplasmática de Espermatozóide (ICSI). Os pronúcleos foram avaliados quanto ao tamanho e seu posicionamento no citoplasma, e os nucléolos foram avaliados de acordo com alinhamento ou não entre eles. A morfologia dos pronúcleos foi dividida em 3 grupos: Grupo A (pronúcleos centralizados e de tamanho equivalente), Grupo B (pronúcleos não centralizados e de tamanho equivalente), e Grupo C (pronúcleos de diferentes tamanhos, centralizados ou não). Os nucléolos foram divididos em 2 grupos: Grupo A (nucléolos alinhados), e Grupo B (nucléolos não alinhados). **RESULTADOS:** No quesito morfologia dos pronúcleos, os zigotos do Grupo A apresentaram maior média no número de células no terceiro (5.2) em relação aos zigotos do Grupo B (5.0) e ao Grupo C (4.9). No quesito alinhamento dos nucléolos, também foi verificada uma diferença no número médio de células no terceiro dia. Zigotos com nucléolos alinhados apresentaram média de 5,8 células, número maior do que os zigotos sem alinhamento de nucléolos (5,5).

Numa avaliação conjunta dos dois quesitos (tamanho e posição dos pronúcleos e alinhamento dos nucléolos), só verificou-se diferença significativa no número de células no dia 3 na comparação entre pronúcleos de mesmo tamanho e centralizados com nucléolos não alinhados. **CONCLUSÃO:** Não foi verificada diferença significativa entre os tipos de distribuição nucleolar, no entanto, o posicionamento e tamanho dos pronúcleos evidencia que tal análise pode ser algo relevante para a rotina laboratorial.

## P83 - Avaliação da morfologia do oócito

Andrea Mesquita Lima, Sebastião Evangelista Torquato Filho, Tullius Augustus Freitas, Fábio Eugênio Magalhães Rodrigues, Marcus Aurélio Bessa Paiva, Eduardo Gomes Sá

BIOS – Centro de Medicina Reprodutiva do Ceará

**OBJETIVO:** Avaliar a influência das características morfológicas dos oócitos maduros nas taxas de fertilização e clivagem em casos de ICSI. **MÉTODOS:** Foram avaliados oócitos maduros de pacientes submetidas a tratamento de fertilização in vitro. As características observadas foram tanto citoplasmáticas como extra-citoplasmáticas, e tais características foram comparadas e verificadas se influenciariam nas taxas de fertilização e qualidade do embrião no terceiro dia de cultivo. A morfologia oocitária foi avaliada nos seguintes parâmetros: forma, tamanho do espaço perivitelínico, presença de vacúolos, grânulos citoplasmáticos e anormalidades da zona pelúcida e corpúsculo polar. A qualidade do embrião no dia 3 de desenvolvimento foi determinada da seguinte maneira: embrião de boa qualidade aqueles que possuíam a partir de 6 células, até 20% de fragmentação e blastômeros simétricos. Os demais foram considerados de baixa qualidade. Casos com fator masculino de infertilidade serão exclu-

idos do estudo para que a baixa qualidade do sêmen não influencie na qualidade da fertilização e do embrião. **RESULTADOS:** Dos oócitos analisados, 35% foram considerados morfológicamente normais e 65% apresentaram pelo menos uma alteração morfológica. Dentre as anormalidades, 10,3% correspondiam à fragmentação do corpúsculo polar, 3,9% a espaço perivitelínico aumentado, 42,0% às granulações no citoplasma e 43,8% à presença de duas ou mais anormalidades. O número de embriões de boa qualidade oriundos de oócitos morfológicamente normais foi significativamente maior do que quando os embriões eram formados a partir de óvulos com algum tipo de alteração. **CONCLUSÃO:** Tais dados sugerem que oócitos com alterações morfológicas possam gerar embriões de baixa qualidade, o que pode auxiliar na escolha de qual oócitos injetar, principalmente com a questão de números máximo de embriões permitidos para transferência, e em casos em que a paciente não opta pelo congelamento de embriões excedentes, e até mesmo em locais onde a criopreservação é proibida.

## P84 - Relevância da análise do zigoto 25 horas após a ICSI

Andrea Mesquita Lima, Sebastião Evangelista Torquato Filho, Tullius Augustus Freitas, Fábio Eugênio Magalhães Rodrigues, Marcus Aurélio Bessa Paiva, Eduardo Gomes Sá

BIOS – Centro de Medicina Reprodutiva do Ceará

**OBJETIVO:** Avaliar a importância da observação da clivagem precoce, como parâmetro para escolher o melhor embrião para transferir. **MÉTODOS:** Foram analisados 650 zigotos 25 horas após a Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI). Três níveis de desenvolvimento foram observados, dividindo a análise em 3 grupos: Grupo 1 (zigotos que continuaram com 2 pronúcleos), Grupo 2 (zigotos onde os pronúcleos já haviam desaparecido) e Grupo 3 (zigotos que já estavam clivados). **RESULTADOS:** Dos 650 zigotos analisados após 25 horas, 22% continuaram com 2 pronúcleos, 41% haviam entrado em sigamia, ou seja, os pronúcleos já haviam desaparecido, e 37% haviam clivado precocemente, estando com duas células. Quando os embriões transferidos foram aqueles em que, com 25 horas, apresentaram 2 células, a taxa de gravidez foi superior (58%) quando comparada aos grupos 1 (25%) e 2 (17%). **CONCLUSÃO:** Uma observação 25 horas após a ICSI é um procedimento simples, rápido, podendo ser utilizado como critério de desempate na escolha de qual embrião transferir, visto que, neste trabalho, as taxas foram significativamente maiores.

## P85 - Diatermia ovariana guiada por ecografia transvaginal: Bovinos como modelo experimental

Anita Mylius Pimentel<sup>1,2</sup>; Daniela dos Santos Brum<sup>3</sup>; Fábio Gallas Leivas<sup>3</sup>; Lucia Maria Kliemann<sup>4</sup>; Edison Capp<sup>1,5</sup>; Helena von Eye Corleta<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; <sup>2</sup>Núcleo de Reprodução Humana – GERAR do Hospital Moínhos de Vento; <sup>3</sup>Laboratório de Biotecnologia da Reprodução (Biotech), Campus Uruguaiana, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA); <sup>4</sup>Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; <sup>5</sup>Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**INTRODUÇÃO:** A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é uma desordem endócrino-metabólica que apresenta pelo menos duas dessas três alterações: anovulação, hiperandrogenismo e ovários aumentados e policísticos à ecografia. O tratamento de primeira linha para infertilidade anovulatória de SOP é a indução da ovulação com citrato de clomifeno (CC). Entretanto 20% das pacientes não ovulam com o CC. Como segunda linha de tratamento utiliza-se a indução com gonadotrofinas ou a indução cirúrgica (diatermia ovariana) laparoscópica. A cauterização ovariana apesar de mais invasiva resulta em gestações únicas quando comparada ao uso de gonadotrofinas. **OBJETIVO:** Estabelecer uma técnica menos invasiva que a laparoscopia para cauterização ovariana: abordagem transvaginal sob controle ecográfico, utilizando vacas como modelo experimental. **Materiais e Métodos:** A escolha do animal foi baseada na similaridade anatômica do ovário comparado ao de mulheres. No dia do procedimento, as vacas foram anestesiadas, o guia da agulha acoplado ao transdutor transvaginal do ecógrafo. Após identificação ecográfica do ovário, a agulha de cauterização, confeccionada para este fim, era conectada ao eletrocautério. O ovário foi punccionado e aplicada voltagem de 40 W por 5s em 4 pontos do parênquima ovariano direito (total de 800 J de energia) e 80 W no esquerdo por 5s (1600 J de energia). Após dois dias as vacas foram abatidas. A pelve foi inspecionada e os ovários coletados. A lesão ovariana provocada pela cauterização é macro e microscopicamente (histologicamente) analisada, assim como possíveis lesões no trajeto da agulha. **RESULTADOS:** Nenhum animal apresentou lesões de eletrocaterização no trajeto da agulha, apenas nos ovários. Dos 22 ovários cauterizados, apenas dois não apresentaram lesão macroscópica por problemas de coleta no momento do abate, no frigorífico. Com isso, 20 ovários cauterizados apresentaram lesão característica macroscópica com alteração por calor e perfuração, e histológica típica de cauterização: necrose com infiltrado neutrocitário perivascular. Não houve diferença significativa na extensão da lesão ovariana com as diferentes energias aplicadas. **CONCLUSÃO:** a técnica se mostrou segura por via transvaginal, não havendo lesões extra-ovarianas, mesmo quando utilizado o dobro da energia indicada. **PALAVRAS-CHAVE:** Síndrome dos Ovários Policísticos, Diatermia Ovariana, Ecografia Transvaginal, Bovinos

## P86 - Gravidez gemelar em útero de substituição

Mônica Canêdo Silva Maia; Tatiana Moreira da Silva; Jalsi Tacon Arruda; Carolina Rodrigues de Mendonça; Fabiana Carmo Appabato; Mário Silva Appabato

Universidade Federal de Goiás, Hospital das Clínicas, Laboratório de Reprodução Humana

**INTRODUÇÃO:** Útero de substituição ou cessão temporária de útero, popularmente conhecido como barriga de aluguel, é a técnica de reprodução assistida indicada para os casais em que a mulher não possui o útero ou apresenta alguma contraindicação para gestar. O procedimento não poderá ter nenhum caráter comercial envolvido, já que o ordenamento jurídico e as normas éticas no Brasil consideram o corpo humano fora de comércio. **DESCRIÇÃO DO CASO:** No 1º semestre de 2012, FMVP, 33 anos e seu cônjuge ALMP, 33 anos, procuraram o Laboratório de Reprodução Humana (LABREP) HC/UFG com o objetivo de avaliar suas possibilidades reprodutivas. Frente a uma histerectomia realizada aos 13 anos na paciente devido a uma má formação, o casal foi inserido no programa de doação temporária de útero. A propedêutica incluiu: avaliação da função ovariana da pacien-

te, espermograma, completa avaliação do sêmen do marido e, ainda "screening" sorológico para o casal. Os resultados mostraram-se dentro da normalidade possibilitando a inserção deste casal no referido programa. A doadora do útero, MGMA, mãe da paciente, 51 anos, foi então submetida a devida avaliação médica, onde afastou-se possíveis patologias que caracterizassem risco à gestação. Em março/2012 realizou-se a Fertilização "in vitro" clássica obtendo-se 02 ovócitos e resultando em 01 embrião. Após 14 dias o exame  $\beta$ -HCG quantitativo mostrou-se negativo. Em maio/2012 foram captados 07 ovócitos obtendo-se 04 embriões, sendo que, houve a transferência de 02 e congelamento do restante. Em ambas as tentativas, utilizou-se cateter Sidney. Quatorze dias após a transferência dos embriões o exame de  $\beta$ -HCG resultou positivo (382,0 mUI/ml). A paciente retornou ao serviço para realização de USG, apresentando idade gestacional de 7 semanas e 4 dias, dois sacos gestacionais e BCF presentes. **COMENTÁRIOS:** A doação temporária de útero representa uma alternativa real para que pacientes sem útero funcional ou histerectomizados atinjam a maternidade, trazendo para nossos serviços de reprodução uma nova demanda e novas perspectivas. Este foi o primeiro caso inserido no programa de Doação Temporária de Útero do LABREP.

## P87 - Reação anafilática após inseminação intrauterina com sêmen de doador

Rodrigo de Carvalho Ribeiro, Raquel de Lima Leite Soares Alvarenga, Laila Succar Teixeira do Rosário Rahme, Bárbara Fernandes Cordeiro, Washington Canção Amorim, Patrícia Antonini Duarte

Cegonha Medicina Reprodutiva e Instituto de Saúde da Mulher

**OBJETIVO:** Relatar caso de reação anafilática após inseminação intrauterina (IIU) com sêmen de doador. **MATERIAL E MÉTODOS:** Paciente de 40 anos, marido azoospermico, sem história pregressa de alergias. A paciente relatou ciclo de inseminação com sêmen de doador realizada anteriormente em outra clínica. A indução da ovulação foi realizada com Menopur® 75ui por cinco dias e ultrassonografia seriada. No 11º. Dia do ciclo foram observados 2 folículos maiores de 17 mm e foi administrado Ovidrel® 250µg. A inseminação foi realizada 36 horas depois com amostra do banco de sêmen, criopreservada com Test Yolk Buffer (Irvine) e lavada com HTF-Hepes (Irvine) com 10% SSS (Synthetic Serum Substitute, Irvine), com o uso do cateter de Frydman (CCD). **RESULTADOS:** Após 3 horas da realização da inseminação a paciente apresentou dispneia, máculas eritematosas em todo o corpo, taquicardia e hipotensão. A paciente foi internada em unidade de terapia intensiva (UTI) e tratada com corticoide, antialérgico, adrenalina venosa e oxigenioterapia. A paciente evoluiu com estabilização do quadro, melhora do padrão respiratório e remissão das máculas eritematosas nas 12 horas seguintes à internação. Não apresentou alterações hemodinâmicas importantes e seus exames laboratoriais mostraram-se dentro da normalidade. Recebeu alta da UTI 24 horas depois, eupneica, afebril, hemodinamicamente estável e usando corticoide via oral. Não foi obtida gestação neste ciclo. **CONCLUSÕES:** A inseminação artificial intrauterina com fluidos contendo alérgenos potenciais representa risco para pacientes atópicas, mesmo na ausência de antecedentes clínicos de doença alérgica. Foram encontrados na literatura relatos similares (Wuthrich, Stern & Johanson, 1995; Al-Ramahi, Leader & Léveillé, 1998), nos quais pacientes apresentaram reação anafilática após inseminação intrauterina homóloga. O uso de substância proveniente de animais, como a gema de ovo, o soro fetal bovino, ou as albuminas bovinas traz consigo um risco aumentado de reações

alérgicas e deve ser evitado. Outros candidatos a causadores das reações alérgicas são os antibióticos adicionados rotineiramente aos meios de cultura: penicilina, sulfato de estreptomicina e gentamicina. Pacientes sabidamente alérgicas devem fazer ciclos de IIU com meios sem antibióticos.

## P88 - Avaliação da qualidade seminal pelo teste de redução da resazurina

Raquel de Lima Leite Soares Alvarenga, Laila Succar Teixeira do Rosário Rahme, Bárbara Fernandes Cordeiro, Maurício Novello, Rodrigo Carvalho Ribeiro, Patrícia Antonini Duarte  
Cegonha Medicina Reprodutiva e Instituto de Saúde da Mulher

**OBJETIVO:** O estudo foi realizado para avaliar a capacidade dos espermatozoides de alterar a cor da resazurina e sua correlação com os parâmetros seminais de acordo com a OMS (2010). A reação se baseia na capacidade desidrogenante dos espermatozoides vivos, que possuem enzimas capazes de liberar o hidrogênio de certos compostos resultantes do metabolismo anaeróbico do sêmen, os quais provocam a redução e a mudança da cor da resazurina, cromogênio aqui proposto para a avaliação da vitalidade dos espermatozoides. Espermatozoides ativos metabolicamente reduzem a resazurina (cor azul) para resorufina (cor rosa). **MATERIAL E MÉTODOS:** 16 ejaculados foram avaliadas pelo espermograma (OMS, 2010) e pelo Teste de Redução da Resazurina. A resazurina foi adicionada a cada amostra de sêmen (8,8 µg / mL de sêmen) e as amostras foram incubadas a 37 oC durante um máximo de 2 h, e as alterações de cor indicativas de redução do corante foram anotadas de acordo com tabela de tons. Os resultados foram comparados com outros parâmetros espermáticos para avaliar a qualidade do sêmen. **RESULTADOS:** Foi observada correlação positiva entre as amostras de que alteraram a cor do corante e a concentração de espermatozoides móveis na amostra. O Teste de Redução da Resazurina indicou diferença significativa na taxa de testes positivos entre as amostras de sêmen apresentando parâmetros seminais normais em relação a amostras com parâmetros anormais. **CONCLUSÕES:** O Teste de Redução da Resazurina mostrou-se útil para determinar o potencial de fertilidade de amostras de sêmen. Este teste pode ser realizado com um volume relativamente pequeno de sêmen, é barato, de fácil execução e não requer o uso de microscopia.

## P89 - Uso de letrozole em pacientes com baixa resposta ao estímulo ovariano controlado: um protocolo econômico e eficiente

Adriana de Goes Soligo<sup>2</sup>, MD, M.Sc.; Rosane S Rodrigues<sup>2</sup>, MD, M.Sc.; Carla Iaconelli<sup>2</sup>, MD; Amanda Setti<sup>1</sup>, B.Sc.; Assumpto Iaconelli Jr<sup>1</sup>, MD; Edson Borges Jr<sup>1</sup>, MD, PhD

<sup>1</sup>Fertility - Centro de Fertilização Assistida e Associação Instituto Sapientiae; <sup>2</sup>Fertility - Centro de Fertilização Assistida

**OBJETIVO:** Comparar o uso de letrozole e gonadotrofinas com o uso isolado de gonadotrofina para estímulo ovariano controlado (EOC) em mulheres com fator ovariano de infertilidade. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Este estudo de coorte transversal envolveu 113 pacientes, com idade  $\geq 30$  e  $\leq 45$  anos, submetidas a ciclos de ICSI. Todas as pacientes haviam obtido  $< 5$  óocitos em ciclos anteriores. No grupo experimental (grupo letrozole+FSH, n=35) as pacientes foram submetidas ao protocolo com uso de letrozole 5mg, no período de cinco dias, iniciado no 2º dia do ciclo, associado com uso de

FSH 225UI, iniciado no 5º dia do ciclo. No grupo controle (grupo FSH, n=78), foram incluídas pacientes que utilizaram FSH 300 UI, iniciado no 3º dia do ciclo. Em ambos os grupos, o bloqueio hipofisário foi realizado com antagonista do GnRH, cetrorelix com protocolo flexível. **RESULTADOS:** O grupo letrozole+FSH e grupo FSH não diferiram em relação à idade materna ( $39,3 \pm 4,8$  e  $38,2 \pm 4,5$ ,  $p=0,232$ ). A dose total de FSH administrado ( $1588 \pm 526$  UI e  $2491 \pm 575$  UI,  $p<0,001$ ) e os níveis de estradiol ( $305 \pm 217$  pg/ML e  $1347 \pm 1050$  pg/ML,  $p<0,001$ ) foram significativamente menores no grupo letrozole+FSH quando comparados ao grupo FSH. Ainda que tenham sido observados maiores números de folículos ( $4,9 \pm 3,6$  e  $11,4 \pm 9,8$ ,  $p<0,001$ ) e oócitos ( $3,6 \pm 2,8$  e  $8,1 \pm 7,2$ ,  $p<0,001$ ) no grupo FSH, a taxa de oócitos maduros foi similar entre os grupos (77,6 % e 76,7 %,  $p=0,880$ ). Não houve diferença entre o grupo letrozole+FSH e grupo FSH com relação à taxa de fertilização (61,0 % e 72,8,  $p=0,099$ ), porcentagem de embriões de boa qualidade (60,3 % e 68,9 %,  $p=0,315$ ), taxa de implantação (24,3 % e 26,2 %,  $p=0,851$ ) e taxa de gestação (29,2 % e 33,3 %,  $p=0,709$ ). **CONCLUSÕES:** O uso de letrozole associado com gonadotrofina constitui um protocolo promissor para o EOC em pacientes com fator ovariano de infertilidade, com utilização de menores doses de gonadotrofina, principalmente nos casos que apresentaram baixa resposta ovariana em ciclos prévios.

## P90 - Estimulação da ovulação em mulheres acima de 35 anos com baixa dose de FSH

Jalsi Tacon Arruda; Tatiana Moreira Silva; Mônica Canêdo Silva Maia; Mário Silva Approbato

Universidade Federal de Goiás, Laboratório de Reprodução Humana, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Pós Graduação em Ciências da Saúde

**OBJETIVOS:** Este estudo avaliou a eficácia da estimulação da ovulação controlada (EOC) com baixa dose de FSH-r em pacientes de 35 anos submetidas a técnicas de reprodução assistida. **METODOLOGIA:** Foram analisados 118 ciclos de FIV/ICSI entre os anos de 2010 e 2011 realizados em pacientes de 35 a 46 anos de idades. A EOC foi conduzida segundo padrões de rotina utilizando agonista ou antagonista do GnRH para bloqueio hipofisário, FSH-r para estimulação ovariana e hCGrecombinante para induzir a maturação folicular final. Dois grupos de estudo foram estabelecidos de acordo com a dose total de FSH-r administrada: G1- 51 pacientes que receberam no máximo 1600UI; G2- 66 pacientes que receberam mais de 1600UI. Análise estatística com nível de significância de  $p=0,05$ . **RESULTADOS:** a média de idade para o G1 foi de 39,05 anos ( $\pm 2,9$ ) e para o G2 foi de 38,5 anos ( $\pm 2,4$ ). A dose média no G1 foi de 1221UI ( $\pm 234$ ) e no G2 foi 2153UI ( $\pm 370$ ) apresentando diferença significativa ( $p<0,0001$ ). No G1 foram coletados em média 3,1 oócitos ( $\pm 3,1$ ) e no G2 foi de 2,8 ( $\pm 3,4$ ) sem diferença significativa ( $p=0,64$ ). **CONCLUSÕES:** Pacientes acima de 35 anos apresentam baixa reserva ovariana, necessitando de doses elevadas de FSH-recombinante (FSH-r) em ciclos de FIV/ICSI com taxas de sucesso reduzidas. Estudos mostram que doses menores de FSH-r podem selecionar oócitos com melhor potencial de desenvolvimento e proporcionam maiores chances de implantação e menor dano ao endométrio. Além da redução dos custos, o protocolo com baixa-dose de FSH-r pode ser eficaz em pacientes acima de 35 anos.

Estes resultados sugerem que o protocolo com baixa-dose de FSH-r pode ser capaz de selecionar oócitos de qualidade, diminuindo os efeitos prejudiciais das altas doses e diminuindo os custos do tratamento. **PALAVRAS-CHAVE:** FSH-r, oócitos, reprodução assistida.

## P91 - Aspectos psicológicos da ejaculação retardada: Estudo de caso

Dunga, A.L.S.

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Ejaculação retardada é a persistente dificuldade ou incapacidade de ejacular, apesar da presença do desejo sexual, ereção e estimulação adequada. As causas desta disfunção podem ser orgânicas, ingestão de drogas, especialmente medicamentos com efeitos antiadrenérgico, como resultado de intervenções cirúrgicas ou por fatores psicológicos. No que se refere à violência psicológica apresentam-se como determinantes o medo, culpa, ressentimento e passividade têm sido implicados, embora os estudos objetivos sejam raros. A escolha do objeto sexual dos homens com ejaculação retardada tem sido relatada por vários pesquisadores. Avaliação de resultados hoje consiste principalmente em relatos de casos ou relatórios individuais em pequenos grupos dos pacientes tratados sem controle. Em certa medida, apesar dos melhores resultados nos tratamentos terem sido relatados, alguns pacientes não respondem bem. Ainda não é possível de forma objetiva observar o sucesso ou fracasso. A impressão é que essa disfunção sexual é mais comum do que se previa e a falta de dados em breve deverá ser sanada. **MÉTODO:** relato de caso. **Objetivos:** investigar: aspectos psicológicos do homem com ejaculação retardada; implicações relacionais do bloqueio ejaculatório. **CONCLUSÃO:** foi possível concluir que os objetivos propostos foram alcançados. **PALAVRAS-CHAVE:** ejaculação retardada; psicoterapia; psicologia e sexualidade.

## P92 - Influencia dos fatores ambientais sobre a fertilidade masculina de pacientes do serviço de reprodução humana da zona da mata mineira

Polisseni, J<sup>1</sup>; Polisseni, F<sup>1</sup>; Ribeiro, Pc<sup>1</sup>; Rosa, Jv<sup>1</sup>; Oliveira, Nf<sup>1</sup>; Caetano, Jpj<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Clínica Pró-Criar/Monte Sinai

**OBJETIVO:** avaliar a influência dos seguintes fatores ambientais: estresse, uso de drogas, bebida alcoólica, fumo, medicamentos, IMC, presença de doenças infecciosas e crônicas, exposição a fatores ocupacionais, sobre a fertilidade masculina de pacientes submetidos à espermograma em processo de investigação para infertilidade conjugal. **MÉTODOS:** estudo retrospectivo, duplo cego. Pacientes (n=68) submetidos a análise espermática, no período de novembro de 2011 a maio de 2012, do serviço de reprodução humana da zona da mata mineira, foram avaliados por questionário clínico no dia da realização do espermograma e o ejaculado foi analisado pelos seguintes parâmetros, segundo OMS 2010: concentração, motilidade e morfologia espermática. O total de investigados foi dividido em grupos, segundo o resultado da análise dos parâmetros avaliados: normal ou alterado. Para análise estatística, foi

utilizado o teste do qui-quadrado ( $p < 0,05$ ). **RESULTADOS:** os indivíduos estudados tinham média de idade de  $38 \pm 7,9$  anos, uma concentração espermática de  $55,24 \pm 10,88$  espermatozoides por ml de sêmen, motilidade progressiva de  $34,8 \pm 0,63$  % do total de espermatozoides e morfologia normal de  $3,6 \pm 1,06$  % dos espermatozoides. Os parâmetros concentração e morfologia não foram influenciados pelas variáveis utilizadas para avaliação da influência dos fatores de risco na fertilidade dos pacientes. Entretanto os resultados indicam uma associação significativa entre a motilidade e uso de medicamento ( $p = 0,004$ ). Dentre os 50 indivíduos que não utilizavam medicamento, 76% apresentaram motilidade acima de 15M/ml e dentre os 18 que utilizavam medicamentos, apenas 38,8% não tinham alteração neste parâmetro analisado. A associação entre motilidade e outras duas variáveis tiveram uma significância pouco acima de 5%: doença infecciosa e motilidade ( $p = 0,054$ ) e exposição a agente químico e motilidade ( $p = 0,068$ ). **CONCLUSÕES:** dentre os parâmetros analisados a motilidade espermática é o fator que mais sofre influência sobre os fatores de risco aos quais os pacientes foram submetidos durante a vida. O uso de medicamento interfere de forma inversamente proporcional, sobre o a motilidade do sêmen, porém não exerceu influência na concentração e morfologia espermática dos pacientes estudados. **PALAVRAS-CHAVE:** Infertilidade masculina, fatores ambientais

### P93 - Perfil lipídico de oócitos maturados in vitro na presença ou ausência das células do cumulus: aplicações da espectrometria de massas no estudo do lipidoma e na criopreservação de gametas

Vireque AA<sup>1</sup>, Palmieri CP<sup>1</sup>, Tata A<sup>2</sup>, Santos GV<sup>2</sup>, Eberlin<sup>2</sup> MN, Rosa e Silva ACJS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ginecologia e Obstetrícia – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP; <sup>2</sup>Laboratório ThoMSON de Espectrometria de Massas – Instituto de Química - UNICAMP

**OBJETIVOS:** Estudos recentes demonstram a importância dos lipídios, sobretudo fosfolipídios (PLs) e ácidos graxos (AGs), na criopreservação de sêmen e embriões de mamíferos. A investigação da composição lipídica (ou lipidoma) do oócito pode melhorar a eficiência da suplementação dos meios de maturação in vitro (MIV) e soluções crioprotetoras e levar a avanços na MIV e criopreservação de oócitos humanos. A técnica de espectrometria de massas é utilizada com sucesso para estudos de lipidoma de células e tecidos. O objetivo deste trabalho é relatar a utilização da espectrometria de massas com ionização/dessorção a laser assistida por matriz (MALDI- MS) para obtenção de perfis lipídicos de oócitos bovinos maturados in vitro e dos respectivos meios de cultivo visando à aplicação na TRA humana. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Complexos cumulus-oócitos (COC) ou oócitos bovinos desnudos (OD) foram maturados in vitro em TCM199 com 10% soro, FSH (0,5µg/ml), LH (5 µg/mL) durante 24 h em atmosfera úmida, 5% de CO<sub>2</sub>, 38,5 °C. A seguir, os COCs foram mecanicamente desnudados, lavados e os oócitos dos 2 grupos (COC ou OD) acondicionados em microtubos contendo 50µL de solução metanol/água ultra-pura e estocados a 4 °C overnight. Grupos de 5 oócitos ou 2 µl dos meios TCM199 foram colocados sobre cada "spot" da placa MALDI e recobertos com a matriz DHB. Para coleta dos espectros foi utilizado espectrômetro de massas Bruker auto-

flex III MALDI-TOF(/TOF) no intervalo de m/z de 600-1200. Os espectros foram processados no software FlexAnalysis.

**RESULTADOS:** A análise pelo MALDI-MS mostrou diferenças nos PLs entre COCs e ODs maturados in vitro, indicando diferenças na metabolização e/ou incorporação de lipídios presentes no meio. Os espectros obtidos dos meios TCM199 mostram picos de PLs e triacilgliceróis (TAGs), que provavelmente pertencem ao soro adicionado ao meio, e ausência de degradação lipídica após a MIV. **CONCLUSÃO:** A técnica MALDI-MS permitiu a obtenção de perfis lipídicos informativos para meios de cultivo e oócitos maturados in vitro. O uso dessa técnica para comparação do perfil lipídico de oócitos MIV e/ou criopreservados poderá trazer contribuições em estudos visando determinar suplementação lipídica apropriada dos meios de MIV/vitrificação e diminuir a crisensibilidade de oócitos humanos. **PALAVRAS-CHAVE:** Criopreservação; fosfolipídio, oócito; espectrometria de massas; perfil lipídico

### P94 - Reserva ovariana em mulheres submetidas à quimioterapia gonadotóxica avaliada através do hormônio antimülleriano em comparação ao fsh e contagem de folículos antrais.

Ângela Marcon D'ávila<sup>1,2</sup>; Anita Mylius Pimentel<sup>1,3</sup>, Edison Capp<sup>4, 5</sup>, Helena von Eye Corleta<sup>3, 5</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; <sup>2</sup>Embriões Centro de Reprodução Humana; <sup>3</sup>Núcleo de Reprodução Humana – GERAR do Hospital Moinhos de Vento; <sup>4</sup>Laboratório de Biotecnologia da Reprodução (Biotech), Campus Uruguaiana, Universidade Federal do Pampa (UNIPAM-PA); <sup>5</sup>Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Reserva ovariana (RO) é definida como o número de folículos ovarianos e corresponde à estimativa da capacidade de produção de oócitos passíveis de fertilização. Mulheres submetidas à quimioterapia com agentes alquilantes apresentam queda da RO. Estudos vêm demonstrando que a RO pode ser inferida laboratorialmente mediante dosagem sérica do hormônio antimülleriano (HAM), uma glicoproteína moduladora do crescimento folicular com o objetivo de predir a resposta ao estímulo gonadotrófico em tratamentos de reprodução assistida. **OBJETIVO:** Estudar o HAM como marcador da RO em mulheres com câncer de mama após quimioterapia com ciclofosfamida e compará-lo a outros marcadores de RO como FSH e contagem de folículos antrais (CFA). **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram selecionadas 52 pacientes (35,2+/-3,8 anos) com avaliações séricas e ultrassonográfica antes da quimioterapia e 2 e 6 meses após o seu término. **RESULTADOS:** O HAM foi significativamente maior no tzero ( $3,89 \pm 4,38$ ) do que nos t2mpq ( $0,09 \pm 0,53$ ) e t6mpq ( $0,98 \pm 1,85$ ). O FSH (tzero= $6,74 \pm 3,61$ , t2mpq= $63,34 \pm 46,3$  e t6mpq= $28,85 \pm 29,42$ ) apresentou diferença significativa entre todos os tempos, com diminuição de seus níveis no t6mpq, coincidindo com a avaliação dos ciclos menstruais. A CFA (tzero= $11,3 \pm 3,61$ , t2mpq= $5,63 \pm 2,56$  e t6mpq= $5,32 \pm 3,14$ ) demonstrou queda significativa após a quimioterapia. No t6mpq as pacientes que estavam eumenorréicas apresentavam níveis de HAM e CFA significativamente maiores e níveis de FSH significativamente menores. A CFA não apresentou diferença entre o t2mpq e t6mpq, independente do retorno da ciclicidade menstrual (30% das pacientes amenorréicas voltaram a ciclar em t6mpq). As

pacientes que se mantiveram eumenorréicas no t6mpq apresentavam níveis de HAM e CFA significativamente maiores no tzero. **CONCLUSÕES:** Todos marcadores mudaram significativamente com a ação gonadotóxica. Entretanto, a CFA foi o único marcador que não demonstrou mudança após as pacientes expostas à quimioterapia voltarem a ciclar. Assim, o HAM pode ser utilizado como marcador de reserva ovariana porque demonstra claramente queda em seus níveis, de forma mais fiel que o FSH, mesmo com ciclos menstruais regulares, porém, parece que a CFA pode ser mais fiel à RO por não sofrer modificações mesmo quando os ciclos menstruais voltam a ser regulares. CFA e HAM podem ser utilizados como preditores de gonadotoxicidade. **PALAVRAS-CHAVES:** hormônio antimülleriano, gonadotoxicidade, reserva ovariana, contagem de folículos antrais.

## P95 - Efetividade da proteína da clara de ovo em mulheres com risco elevado para síndrome da hiperestimulação ovariana grave

Michelon J, Badalotti M, Badalotti F, Petracco A.

Fertilitat – Centro de Medicina Reprodutiva

**OBJETIVO:** Avaliar a eficácia do uso de claras de ovos de galinha na prevenção da forma grave da Síndrome da Hiperestimulação Ovariana (SHEO) em pacientes com risco elevado para a síndrome. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Quarenta e duas mulheres com alto risco para SHEO foram submetidas a FIV com protocolo longo. Vinte e duas delas (G1) usaram medidas preventivas com albumina humana 20g no dia da transferência e/ou menor dose de hCG e/ou Bromocriptina e não transferiram os embriões, os quais foram criopreservados e transferidos em ciclos futuros. As outras 20 mulheres (G2) usaram seis claras de ovos ao dia, divididas em três tomadas, a partir do quinto dia de estimulação até o dia do teste de gravidez, sem nenhuma outra medida adicional, e todas transferiram seus embriões. Os dados foram analisados estatisticamente pelos testes Qui-Quadrado e Exacto de Fisher. **RESULTADOS:** O número médio de folículos no G1 foi 46,9 e no G2 de 47,7. A taxa de fertilização foi semelhante entre os grupos (71% e 80%, respectivamente). A taxa de gravidez clínica, quando comparado embriões criopreservados do G1 e embriões frescos de G2, foi semelhante (45,5% e 40%, respectivamente). O diâmetro ovariano médio, uma semana depois da aspiração folicular, foi semelhante entre os grupos (8,2cm no G1 e 6,9cm no G2). A necessidade de visitas médicas para acompanhamento da SHEO, depois da punção folicular, foi significativamente menor ( $p < 0,001$ ) no G2 (média de 3,4 visitas no G1 e 1,3 no G2). O desenvolvimento de SHEO grave (18% dos casos) foi exclusivo no G1 ( $p = 0,004$ ). Todas as mulheres do G2, mesmo aquelas que engravidaram, tiveram ausência ou, no máximo, SHEO leve. SHEO moderada ocorreu em 18% das mulheres do G1. Nenhuma reação adversa ao uso das claras de ovos foi observada. **CONCLUSÕES:** O uso profilático de claras de ovos durante a FIV mostra-se eficaz e seguro na prevenção da SHEO grave em pacientes com alto risco para desenvolver a síndrome, mesmo na ocorrência de gravidez. Secundariamente, esta medida evita a transmissão de prions ou infecções virais como hepatites e HIV, relatados com o uso da Albumina Humana.

## P96 - Eficiência da vitrificação de embriões em haste utilizando papel filtro para remoção do excesso da solução crioprotetora

Salvador Ra<sup>1</sup>; Frajblat M<sup>2</sup>; Amaral V L L<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UNIVALI- Universidade do Vale do Itajaí - Itajaí/SC; <sup>2</sup>UFRJ- Universidade Federal do Rio de Janeiro - Rio de Janeiro/RJ

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência da vitrificação de embriões murinos em haste utilizando papel filtro como método para a remoção do excesso da solução crioprotetora. Embriões de camundongo no estágio de 2 células foram expostos à solução crioprotetora VI-I (Ingámed®) por 12 minutos, sendo então transferidos para a solução VI-II (Ingámed®) e envasados em hastas de vitrificação (Vitri Ingá, Ingámed®). O excesso da solução crioprotetora foi removido por dois métodos: 1) com o auxílio de pipeta Pasteur de vidro estirada (grupo controle) e 2) com pequenas tiras de papel filtro estéril (grupo teste). As hastas foram então submersas em nitrogênio líquido. O tempo decorrido entre a exposição à solução VI-II e a imersão no nitrogênio líquido não excedeu 60 segundos. O aquecimento dos embriões foi realizado mergulhando as hastas diretamente em solução DV-I (Ingámed®) onde permaneceram por 1 minuto antes de serem transferidos para a solução DV-II (Ingámed®). Após 3 minutos foram lavados 2 vezes na solução DV-III (Ingámed®), por 5 minutos cada. Os embriões foram cultivados em placas de poliestireno (15x35mm, Ingámed®), em gotas de 30µL de meio (Global - Lifeglobal®, suplementado com SSS - Irvine Scientific®), cobertas com óleo mineral e previamente gasificadas. O cultivo foi realizado em incubadora Thermo modelo 3110, com temperatura de 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. O desenvolvimento embrionário foi avaliado até o estágio de blastocisto expandido e os resultados analisados pelo teste  $\chi^2$  (chi-quadrado). Não foram observadas diferenças nas taxas de blastocisto expandido entre os grupos teste (93%) e controle (89%). Os resultados deste estudo sugerem que a utilização de tiras de papel filtro pode ser empregada na remoção do excesso da solução crioprotetora sem alterações dos resultados da técnica de vitrificação em haste.

## P97 - Utilização de genes biomarcadores para avaliação da qualidade de embriões cultivados em sistema de cultivo sequencial e único

Polisseni, J<sup>1,2,3</sup>; Polisseni, F<sup>3</sup>; Munck, M<sup>2</sup>; Guerra, M<sup>1</sup>; Camargo, L<sup>2</sup>; Peters, V<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Biologia da Reprodução – Ufjf; <sup>2</sup>Embrapa Gado de Leite; <sup>3</sup>Clínica Pró-Criar/Monte Sinai

**OBJETIVO:** Comparar os sistemas de cultivo único e sequencial através da avaliação do desenvolvimento embrionário e expressão dos genes facilitadores do transporte de glicose 1 e 5 (Glut-1 e Glut-5) e relacionados ao estresse celular (Hspa 70.1 e Prdx), utilizando embrião bovino como modelo experimental. **METODOLOGIA:** Complexos cumulus-oócitos (n=1040) foram obtidos de ovários de matadouro, maturados e fertilizados in vitro. Os

zigotos obtidos foram semi-desnudados e distribuídos, aleatoriamente, entre os grupos de cultivo CR2aa (n = 276), SOF (n = 264) (meios conhecidos no cultivo de embriões bovinos), sistema de cultivo seqüencial: ECM / Multiblast - Irvine® (n = 163) e sistema de cultivo único: Global - Life Global® (n = 284). As taxas de clivagem e blastocisto foram avaliadas. Utilizou-se PCR em tempo real para análise da expressão dos genes nos blastocistos. As diferenças estatísticas entre os grupos de tratamento foram analisadas pelo teste qui-quadrado. A quantificação da expressão dos genes foi avaliada pelo software Relative Expression Software Tool (REST®) através do Pair Wise Fixed Reallocation Randomisation TEST®. Valores  $p < 0,05$  foram considerados significativos. **RESULTADOS:** Não ocorreu diferença ( $P > 0,05$ ) na taxa de clivagem entre os grupos (72,1%, 76,1%, 74,0%, 76,4%, respectivamente para CR2aa, SOF, meio seqüencial ECM/Multiblast®, e meio único Global®). Também não houve diferença ( $P > 0,05$ ) na produção de blastocisto entre os grupos (30,4%, 27,0%, 35,0% e 38,0%), no oitavo dia de cultivo. Entretanto houve diferença na expressão dos genes importantes no desenvolvimento embrionário. Os sistemas de cultivo único e seqüencial, quando comparados entre si, não foram influenciados pela expressão de transcritos de genes em resposta ao estresse: Hsp70.1 e Prdx. Já o Glut-1 e o Glut-5 apresentaram uma maior expressão de transcritos ( $P < 0,05$ ) no sistema único de cultivo, sugerindo a melhor qualidade dos embriões neste sistema, quando comparado com o sistema de cultivo seqüencial. **CONCLUSÃO:** Em relação ao desenvolvimento embrionário, os sistemas de cultivo foram semelhantes. De acordo com a expressão genica, o sistema de cultivo único apresentou-se superior, pois os gluts são moléculas reguladoras do desenvolvimento embrionário. Eles poderiam ser utilizados como biomarcadores para o estudar a viabilidade do embrião.

## P98 - Aspéctos bioéticos sobre o destino dos embriões criopreservados nas clínicas de reprodução

Girlene Celestina de Jesus, Lucialda Dias Lopes Chaves, Marcelle Reis Miranda, Paulo Franco Taitson

Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde – PUC Minas.

**OBJETIVO:** Perceber aspectos bioéticos em relação ao destino de embriões criopreservados na literatura internacional. **MATERIAL E MÉTODOS:** Pesquisa exploratória tendo como fonte de consulta, pesquisa na base de dados do MEDLINE. Os descritores selecionados foram: Unused embryos and bioethics, bioethics and assisted reproduction. Período da pesquisa: Publicações de 2000 à 2010. **RESULTADOS:** A partir desta busca, foram encontrados 115 artigos. Os dados mostraram que em 93,91% dos estudos existe uma preocupação real por parte dos pesquisadores quanto ao destino dos embriões congelados. No entanto, é discutível o que fazer com estes embriões. Nos estudos envolvidos, a preocupação ética esteve presente tanto para médicos, biólogos e enfermeiros. **CONCLUSÃO:** É notória a preocupação dos pesquisadores sobre o destino dos embriões congelados em clínicas de reprodução humana. Atualmente sabe-se que o Brasil é um dos países com o maior número de embriões nestas condições. Com a Lei nº 8.974, a Lei de Biossegurança

e a Resolução nº 1358 da ANVISA, mostra-se premente uma mudança de postura no Brasil quanto a necessidade e a responsabilidade de se congelar embriões.

## P99 - Início tardio da gravidez. Tendência atual das mulheres?

Danielle Miranda Barbosa, Samara Lima de Oliveira, Cristiane Neiva Carvalho Dilly, Ana Paula Lopes Dumont Amormino, Paulo Franco Taitson

Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde – PUC Minas

**OBJETIVOS:** Discutir o aumento da média de idade das mulheres que procuram tratamento de infertilidade. **MATERIAL E MÉTODOS:** Trata-se de uma pesquisa na base de dados do MEDLINE, no período de 2002 a 2010 com os seguintes descritores: assisted reproduction, age and assisted reproduction. **RESULTADOS:** Foram encontrados 36 artigos que definiram o horizonte de estudo. A idade da mulher e as possíveis alterações fetais decorrentes deste quesito foram evidentes em 97% dos estudos. **CONCLUSÃO:** Mesmo reconhecendo a possibilidades de alterações morfológicas fetais e gravidez de risco após os 40 anos, torna-se preocupante observar que cada vez mais as mulheres tem retardado a gravidez. Independência financeira, realização profissional e casamento tardio são os principais indicadores.

## P100 - A bioética e o diagnóstico genético pré-implantacional (PGD)

Grazielle A. Silva Rodrigues, Isabela Pereira Silva, Joyce de Carvalho Xavier, Nívea Evangelista Rocha, Paulo Franco Taitson

Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - PUC Minas

**OBJETIVOS:** Na atualidade, os casais vivem o seguinte paradigma: prosseguir com o tratamento da infertilidade conjugal mesmo após descobrir através do Diagnóstico Genético pré-implantacional que embriões provenientes da reprodução assistida tem alguma anomalia genética ou optar por não levar adiante o tratamento. **MATERIAL E MÉTODOS:** Trata-se de uma busca na base de dados do MEDLINE, no período de 2004 a 2011 com os seguintes descritores: assisted reproduction, preimplantation genetic diagnosis and bioethics. **RESULTADOS:** Foram selecionados 64 artigos para o estudo. Em 92,18% dos estudos observou-se a dificuldade dos casais em definir se levam adiante o tratamento da infertilidade. Quanto mais velho era o casal e maior o tempo de infertilidade, a dúvida mostrou-se mais evidente (95%). **CONCLUSÃO:** Existe ainda uma dificuldade substancial dos casais em reconhecer o Diagnóstico Genético Pré-Implantacional como uma técnica eticamente aceitável.

## P101 - Atuação do enfermeiro na prevenção da síndrome de hiperestimulação ovariana

Thiago dos Santos Pimenta, Darlene B. Lamim, Natália Costa Laurindo, Ana Paula Sousa, Paulo Franco Taitson

Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde – PUC Minas.

**OBJETIVO:** Descrever a atuação do enfermeiro e os aspectos atuais da prevenção e controle do hiperestímulo ovariano em pacientes submetidas a tratamento de infertilidade. **MATERIAL E MÉTODOS:** Trata-se de pesquisa na base de dados do MEDLINE com os seguintes descritores: nurse and assisted reproduction, nurse and ovarian hyperstimulation syndrome. **RESULTADOS:** Foram selecionados inicialmente 84 artigos para o presente estudo. Todavia, somente 36 artigos publicados entre os anos de 2005 e 2011 se enquadraram para o estudo final. Em 50% dos estudos observou-se o papel importante do enfermeiro como primeiro agente de abordagem e investigação do quadro de hiperestímulo ovariano. Em 61,11% dos estudos é destacado o papel do enfermeiro nos serviços de reprodução. Mostrou-se também uma redução de 12% da ocorrência da hiperestímulo ovariana nos últimos cinco anos. **CONCLUSÃO:** Apesar da redução da incidência da hiperestímulo ovariana e suas implicações, torna-se necessário melhorar o monitoramento das pacientes que apresentam tendência a esta caracterização bem com aumentar o número de enfermeiros capacitados para se atuar na área da infertilidade.

## P102 - Riscos que os metais cádmio e chumbo podem causar a capacidade reprodutiva do homem.

Aline Michelle Tonucci, Leandro M. Fráguas, Natália Reis Oliveira, Roseane C. D. Santos, Adriana S. Duarte, Paulo F. Taitson

Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde – PUC Minas.

**OBJETIVO:** Investigar o risco que certas substâncias metálicas podem causar à capacidade reprodutiva do homem, assim como relatar os efeitos que a exposição a metais podem causar na população masculina em idade reprodutiva e discutir formas e meios de prevenção quanto a exposição ao cádmio e ao chumbo. **MATERIAL E MÉTODOS:** Realizou-se uma pesquisa na base de dados do MEDLINE. Somente artigos com período de publicação compreendido entre 2006 a 2011, delimitados em sexo masculino no idioma inglês foram selecionados. A pesquisa envolveu somente artigos com público alvo dos Estados Unidos.

Nesta busca utilizou-se como descritores: male infertility and heavy metals, lead and cadmium and male infertility. **RESULTADOS:** Foram selecionados 50 estudos. Constatou-se que a infertilidade masculina por cádmio é de 0,4% e por chumbo 0,9% entre o horizonte envolto de 210 pacientes. **CONCLUSÃO:** Apesar da baixa incidência de infertilidade masculina por metais pesados, particularmente por cádmio e chumbo, torna-se necessária melhor implementação de programas de biossegurança em indústrias que trabalham com estes metais pesados como matéria prima.

## P103 - Incidência de malformações cardíacas em crianças concebidas por reprodução assistida

Daniela Divino Kwong, Gabriela C. Araújo Lima, Ludmila Santos Coelho, Wanessa Dias Bruce, Paulo Franco Taitson

Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde – PUC Minas.

**OBJETIVO:** Identificar a ocorrência de malformações cardíacas ocorridas em crianças concebidas por técnicas de reprodução humana assistida. **MATERIAL E MÉTODOS:** Trata-se de uma pesquisa do tipo exploratório quantitativo na base de dados do MEDLINE em trabalhos publicados no período de 2005 a 2011, nos idiomas português, inglês e espanhol. Para isto utilizou-se as seguintes palavras chaves: cardiac malformations and techniques of human reproduction, cardiac malformations and risk factors and assisted reproduction. **RESULTADOS:** Foram, inicialmente, selecionados 42 artigos dos quais somente 30 foram utilizados neste estudo por atenderem aos objetivos propostos. Em 116 pacientes constantes neste estudo, pode-se definir que as anormalidades cardíacas representam 9% das malformações observadas em crianças concebidas por reprodução assistida. 61% destes estudos mostraram uma tendência de aumento destas malformações em mulheres com idade superior a 41 anos. **CONCLUSÃO:** Apesar de estudos mostrarem uma incidência baixa de anormalidades cardíacas em crianças concebidas por técnicas de reprodução assistida, nos preocupa uma tendência de aumento destas malformações em mulheres com idade superior a 41 anos.



