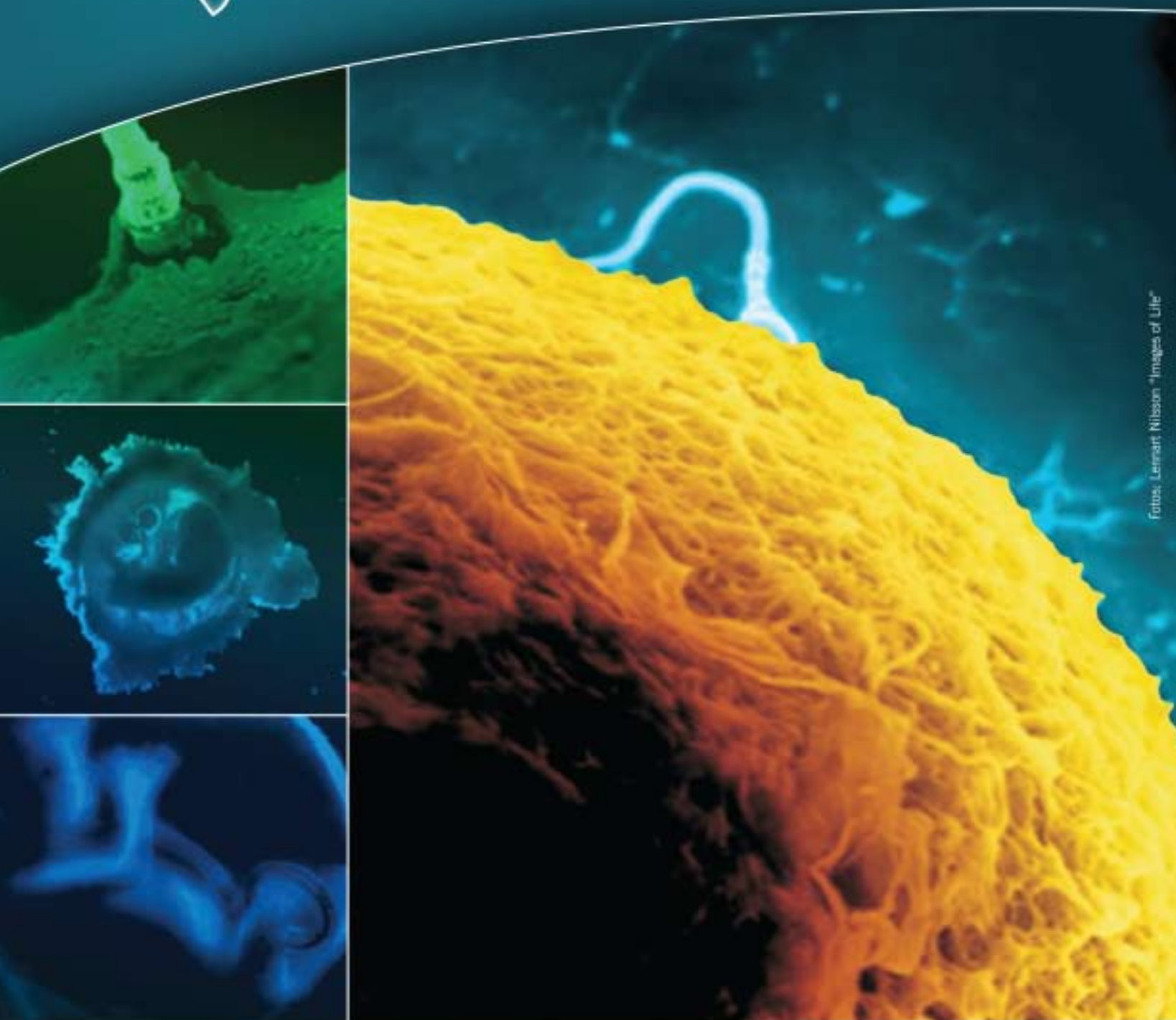


JBRA

Volume 12 | Número 1 | Jan-Fev-Mar 2008 | ISSN 1517-5693

# JORNAL BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA



Fotos: Leirsart Nilsson "Images of Life"

ÓRGÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA



Portfólio completo  
para o tratamento  
da infertilidade.



**GONAL-f**  
alfafolitropina  
Preenchimento por massa **Insulina**

O preenchimento por massa assegura  
uma dosagem homogênea e garante  
um nível uniforme de atividade de FSH<sup>1-3</sup>



**Luveris**  
alfalutropina

Benefício da adição  
de r-hLH em pacientes  
com idade reprodutiva  
mais avançada<sup>4</sup>



**Cetrotide**  
acetato de cetrorelax

Reduz o tempo de  
tratamento comparado  
ao protocolo longo com  
agonista GnRH<sup>5-7</sup>



**OVIDREL** Seringa Pré-enchida  
alfacorionadotropina

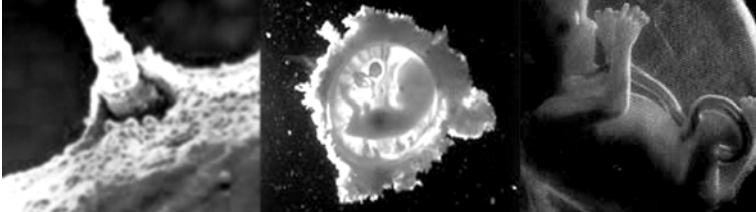
O hCG confiável<sup>8-13</sup>



**Crinone**  
progesterona gel 8%

Otimiza o suporte  
de progesterona  
na fase lútea





## ÓRGÃO DE DIVULGAÇÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

Jornal indexado pela EMBASE, Compendex, Geobase, Scopus, Excerpta Médica e PERIODICA - México, tendo como registro no Instituto Brasileiro de Informação em Ciência e Tecnologia - ISSN 1517-5693 e distribuída por toda América Latina.

# JBRA JORNAL BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

### CORPO EDITORIAL NACIONAL

Editor	Clínica	Região
Maria do Carmo Borges de Souza	G&O Barra / UFRJ	RJ

Editor Adjunto		
Paulo Franco Taitson	IRH	MG

Consultor Editorial		
José Gonçalves Franco Júnior	CRH	SP

Assistente Editorial		
Bruno B de Souza		

Editores Associados		
Edson Borges Junior	FERTILITY	SP
João Batista Alcântara Oliveira	CRH - Ribeirão Preto	SP
Selmo Geber	ORIGEN	MG
Weydson Barros Leal	UFPE	PE

Conselho editorial		
Adelino Amaral Silva	GENESIS	DF
Alessandro Schuffner	CONCEBER	PR
Alvaro Petracco	FERTILITAT	RS
Ana Cristina Allemand Mancebo	G&O BARRA	RJ
Aroldo Camargos	UFMG	MG
Bela Zausner	GENESE	BA
Bruno Scheffer	IBRA	MG
Carlos André Henriques	G&O BARRA	RJ
Claudia G. Petersen	CRH - Ribeirão Preto	SP
Condesmar Marcondes Filho	NÚCLEO REPRODUÇÃO	SP
Dirceu Mendes Pereira	PROFERT	SP
Eduardo Pandolfi Passos	SEGIR - UFRGS	RS
Elvio Tognotti	FMUSP	SP
Humberto Ikuo Shibasaki	UFMT	MT
João Pedro Junqueira Caetano	PRÓ-CRIAR/MATER DEI	MG
Joaquim Roberto Lopes	CENAFERT	BA
Jonathas Borges Soares	PROJETO ALPHA	SP

Jorge Hallak	REPROFERTY	SP
Leila Montenegro Silveira Farah	FERTILITY	SP
Lídio Jair Ribas Centa	ANDROLAB	PA
Luiz Fernando Dale	CENTRO DE MEDICINA DA REPRODUÇÃO	RJ
Marcos Sampaio	ORIGEN	MG
Mariangela Badalotti	FERTILITAT	RS
Marilza Vieira Rudge	UNESP Botucatu	SP
Mario Cavagna	Hospital Pérola Byington	SP
Newton Eduardo Busso	UNIFERT	SP
Paulo Franco Taitson	IRH	MG
Paulo Serafini	HUNTINGTON	SP
Paulo Spinola	CEPARH	BA
Renzo Antonini Filho	INSTITUTO DE SAÚDE DA MULHER	MG
Ricardo Melo Marinho	MATER DEI	MG
Roberta Wonchockier	PROJETO ALFA	SP
Roger Abdelmassih	Clinica e Centro de Reprodução Humana	SP
Rosana Maria dos Reis	Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto	SP
Sidney Glina	Hospital Israelita Albert Einstein	SP
Silvana Chedid	CEPERH	SP

### CORPO EDITORIAL INTERNACIONAL

Anne R. Greenlee	EUA
Claudia Borrero	Colômbia
Claudio Chillik	Argentina
David L. Keefe	EUA
Esther Pollak de Fried	Argentina
Francisco Riquez	Venezuela
Iván Valencia Madera	Equador
Juan Manuel Montoya	Colômbia
Karen Sermon	Bélgica

Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida – Vol. 11 (1) Jan-Fev-Mar / 2008

Jornalista Responsável: Heber Maia – MTb 31.660

Produção Editorial e Gráfica: AlamTec Tecnologia em Informação LTDA - Rua Cabo José Clemeneano de Carvalho, 3 - Jardim Avelino  
CEP 03226-000 - São Paulo-SP - Tel/Fax: (11) 6341-8045 / 3493-7618 - e-mail: alamtec@br.inter.net

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

## Diretoria da SBRA - 2007/2008

**Presidente:** Eduardo Pandolfi Passos  
www.sbra.com.br

### Departamento de Publicações

**Editora:** Maria do Carmo Borges de Souza  
**Editor Adjunto:** Paulo Franco Taitson  
**e-mail:** jornalsbra@cmb.com.br

**Presidente:** Eduardo Pandolfi Passos  
**1º Vice-Presidente:** Adelino Amaral Silva  
**2º Vice-Presidente:** Newton Eduardo Busso  
**1º Secretário:** Luiz Eduardo T. Albuquerque  
**2ª Secretário:** Arminio Motta Collier  
**1º Tesoureiro:** Elvio Tognotti  
**2º Tesoureiro:** Antonio Cesar Paes Barbosa

### Departamento de Publicações:

**Editora:** Maria do Carmo Borges de Souza  
**Secretario:** Bruno B de Souza

### Comissão de Atividades Internacionais:

Marcos Sampaio  
Ricardo Baruffi

### Departamento Científico:

Mario Cavagna  
Fabio Pasqualotto  
Eduardo Motta

### Comissão de Ética e Defesa de Prerrogativa:

Bela Zausner  
Arthur Dzik  
Lídio Jair Ribas Centa  
Luiz Fernando Dale

### Comissão de Educação Continuada:

Antonio Helio Oliani  
Álvaro Petracco  
Roberta Wonchockier  
Maria Cecília R.M. Albuquerque

### Conselho Fiscal:

Joaquim Roberto C. Lopes  
Condesmar Marcondes Filho  
César  
Jonathas Borges

### Conselho Consultivo:

José Gonçalves Franco Júnior  
Selmo Geber  
Edson Borges  
Maria do Carmo Borges de Souza

### Comissão de Comunicação:

Paulo Franco Taitson  
Lia Ferragut  
César Cornel

### Relações Governamentais:

Rosaly Rulli Costa  
Hitomi Miura Nakagava

### PGD:

Coordenador: Selmo Geber  
Assumpto Iaconelli Junior  
Leila Farah  
Mariana Faller

### DST:

Caio Parente Barbosa  
Waldemar Diniz de Carvalho  
Paulo Naud

### Endoscopia:

**Coordenador:** Maria Cecília Erthal  
Paulo Beltrame  
Sergio Galbinsky

### Endometriose:

**Coordenador:** Vilmon de Freitas  
Elvio Tognotti  
João Pedro Junqueira

### Enfermagem:

**Coordenadora:** Suzana Zachia  
Renata Trigo  
Jacqueline Aranki

### Psicologia:

**Coordenadora:** Ana Rosa

### Andrologia:

**Coordenador:** Edson Borges

### Projetos Multicentricos:

Franco Junior

### Comissão de Normatização - ANVISA e SELO SBRA

Maria do Carmo Borges de Souza  
Jonathas Borges  
Isabel Cristina Amaral de Almeida  
Claudia Petersen  
Condesmar Marcondes Filho  
Gilberto Almodin

### Endocrinologia:

**Coordenador:** Rui Ferriani  
Helena Corletta  
Paulo Spinola  
Polimara Spritzer  
Ricardo Marinho

## INFORMAÇÕES GERAIS

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

2. Artigos submetidos ao J Bras Rep Assist 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 J Bras Rep Assist 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 J Bras Rep Assist 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 J Bras Rep Assist; 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 a 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 J Bras Rep Assist 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 intelectualmentemente, 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 (Stephoe, 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

Abood 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 sequência: \*, †, ‡, §, ||, ¶, \*\*, ††, ‡‡.

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 ([journalsbraz@cmb.com.br](mailto:journalsbraz@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>





## XII Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida

Congresso Regional da Rede Latino-americana de Reprodução Assistida

20 a 23 de AGOSTO • 2008 • HOTEL UNIQUE • SÃO PAULO

### ATIVIDADES:

1. Cursos pré-congresso
2. Simpósio patrocinado
3. Mesa-redonda
4. Conferência – Ponto e contraponto
5. Discussão de caso clínico
6. Temas livres
7. Premiação
8. Atividades paralelas:
  - a. Reuniões de sociedades: pró-núcleo – SBRA

### DESTAQUES:

Uma programação científica diferenciada para promover discussão, aprimoramento e atualização

- Uso terapêutico de células tronco
- Implantação embrionária: velhos mitos e novas perspectivas
- Marcadores clínicos da função ovariana

#### CONVIDADOS INTERNACIONAIS DE RENOME, COM ESPECIALIZAÇÃO EM ÁREAS DO SEU INTERESSE

Fernando Zegers - Chile  
Glória Calderón - Espanha  
Johan Smits - Bélgica  
Renato Fanchin - França

### LOCAL DO EVENTO

#### HOTEL UNIQUE

Av. Brigadeiro Luís Antônio, 4.700,  
Jardim Paulista - São Paulo - SP  
[www.hotelunique.com.br](http://www.hotelunique.com.br)



FAÇA SUA INSCRIÇÃO ON-LINE NO SITE  
[WWW.CONGRESSOREPRODUCAO.COM.BR](http://WWW.CONGRESSOREPRODUCAO.COM.BR)



Nosso papel é abraçar  
grandes causas.

www.fertilidadeonline.com.br

## Compromisso com a qualidade

**Merck Serono** é a Divisão da **Merck S.A.** especializada em produtos inovadores de prescrição médica. A Divisão foi estabelecida efetivamente em 5 de janeiro de 2007, com a aquisição da **Serono** pela **Merck** e a integração das áreas de negócios das duas empresas.

A **Merck Serono** tem uma forte presença em diversos países, com marcas líderes que atendem os pacientes nas áreas terapêuticas de Oncologia, Neurologia, Saúde

Reprodutiva, Dermatologia, Ortopedia, Saúde Feminina, Cardiologia, Metabolismo e Pediatria.

A Divisão **Merck Serono** tem o compromisso de buscar sempre o melhor através da excelência de seus colaboradores e da qualidade de seus produtos.

► Somos a única empresa que possui o portfólio completo para o tratamento da infertilidade.

Serviço de Atendimento Merck Serono  
0800 113320

*f@rtilidade*  
online.com.br  
www.fertilidadeonline.com.br

**MERCK**  
**SERONO**



---

**Editorial**
**O Jornal da SBRA e a Reprodução Assistida no Brasil**

Maria do Carmo Borges de Souza ..... 10

---

**Artigo Original**
**Estudo comparativo entre meio GV E HTF/ P1 em fertilização *in-vitro***

Vinicius Medina Lopes, Temízio Rodrigues Pereira,  
Joaquim Roberto Costa Lopes, Tatiana Coelho Café,  
Carlos Gilberto Almodin, Vania Cibeles Minguetti-Câmara  
..... 11

**Influência do ácido hialurônico presente no meio de transferência embrionária na taxa de implantação em pacientes com idade avançada**

Mariana Saikoski Faller, Taísa Mattiazzi Ferreira,  
Isabel Cristina Amaral de Almeida, Paulo Augusto Peres  
Fagundes, Eduardo Pandolfi Passos  
..... 15

**Resultados Brasil- Rede Latinoamericana de Reprodução Assistida**

..... 21

**Uso da trealose intracelular na vitrificação de oócitos bovinos maturados**

Georgina Pinheiro Hastenreiter, Angelo José Burla Dias,  
Luis Freitas Matos, Carla Paes Sobrinho Carvalho, Selmo Geber  
..... 32

---

**Artigo de Revisão**
**A luteinização prematura e suas implicações nos resultados da fertilização *in vitro***

Michelle Amorim Costa Burmann Marcos Sampaio Selmo Geber  
..... 40

---

**Relato de caso**
**Gravidez após a maturação *in vitro* de oócitos obtidos sem estimulação hormonal em paciente com ovários policísticos.**

Nilo Frantz, Adriana Bos-Mikich, Gerta Frantz, Marcos Höher,  
Marcelo Ferreira  
..... 45

---

**Eventos**

..... 49

### O Jornal da SBRA e a Reprodução Assistida no Brasil

O Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida chega a 2008 como publicação reconhecida em várias áreas correlatas, eficaz, instrumento aberto da voz livre e plena dos cientistas e pesquisadores que o buscam, com revisão crítica cada vez mais aperfeiçoada por parte dos membros do Conselho Editorial.

Para este ano muitas novidades, a começar pela face nova da apresentação e disposição dos artigos, uma adequação extra buscada para melhor exprimir nosso orgulho com a evolução do periódico.

Com muita honra, ressaltamos a publicação, pela vez primeira, dos dados brasileiros do Registro Latinoamericano, 2004, comemorativos dos 15 anos do Registro. A comunidade da Rede Brasil em peso permitiu e apoiou esta publicação, inédita, que certamente virá a suprir lacunas e permitir um olhar mais crítico sobre nosso trabalho diário. Agradecemos à direção da Redlara, aos diretores do Registro Latinoamericano, ao nosso diretor regional, Assumpto Iaconelli, assim como ao Presidente da SBRA, Eduardo Passos.

Os assuntos deste número incluem, ainda, o primeiro relato de gravidez em maturação oocitária “in vitro”, sem estimulação ovariana com gonadotrofinas, no país. Agradecemos aos autores que escolheram o Jornal da SBRA como veículo de sua primeira publicação.

Parabéns a todos!

Maria do Carmo Borges de Souza

# Estudo comparativo entre meio GV E HTF/ P1 em fertilização *in-vitro*

## A comparison between GV and HTF/P1 media in IVF *in-vitro*

Vinicius Medina Lopes, Temízio Rodrigues Pereira, Joaquim Roberto Costa Lopes, Tatiana Coelho Café, Carlos Gilberto Almodin, Vania Cibeles Minguetti-Câmara

Instituto Verhum – Vídeo e Endoscopia e Reprodução Humana  
 QI 03, bloco C, sala 101 – Medical Plaza  
 Bairro: Lago Sul  
 Brasília - DF

### Resumo

**Objetivo:** comparar a eficácia dos meios utilizados em fertilização *in-vitro* para cultivo de embriões humanos. Os meios comparados foram o GV (preparado no Brasil) com os meios fabricados pela Irvine, HTF e P1.

**Método:** Um estudo prospectivo e aleatório foi realizado em 82 pacientes. Em 41 dessas pacientes foi utilizado meio GV e nas outras 41 foram usados os meios produzidos pela Irvine. As taxas de fertilização, clivagem, gravidez e implantação foram semelhantes com os 2 meios. No entanto observou-se uma tendência a uma maior taxa de implantação com o meio GV (20,7 e 10,71 para os meios GV e Irvine respectivamente), mas não significante. Os meios de cultura fabricados fora do Brasil, passam por severas oscilações de temperatura durante seu transporte e armazenamento. O meio GV, por outro lado, fabricado localmente, pode ser consumido em período de tempo menor e está menos susceptível aos problemas de transporte e manuseio sofridos pelos meios importados. Portanto, considerando os resultados deste estudo, o meio GV se apresenta como uma boa opção para as clínicas brasileiras.

**Palavras-chave:** meio de cultura, fertilização *in-vitro*, embriões humanos.

### Abstract

**Objective:** The aim of this study was to compare the efficacy of culture media used in *in-vitro* fertilization for cultivate human embryos. The media compared were GV (made in Brazil) and Irvine, HTF and P1 (made abroad). A prospective randomized study was carried out in 82 patients. In 41 patients GV was used and in the other 41, Irvine media were used. Fertilization, cleavage, pregnancy and implantation rates were similar for both groups. Although not significant, a tendency for higher implantation rates was observed with the GV medium (20.70% and 10.71% for GV and Irvine, respectively). Culture media manufactured abroad goes through greater oscillations in temperature during transportation and storage. The GV media, on the other hand, manufactured locally can be consumed in a shorter time span and is not susceptible to the same transportation handling problems faced by the imported media.

Therefore, considering the results of this study we believe that the GV medium is a good option for Brazilian clinics.

**Key words:** culture medium, *in-vitro* fertilization, human embryos.

### INTRODUÇÃO

Um dos principais fatores de influência no sucesso da fertilização *in-vitro* tem sido atribuído aos meios de cultivos utilizados (Quinn, 2004). Desde o início da aplicação desta técnica terapêutica, vários tipos de meios têm sido desenvolvidos com a intenção de suprir as necessidades dos gametas e embriões, sempre com o objetivo de incrementar a taxa de gestação (Cooke *et al.*, 2002).

Alguns autores mencionaram que os embriões teriam necessidades metabólicas diferentes de acordo com o estágio de desenvolvimento (Gardner *et al.*, 2000), enquanto que outros relataram que o sucesso estaria associado, exclusivamente, à qualidade dos componentes dos meios (Loutradis *et al.*, 2000). As alterações nas concentrações de glicose e piruvato, além da adição de vitaminas e aminoácidos influenciariam os resultados, como foi preconizada recentemente (Cooke *et al.*, 2002; Gardner, 1998; Lee *et al.*, 1997). Outros autores entendem que, além dos meios de cultivo, os recipientes utilizados para armazenar essas soluções, são extremamente importantes. (Drury *et al.*, 1996). Por outro lado, pesquisadores têm utilizado suporte de co-cultivo, com diferentes tipos celulares, para melhorar a qualidade do embrião (Seifer *et al.*, 1996).

A duração do cultivo antes da implantação também tem sido discutida exaustivamente e ainda não há completa concordância dos benefícios do cultivo curto (2/3 dias) ou do cultivo estendido até fase de blastocistos (5/6 dias) (Karaki *et al.*, 2002; Schoolcraft & Gardner, 2001).

Independente de sua formulação, os meios de cultura apresentam tempo de vida útil e necessidades próprias para sua preservação. Sugere-se que o tempo de utiliza-



ção ideal desses meios seja de algumas semanas quando conservados a 4°C (Quinn *et al.*, 1985). Sabe-se que a importação de meios não garante confiabilidade quanto a sua conservação, além disso, do seu preparo até sua chegada aos laboratórios brasileiros, muitos dias ou até semanas podem ter se passado. O objetivo deste estudo foi comparar os resultados obtidos quando utilizado o meio GV, fabricado no Brasil, com aqueles obtidos ao se utilizar o meio HTF e o meio P1 (Irvine Scientific, USA).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Após aprovação pelo comitê de ética do Instituto Verhum e assinatura de termo de consentimento esclarecido e informado, 82 pacientes foram incluídas aleatoriamente neste estudo. As pacientes tinham entre 22 a 42 anos de idade e as causas de infertilidade observadas enquadravam-se em: masculina, tubária, múltiplas, outras somente femininas e causas não explicadas.

Após rotina básica de propedêutica, as pacientes iniciavam uso de contraceptivo oral combinado (ACO) contendo 0,15 mg de desogestrel e 0,03 mg de etinilestradiol (Microdiol®, Organon), diariamente, no início do ciclo, por um período mínimo de 19 dias. Para realizar o bloqueio hipofisário, utilizou-se acetato de nafarelina (Synarel®, Zodiack), como agonista de GnRH, através de borrifadas nasais, a cada 12 (doze) horas, alternando as narinas, que tinham início quando faltavam três dias para o término do uso do contraceptivo. Após suspensão do anticoncepcional as pacientes realizavam ecografia transvaginal entre o segundo e quarto dia do ciclo menstrual. O estímulo ovariano era iniciado com FSH recombinante (Gonal®, Serono) ou urinário (Fostimon®, Meizler), em dose que variava de 150 a 300UI/dia, a critério clínico, por um mínimo de sete dias. Novo ultra-som era realizado no oitavo dia de estímulo e iniciado hMG (Merional®, Meizler) suspendendo, então, o uso de FSH. Procediam-se a novas ecografias a cada 24h ou 48h, a depender do estágio de crescimento folicular, e quando 2 (dois) ou mais folículos apresentavam diâmetro médio  $\geq 18$ mm, administrava-se hCG, 10.000UI (Choriomon®, Meizler) ou 6.500UI (Ovidrel®, Serono) em média 35,5 horas antes da captação de óvulos.

As pacientes submetidas ao protocolo com antagonista de GnRH (Cetrotide®, Serono), utilizavam previamente AOC (Microdiol®, Organon), por período não inferior a 15 dias. Ao término da pílula, tendo o exame ultra-sonográfico, feito no segundo dia de sangramento após deprivação, identificado ovários em repouso e endométrio fino ( $\leq 6$  mm), iniciava-se a indução com FSH urinário ou recombinante. Se após ecografia transvaginal de 5º dia de estímulo (sexto dia do ciclo), fosse detectado pelo menos um folículo com diâmetro médio  $\geq 14$  mm, iniciava-se o uso de antagonista diário e a aplicação de FSH era substituída por hMG. Administrava-se hCG, 10.000UI (Choriomon®, Meizler) ou 6.500UI (Ovidrel®, Serono) em média 35 horas antes da captação de óvulos, quando dois ou mais folículos apresentavam diâmetro médio  $\geq 18$  mm.

No momento da captação as pacientes eram randomizadas em dois grupos seguindo a sequência alternada de captações, utilizando o grupo um o meio HTF/P1 e o grupo dois o meio GV. Os ovócitos captados eram

passados, então, para meio GV ou HTF e mantidos em incubadora até o momento da retirada de suas células cumulares. Durante este período o sêmen foi preparado com meio HTF Hepes ou GV Hepes respectivamente para os grupos um e dois.

Três a quatro horas após a captação limpavam-se os ovócitos com pipetas afiladas em diâmetros diferentes, passando primeiramente pela solução de hialuronidase (no máximo um minuto), posteriormente por cinco banhos de HTF-HEPES com 10% SSS (Substituto de Soro Sintético) no grupo um ou, GV-HEPES com 10% SSS no grupo dois. Finalmente, transferiam-se os óvulos para o meio HTF com 10% SSS no grupo um e para o meio GV com 10% SSS, no grupo dois.

Quatro a cinco horas após a captação realizava-se a micromanipulação. A placa era preparada com uma gota central com 5  $\mu$ l de PVP, acrescentado de 1  $\mu$ l da suspensão com os espermatozoides e várias gotas de 5  $\mu$ l em torno com HTF-HEPES com 10% SSS no grupo um e com GV-HEPES com 10% SSS no grupo dois. Os espermatozoides eram imobilizados e injetados nos ovócitos de modo habitual.

Os ovócitos após a injeção eram transferidos para o meio P1 com 10% SSS no grupo um e para o meio GV com 10% SSS no grupo dois e, a seguir, conduzidos para incubadora. Entre 16 horas e 18 horas verificava-se a presença dos pró-núcleos. No segundo dia após a ICSI, transferiam-se os embriões para um novo meio de cultivo P1 com 10% SSS no grupo um e para o meio GV com 10% SSS, no grupo dois.

Iniciava-se o suporte de fase lútea na noite seguinte à coleta dos ovócitos, utilizando progesterona micronizada (Utrogestan®, Farmoquímica), 200mg, intravaginal, a cada 8 horas e realizava-se a transferência dos embriões no terceiro dia após a captação ovular. O número de embriões a serem transferidos dependia da qualidade dos mesmos e, também, da idade da paciente.

A dosagem do  $\beta$ -hCG (gonadotrofina coriônica subunidade Beta) era realizada no 14º dia após a transferência dos embriões, considerando-se gravidez química um resultado de dosagem sanguínea de hCG acima de 50 mUI/ml e gravidez clínica o encontro de pelo menos um saco gestacional com embrião mostrando batimentos cardíacos, na 12ª semana de gestação. Foram analisadas as seguintes variáveis: média de idade; taxas de fertilização, clivagem, implantação e gestação clínica por transferência; porcentagem de embriões classe I e II obtidos e a média de embriões transferidos por paciente. Os dois grupos foram comparados em relação a essas variáveis pelo teste de Mann-Whitney U Test. Adotou-se o nível de significância de 0,05 ( $\alpha = 5\%$ ).

## RESULTADOS

Dos 41 ciclos cultivados em meio GV, 10 foram conduzidos com Cetrotide® e em 31 utilizou-se Synarel®. Dos ciclos cultivados em meio HTF/P1, o bloqueio hipofisário com Cetrotide foi realizado em cinco casos e empregou-se Synarel nos 36 casos restantes. A causa da infertilidade nas pacientes em estudo está listada na Tabela I, sendo o fator masculino a principal causa apresentada (54,87% dos casos). Os resultados de taxas de fertiliza-

**Tabela I** - Causas de infertilidade das pacientes incluídas no estudo

Causa da infertilidade	Meio GV (%)	Meio HTF/P1 (%)
Fator masculino	48,80	60,97
Fator tubário	9,75	9,75
Múltiplas causas	31,70	19,51
Outras causas femininas	9,75	7,31
Causas não explicadas	0	2,46

**Tabela II** - Estudo comparativo usando meio GV e meio HTF/P1

	Meio GV	Meio HTF/P1
Número de ciclos	41	41
Média de idade ( $\pm$ DP)	33,0 $\pm$ 5,1	32,9 $\pm$ 4,4
Taxa de fertilização (% 2PN/ovócitos MII)	69,1	74,41
Taxa de clivagem (% embriões clivados/ovócitos MII)	67,0	72,6
Embriões classe I e II/ total de embriões clivados (%)	48,0	51,0
Média de embriões transferidos por paciente ( $\pm$ DP)	2,8 $\pm$ 0,9	2,7 $\pm$ 0,8
Taxa de implantação (%)	20,7	10,71
Taxa de gravidez clínica/ transferência (%)	31,7	26,82

( $p > 0,05$  para todos os parâmetros comparados)

ção, clivagem, implantação e gravidez clínica encontram-se na Tabela II. Das 41 pacientes que utilizaram GV na fertilização *in-vitro*, 13 evoluíram para gravidez clínica e no grupo de cultivo com meio HTF/P1, observou-se um total de 11 gestações no montante de 41 ciclos.

## DISCUSSÃO

Hoje há no mercado diversas formulações de meios para cultivo de embriões, sendo difícil a escolha do meio que corresponda às expectativas dos diversos centros de reprodução humana brasileiros. Infelizmente, as diferentes opções não têm levado a melhores resultados nas taxas de gravidez. Alguns pontos são importantes na escolha do meio de cultura, o que determinaria algumas condutas diferentes nos procedimentos laboratoriais, como a concentração de glicose, fosfato, bicarbonato, presença ou não de glutamina entre outros. A escolha do meio de cultura torna-se

difícil, principalmente, porque existem poucos trabalhos recentemente publicados que comparam a eficácia dos diferentes meios nos últimos anos. Em sua maioria, não comparam as taxas de gravidez e implantação, pois transferem, para uma mesma paciente, embriões cultivados em diferentes meios de cultura.

Os meios de cultura P1 (Irvine Scientific, USA) e IVF-50 (Scandinavian IVF Science, Sweden) são usados por diferentes centros de reprodução assistida, sendo, os mesmos, modificações do HTF, com as seguintes diferenças: P1 utiliza gentamicina como antibiótico e IVF-50 utiliza penicilina G; P1 não contém glicose e IVF-50 contém. Em adição, IVF-50 é suplementado com soro albumina e o meio P1 é livre de proteínas, entretanto, contém aminoácidos e taurina. Um estudo realizado por Mauri *et al.*, (2001), comparando esse dois meios após ICSI com cultura até o dia três, não mostrou diferença estatisticamente significativa em termos de índices de fertilização, qualidade embrionária e taxas de gravidez e implantação.

Aoki *et al.*, (2005), compararam quatro meios de cultura (HTF; G1.2; Sage Cleavage; Life Global media) usados em fertilização *in-vitro* até o terceiro dia de desenvolvimento embrionário, observando que as taxas de gravidez, implantação e aborto espontâneo foram similares. Outro estudo comparou os meios comerciais: Global (não sequencial), P1 e Quinn's Advantage (não sequenciais), usados após ICSI até o terceiro dia de cultura, não havendo diferença significativa nas taxas de gravidez clínica e implantação entre os três meios (Moodie *et al.*, 2004).

Comparando estudos com meios que suportam o desenvolvimento embrionário até o estágio de blastocisto, pode-se citar o estudo de Langendonck *et al.*, (2001). A comparação foi entre os meios G1.2/G2.2 e "Sydney IVF cleavage", os quais diferem entre si pela composição de carboidratos e aminoácidos. Ambos os meios apresentaram resultados similares após transferência no dia 5/6 de desenvolvimento. As taxas de implantação foram 43,1 % e 36,1% para os meios G1.2/G2.2 e "Sydney IVF cleavage", respectivamente.

Pode-se observar que ainda não há consenso quanto ao melhor meio de cultura a ser utilizado para o desenvolvimento de embriões humanos. Sendo assim, acredita-se que, pelo menos, para o cultivo de embriões até 48-72 h após a fertilização, uma variedade de meios pode ser utilizada, desde soluções balanceadas simples a meios mais complexos, com poucas variáveis nos resultados. Entretanto, para manter o embrião em desenvolvimento *in-vitro* por mais de três dias, o que permitiria reduzir o número de embriões transferidos e, conseqüentemente, o risco de gestação múltipla, há a necessidade de meios mais complexos.

Os relatos comparando os diferentes meios de cultura, traduzem maior dúvida, ainda, quanto ao melhor meio a ser utilizado. Porém, taxas altas em alguns centros, levam a acreditar que, talvez, fatores como rápido consumo, validade, meio ou condições de transporte influenciem os resultados. Para verificar tais fatores, preparou-se meio de cultura no país, considerando que os meios adquiridos comercialmente (habitualmente produzidos no exterior) chegam, tão somente, vários dias ou sema-

nas após sua data de fabricação. O meio em apreço foi denominado GV e foi comparado a outro bastante similar em termos de formulação: o meio HTF. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa nas taxas de fertilização, clivagem, gravidez ou implantação. Além disso, foi observada uma tendência a melhores taxas de implantação com o meio GV. O número de casos testados ainda é pequeno, devido à complexidade do procedimento, mas, acredita-se que um número maior de casos pode levar aos resultados com significância estatística.

Karamelagos & Bolton (1999), fizeram estudo comparativo do uso da solução balanceada Earle's (EBSS) preparada "em casa" com um meio equivalente muito próximo produzido pela Medi-cult (IVF Medium; Medi-Cult, Redhill, Surrey, UK). Os dois meios diferem na composição apenas no suplemento de antibiótico e proteína usados e na concentração de piruvato. Não houve diferença estatisticamente significativa nas taxas de fertilização, gravidez ou implantação entre os dois grupos. No entanto, diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos foi identificada no número de ciclos com falha de fertilização. Observou-se maior falha de fertilização quando os oócitos foram inseminados em meio de cultura Medi-Cult (10/230) quando comparados com os inseminados em EBSS (1/218), apesar de a inseminação com espermatozoides ser aparentemente normal. (Karamelagos *et al.*, 1999).

A maioria dos meios coloca apenas prazo de validade em sua embalagem, muitas vezes não se sabe qual o intervalo de tempo entre o seu preparo e o momento em que chegam ao laboratório de reprodução assistida para serem utilizados. Como não há nenhum produto nacional em produção comercial, e sabendo das dificuldades de importação, acredita-se que os meios cheguem após vários dias ou semanas de sua produção. Mais ainda, é difícil ter certeza das condições de armazenamento. O meio GV foi utilizado por um máximo de 20 dias após seu preparo, acreditando que este seja o fator responsável pelos resultados satisfatórios obtidos, já que, as formulações são semelhantes. Não há dúvida de que a disponibilidade de um meio de cultivo embrionário produzido no Brasil, obedecendo aos rigorosos controles de qualidade, armazenamento e transporte, poderá representar um inestimável ganho no que tange a custo do procedimento laboratorial. Poderá ainda, considerando o reduzido intervalo de tempo entre sua preparação e sua utilização resultar em maior segurança para as pacientes.

## Bibliografia

- Aoki VW, Wilcox AL, Peterson CM, Parker-Jones K, Hatasaka HH, Gibson M, Huang I., Carrel DT. Comparison of four media types during 3-day human IVF embryo culture. *Reprod. Biomed. Online.* 2005; 10:600-6.
- Cooke S, Quinn P, Kime L, Ayres C, Tyler, JP, Driscoll GL. Improvement in early human embryo development using new formulation sequential stage-specific culture media. *Fertil Steril.* 2002; 78:1254-60.
- Drury KC, Konicek JR, Kipersztok S, Williams RS. Twelve-well culture plate for the efficient collection and culture of human oocytes and embryos. *J Assist. Reprod. Genet.* 1996; 13:557-61.
- Gardner DK. Development of serum-free media for the culture and transfer of human blastocysts. *J. Reprod. Fertil.* 1998; 13 Suppl 4:218-25.
- Gardner DK, Pool TB, Lane M. Embryo nutrition and energy metabolism and its relationship to embryo growth, differentiation, and viability. *Semin. Reprod. Med.* 2000; 18:205-18.
- Karaki RZ, Samarraie SS, Younis NA, Lahlob TM, Ibrahim MH. Blastocyst culture and transfer: a step toward improved in vitro fertilization outcome. *Fertil. Steril.* 2002; 77:114-18.
- Karamelagos C, Bolton VN. A prospective comparison of "in house" and commercially prepared Earle's balanced salt solution in human in-vitro fertilization. *Human Reprod.* 1999; 14:1842-46.
- Lee DR., Lee JE., Yoon HS., Lee HJ., Kim MK., Roh SI.. The supplementation of culture medium with protease improves the hatching rate of mouse embryos. *Hum. Reprod.* 1997; 12:2493-8.
- Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Sofikitis N, Kallipolitis G, Milingos S, Makris N, Michalas S. Biological factors in culture media affecting in vitro fertilization, preimplantation embryo development, and implantation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2000; 900:325-35.
- Mauri, AL., Petersen, CG., Baruffi RLR., Franco-Junior JG. A prospective, randomized comparison of two commercial media for ICSI and embryo culture. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2001; 18:378-81.
- Moodie G, Schenkman E, Chao S, Sinclair P, Brenner S, Kenigsberg DA. Comparison of Global, P1 and Quinn's Advantage culture media: There was no significant difference in clinical outcome. *Fertil. Steril.* 2004; 82:S328-S329.
- Quinn P. -The development and impact of culture media for assisted reproductive technologies. *Fertil. Steril.* 2004; 81:27-9.
- Quinn P, Warnes GM, Kerin JF, Kirby C. Culture factors affecting the success rate of in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril.* 1985; 44:195-204.
- Schoolcraft WB, Gardner DK. Blastocyst versus day 2 or 3 transfer. *Fertil Steril.* 2001; 19:259-68.
- Seifer DB., Freeman MR, Gardner AC, Hill GA, Schneyer AL, Vanderhyden BC. Autologous granulosa cell coculture demonstrates zygote suppression of granulosa cell steroidogenesis. *Fertil Steril.* 1996; 66:425-9.
- Van Langendonck A, Demille D, Wyns C, Nisolle M, Donnez J. Comparison of G1.2/G2.2 and Sydney IVF cleavage/blastocyst sequential media for the culture of human embryos: a prospective, randomized, comparative study. *Fertil. Steril.* 2001; 76:102-3.

## Correspondência:

Vania Cibele Minguetti Câmara  
Av. XV de Novembro, 1232  
CEP: 87.013-230 - Maringá – PR  
Fone: (44) 3224-3992  
E-mail: vania@materbaby.com.br



# Influência do ácido hialurônico presente no meio de transferência embrionária na taxa de implantação em pacientes com idade avançada

## Hyaluronic acid supplemented medium and its influence in implantation rates in older women.

Mariana Saikoski Faller, Taísa Mattiazzi Ferreira, Isabel Cristina Amaral de Almeida, Paulo Augusto Peres Fagundes, Eduardo Pandolfi Passos.

SEGIR – Serviço de ecografia genética e reprodução humana  
Mostardeiro 5/601 Porto Alegre 90430-001  
e-mail: segir@segir.com.br

### Resumo

**Objetivo:** Avaliar o efeito de um meio para transferência embrionária, suplementado com ácido hialurônico (AH), nas taxas de implantação e gestação, comparando parâmetros de qualidade embrionária a estas em pacientes com idade avançada submetidas à fertilização *in vitro*.

**Métodos:** Ensaio clínico prospectivo não randomizado. Foram incluídas 128 pacientes, com idade  $\geq 35$  anos e embriões para transferência, de janeiro de 2004 a junho de 2005. Os 128 ciclos obtidos foram divididos em 69 ciclos com AH e 59 ciclos com albumina sérica humana (HSA).

**Resultados:** Foram similares, média de idade nos grupos de  $38,6 \pm 2,87$  vs.  $38,5 \pm 2,6$  anos, embriões transferidos (161 vs. 157) e embriões transferidos/paciente ( $2,33 \pm 1,28$  vs.  $2,66 \pm 1,17$ ). As taxas de implantação e gestação foram superiores para o grupo com AH (19,3% e 36,2%) respectivamente, comparadas ao grupo com HSA (14,6% e 32,2%).

**Conclusão:** O meio com AH apresentou uma elevação nas taxas de implantação e gestação, sem diferenças estatisticamente significativas e houve manutenção da taxa de implantação independente da qualidade embrionária, indicando possível efeito positivo no processo de implantação em pacientes com idade avançada.

**Palavras-chave:** Ácido hialurônico, implantação, gestação, idade avançada.

### Abstract

**Objective:** To evaluate the effect of using an embryos transfer (ET) medium supplemented with hyaluronic acid (HA) on the implantation and pregnancy rates, as well as to compare embryo quality parameters to those rates in advanced aged patients under *in vitro* fertilization treatment.

**Methods:** Case-control prospective non-randomized study. This study included 128 patients were age  $\geq 35$  years who were under *in vitro* fertilization and ET treatment from January 2004 and June 2005. Group A had 69 cycles with ET medium supplemented with HA and Group B had 59 cycles with medium containing human serum albumin (HSA).

**Results:** There was no significant statistic difference between groups concerning patients' age ( $38.6 \pm 2.87$  years vs.  $38.5$

$\pm 2.6$  years), number of embryos transferred (161 vs. 157) and number of embryos transferred for each patient ( $2.33 \pm 1.28$  vs.  $2.66 \pm 1.17$ ). Implantation and pregnancy rates in group HA, being 19.3% and 36.2%, respectively, in group HSA, which had implantation rate of 14.6% and pregnancy rate of 32.2%. **Conclusion:** The medium supplemented with HA presented increase on implantation and pregnancy rates, although with no statistically significant differences. The implantation rate of the ET medium with HA presented no linear tendency related the embryo quality; implantation was independent of embryo quality. The supplementation of HA in the ET medium presented positive effect on the implantation process for advanced aged patients.

**Key Words:** Hyaluronic acid, implantation, pregnancy, advanced age.

### INTRODUÇÃO

A capacidade reprodutiva feminina decresce ao longo dos anos e a idade avançada está associada à redução da fertilidade tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Em procedimentos de reprodução assistida, as taxas de gestação e implantação diminuem a partir dos 35 anos, e são extremamente pobres em mulheres acima de 40 anos (Dew, Don et al, 1998).

Os constantes aperfeiçoamentos nos sistemas de cultivos despertaram, recentemente, questionamentos sobre a necessidade do desenvolvimento de meios específicos para a transferência embrionária. Schoolcraft et al (2001) sugerem que a utilização de um meio mais apropriado para os embriões no momento da transferência possa oferecer vantagens ao processo de implantação.

Estudos demonstraram que um candidato prospectivo para aumentar a funcionalidade do meio de TE e possivelmente aumentar as taxas de implantação é o ácido hialurônico (AH). O AH é um glicosaminoglicano, encontrado em abundância na matriz extracelular. Apresenta-se de maneira fisiológica no trato reprodutivo, estando presente no muco cervical, no complexo cumulus-oopho-

rus, no fluído folicular, e no plasma seminal (Eppig, 1999 e Binette, Ohishi et al, 1996). É o glicosaminoglicano em maior quantidade no fluído uterino e parece estar relacionado ao processo de adesão célula-célula e célula-matriz. Este estudo tem o objetivo de avaliar o efeito da utilização de um meio para TE, acrescido de ácido hialurônico e albumina humana recombinante, nas taxas de gestação e implantação, assim como comparar parâmetros de qualidade dos embriões transferidos a estas taxas em mulheres com idade avançada.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Estimulação ovariana

A estimulação ovariana utilizada em ambos os grupos iniciou-se com 4mg de estradiol no 20º dia do ciclo anterior até o segundo dia do ciclo em questão. A partir do 3º dia iniciava-se a aplicação de hormônio Folículo Estimulante recombinante, seguida de controle ecográfico seriados, sendo introduzido análogo antagonista de hormônio liberador de gonadotrofina quando os folículos atingiam  $\geq 14$ mm.

A administração de 5000UI de Gonadotrofina coriônica humana (hCG) subcutânea ocorreu quando dois ou mais folículos atingiram o diâmetro de 16mm. As aspirações foliculares foram realizadas 34 - 36 horas após a administração do hCG. Os oócitos foram direcionados tanto para fertilização *in vitro* convencional como para injeção intracitoplasmática de espermatozóide, de acordo com critérios prévios de qualidade seminal e falhas de fertilização, sendo em meio IVF (Vitrolife, Suécia) até o segundo dia após a fertilização, quando ocorreram as TEs.

### Seleção das pacientes

Foram incluídas 128 pacientes, correspondentes a 128 ciclos, submetidas à fertilização *in vitro* e TE na Clínica SEGIR – Serviço de Ecografia, Genética e Reprodução Humana, no período de janeiro de 2004 a junho de 2005. Critérios de inclusão: idade igual ou superior a 35 anos e um ou mais embriões para transferência no segundo dia após a fertilização. Grupo A, formado por 69 ciclos realizados no período de setembro de 2004 a junho de 2005 e o grupo B, por 59 ciclos entre janeiro de 2004 a agosto de 2004.

### Avaliação da qualidade embrionária

Os critérios para avaliação da qualidade embrionária seguiram os padrões descritos por Terriou, Sapin et al (2001). Os parâmetros de avaliação utilizados foram, o escore cumulativo dos embriões (CES) transferidos e a média de escores dos embriões transferidos (MSTE). O escore baseava-se em 4 pontos, de acordo com critérios de qualidade embrionária, sendo um ponto para cada critério: embriões clivados, ausência de fragmentação (ou fragmentação  $>20\%$  do embrião), ausência de irregularidades no tamanho ou formato dos blastômeros e embriões no estágio de 4 células, permitindo para cada embrião uma variação de 1 a 4 pontos. O número máximo de embriões/transferência foi de 4 embriões. O CES foi obtido através da soma dos escores individuais dos embriões transferidos e o MSTE obtido a partir da divisão do CES pelo número de embriões transferidos. O CES

variou de 1 a 16 pontos e o MSTE de 1 a 4 pontos. Para comparação com as taxas de implantação e gestação os escores foram segregados em quatro intervalos. O CES em intervalos de 1 a 4, de 5 a 8, de 9 a 12, de 13 a 16 pontos e o MSTE, de  $1 > 1,5$ ; de  $1,5 > 2,5$ ;  $2,5 > 3,5$ ; e  $3,5 \geq 4,0$  pontos.

### Transferência embrionária

Em ambos os grupos os embriões permaneceram em equilíbrio de 10 minutos nos respectivos meios antes da TE. O meio suplementado com 0,5 mg/ml de AH e rAH (EmbryoGlue -Vitrolife, Suécia) foi utilizado no grupo A e no grupo B o meio IVF com 10% de HSA (Vitrolife, Suécia). Todas as etapas laboratoriais foram realizadas pelo mesmo operador durante os diferentes períodos. Todos os embriões foram transferidos com visualização e auxílio de ultra-som abdominal e cateter Wallace 1816N (Smiths Medical International, Reino Unido).

Foi utilizado de suporte a progesterona natural micronizada via vaginal, na dose diária de 600mg, a partir da punção folicular.

A dosagem de  $\beta$ -hCG ocorreu 14 dias após a TE e foram definidas como gestações clínicas todas aquelas com presença de saco gestacional visualizado por ultra-som transvaginal.

### Análise estatística

Os resultados das taxas de implantação e gestação obtidas a partir das transferências embrionárias do grupo A foram comparados aos resultados do grupo B. Os CES e MSTE foram comparados às taxas de implantação e gestação em ambos os grupos. A tendência linear foi avaliada para o grupo A e B em relação ao CES e ao MSTE para Taxas de implantação e gestação. Os dados foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Para análise dos resultados utilizamos o teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e/ou teste T de *Student*, ou Fisher quando apropriado, sendo considerado estatisticamente significativo quando  $p < 0,05$ . As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico SPSS 11.0.

## RESULTADOS

### Comparação dos grupos com as taxas de implantação e gestação

A média de idade e o número de embriões transferidos foram similares em ambos os grupos (tabela 1). A idade variou de 35 a 46 anos no grupo A, e de 35 a 45 anos no grupo B. Todos os parâmetros de idade, causa de infertilidade, protocolos de indução e utilização de fertilização *in vitro* convencional ou com injeção de espermatozóide apresentaram médias similares em ambos os grupos, sem diferenças estatisticamente significativas. A taxa de gestação demonstrou-se superior no grupo A comparada ao grupo B (tabela 1), assim como a Taxa de implantação (31/161 vs. 23/157 sacos gestacionais/embriões transferidos) grupos A e B respectivamente, entretanto, sem diferenças estatisticamente significativas. Podemos observar um aumento também no número de abortos espontâneos no grupo A em comparação com grupo B (tabela 1), sem diferenças estatisticamente significativas.

**Tabela 1.** Resultados clínicos dos ciclos de transferência embrionária para os dois grupos em estudo.

	<b>Grupo A (n = 69)</b>	<b>Grupo B (n = 59)</b>	<b>P</b>
Idade das Pacientes	38,6 ± 2,87	38,5 ± 2,6	0,842
Embriões Transferidos	161	157	-
Embriões/Transferência	2,33 ± 1,28	2,66 ± 1,17	0,135
Gestações Clínicas	25	19	0,837
Gestações Únicas	20	16	
Gestações Múltiplas	5	3	
Abortos Espontâneos	14	9	0,611
Taxa de Gestação (%)	25/69 (36,2%)	19/57 (32,2%)	0,771
Taxa de Implantação (%)	31/161 (19,3%)	23/157 (14,6%)	0,345

Valores expressos em média ± desvio padrão.  
 Grupo A = Meio TE suplementado com AH  
 Grupo B = Meio de TE suplementado com HSA

### Escore cumulativo dos embriões (CES)

Os grupos A e B apresentaram uma distribuição comparável dos CES nos intervalos avaliados (tabela 2). A figura 1 mostrou uma associação linear entre a Taxa de implantação e o CES, para o grupo B ( $P 0,02$ ), existindo um decréscimo linear na Taxa de implantação do maior intervalo de CES para o menor ( $P 0,02$ ). Por outro lado, o grupo A não apresentou tendência linear para os intervalos de CES, demonstrando uma manutenção da Taxa de implantação (figura 1). A figura 2 mostra uma tendência linear entre a Taxa de gestação e o CES, apresentando melhores taxas para os intervalos de CES maiores, para ambos os grupos A e B ( $P 0,01$  e  $P 0,02$ ) respectivamente.

### Média de escore dos embriões transferidos (MSTE)

Os grupos A e B apresentaram uma distribuição comparável dos MSTE nos intervalos avaliados (tabela 3). O grupo A apresentou taxas de implantação (figura 3) e gestação (figura 4) similares para os quatro intervalos de MSTE, demonstrando que as taxas de implantação e gestação apresentam-se elevadas para todos os intervalos MSTE, mostrando uma manutenção da implantação independente da qualidade embrionária. O grupo B apresentou um aumento linear de acordo com MSTE maiores, para implantação ( $P 0,004$ ) e gestação ( $P < 0,001$ ). Existindo um decréscimo linear do maior intervalo de MSTE para o menor ( $P < 0,001$ ) em relação à Taxa de implantação (figura 3) e da mesma forma para a Taxa de gestação (figura 4).

### DISCUSSÃO

O decréscimo da capacidade reprodutiva feminina ao longo dos anos pode ser observado pela redução da fertilidade tanto *in vivo* quanto *in vitro* em mulheres com idade avançada. Estudos como de Kenny (1994), e Segal e Casper (1990), demonstraram, em pacientes submetidas

**Tabela 2.** Distribuição de ciclos entre os intervalos de CES para os grupos A e B.

<b>CES</b>	<b>Grupo A</b>	<b>Grupo B</b>
1 a 4	32 (46,4%)	21 (35,6%)
5 a 8	17 (24,6%)	14 (23,7%)
9 a 12	12 (17,4%)	15 (25,4%)
13 a 16	8 (11,6%)	9 (15,3%)
<b>Total Ciclos</b>	<b>69 (100%)</b>	<b>59 (100%)</b>

$P 0,532$   
 Grupo A = Meio TE suplementado com AH  
 Grupo B = Meio de TE suplementado com HSA

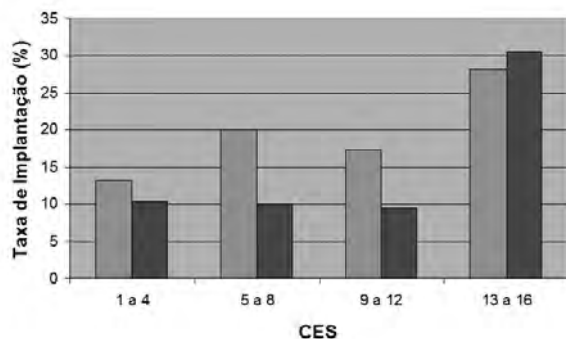
**Tabela 3.** Distribuição de ciclos entre os intervalos de MSTE para os grupos A e B.

<b>MSTE</b>	<b>Grupo A</b>	<b>Grupo B</b>
1 > 1,5	9 (13,0%)	6 (10,2%)
1,5 > 2,5	15 (21,7%)	16 (27,1%)
2,5 > 3,5	25 (36,2%)	21 (35,6%)
3,5 ≥ 4,0	20 (29,0%)	16 (27,1%)
<b>Total Ciclos</b>	<b>69 (100%)</b>	<b>59 (100%)</b>

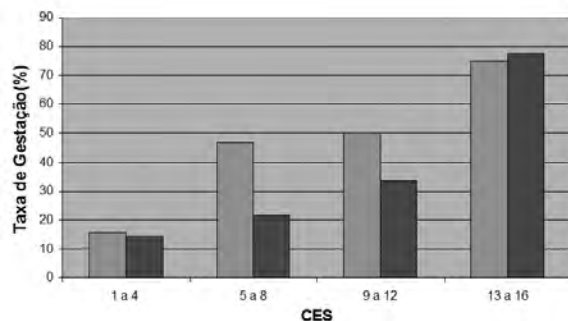
$P 0,886$   
 Grupo A = Meio TE suplementado com AH  
 Grupo B = Meio de TE suplementado com HSA



**Figura 1.** Taxa de implantação dos grupos A e B para os intervalos de CES. Grupo A (barras azuis), não demonstrou tendência linear ( $P = 0,45$ ) e correlação ( $\tau = 0,10$ ) entre a taxa de implantação e os intervalos de CES. O grupo B, (barras roxas), demonstrou uma tendência linear ( $P < 0,02$ ) e correlação ( $\tau = 0,17$ ) entre as variáveis em estudo.



**Figura 2.** Taxa de gestação dos grupos A e B para os intervalos de CES. Grupo A (barras azuis) e grupo B (barras roxas), ambos apresentaram tendência linear entre as variáveis em estudo, ( $P < 0,01$  e  $P < 0,02$ , respectivamente) e correlação ( $\tau = 0,39$  e  $\tau = 0,36$ , respectivamente).

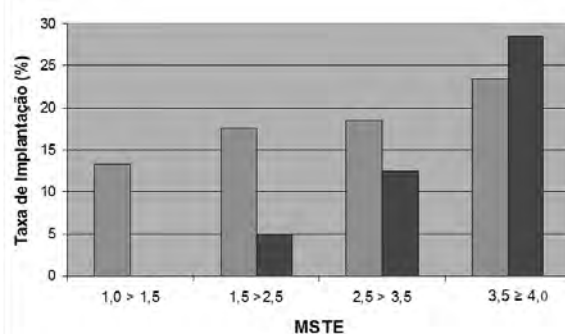


à fertilização *in vitro*, uma correlação estreita com a redução da fertilidade a partir dos 35 anos e Piette, Mouzon et al (1990) demonstraram esta a partir dos 37 anos.

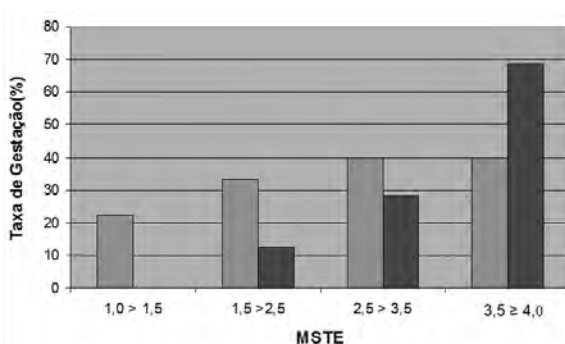
No presente estudo, avaliamos o efeito de um meio enriquecido com 0,5mg/ml de AH utilizado no momento da TE em pacientes com idade avançada. As taxas de gestação e implantação apresentaram-se elevadas, no grupo que utilizou AH quando comparado ao grupo suplementado com HSA, entretanto, sem diferenças estatisticamente significativas.

As perdas gestacionais não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, entretanto, podemos observar uma elevação na taxa para o grupo A em comparação com o grupo B, podendo ser um reflexo dos fatores relacionados à idade. Pacientes com idade avançada, normalmente recrutam um número pequeno de óocitos; juntamente com o declínio da reserva ovariana, ocorre um aumento na incidência de aneuploidias nos óocitos, sendo um fator significativo para as altas taxas de abortos espontâneos encontradas neste grupo de pacientes (Richardson e Nelson, 1990). O aumento da idade está diretamente relacionado com o decréscimo da qualidade embrionária (Chetkowski, Rode et al, 1991). Alguns estudos demonstram que não somente a qualidade oocitária e embrionária como também diversos fatores de recepti-

**Figura 3.** Taxa de implantação dos grupos A e B para os intervalos de MSTe. Grupo A (barras azuis), não apresentou tendência linear ( $P = 0,358$ ) e correlação ( $\tau = 0,07$ ) entre a taxa de implantação e os intervalos de MSTe. O grupo B (barras roxas), apresentou uma tendência linear ( $P < 0,004$ ) e correlação ( $\tau = 0,26$ ) entre as variáveis em estudo.



**Figura 4.** Taxa de gestação dos grupos A e B para os intervalos de MSTe. Grupo A (barras azuis), não apresentou tendência linear ( $P = 0,335$ ) e correlação ( $\tau = 0,09$ ) entre a taxa de gestação e os intervalos de MSTe. O grupo B (barras roxas), apresentou uma tendência linear ( $P < 0,001$ ) e correlação ( $\tau = 0,46$ ) entre as variáveis em estudo.



vidade uterina estão envolvidos no declínio das taxas de implantação e aumento nas taxas de perdas gestacionais com o aumento da idade (Hull, Fleming et al, 1996).

O aumento do número de embriões implantados no grupo suplementado com AH sugere um possível efeito promotor de AH no processo de implantação. O aumento do número de perdas gestacionais neste grupo reflete outros fatores associados ao avanço da idade, não sendo a implantação suficiente para suplantarem estes demais fatores relacionados ao declínio reprodutivo.

Em um estudo prospectivo randomizado com pacientes de diferentes idades, divididas em dois grupos, um utilizando meio de TE suplementado com 0,5mg/ml de AH e outro com meio acrescido de 0,125mg/ml de AH, apresentaram para o primeiro grupo taxas de gestação e implantação de 26,6% e 11,5%, e para o segundo grupo 30,4% e 25,5%, respectivamente. No estudo de Ravhon, a suplementação aumentada de AH não agregou valores às taxas de gestação e implantação, as quais apresentaram-se similares em ambos os grupos (Navot D, Bergh, 1996)[13]. Entretanto, Hazlett et al avaliando o efeito da suplementação com AH no meio de TE em pacientes com resposta ovariana normal, divididas em grupos com TE no terceiro ou no quinto dia, obtiveram melhores taxas de gestação e implantação nos grupos suplementados com

AH [14]. As taxas de gestação e implantação demonstraram-se aumentadas na presença de AH no meio de TE para os dois diferentes momentos de TE, porém não foram encontradas diferenças significativas.

O estudo de Gardner *et al* com camundongos demonstraram um aumento na implantação e no desenvolvimento fetal de embriões na presença de AH no meio de TE, sugerindo uma regulação de AH no processo de interação do embrião com endométrio [15].

Simon *et al* demonstraram que o AH pode substituir a albumina no meio de TE utilizado em embriões humanos, proporcionando taxas de gestação e implantação comparavelmente aumentadas [16].

Nosso estudo demonstrou que a presença de AH no meio de TE proporcionou taxas de implantação similares para embriões de diferentes qualidades embrionárias quando comparado ao meio com HSA. No grupo suplementado com AH a implantação ocorreu de maneira independente à qualidade embrionária quando comparado com o meio de TE com HSA o qual apresentou uma associação linear entre os parâmetros de avaliação da qualidade e Taxa de implantação. Estes dados sugerem um efeito promotor do AH no processo de implantação do embrião, possibilitando aos embriões melhores taxas de implantação de forma independente a qualidade embrionária, melhorando as condições do processo de implantação. O grupo com meio acrescido com HSA apresentou baixas taxas de implantação para embriões de pouca qualidade e um aumento das taxas de acordo com o crescente aumento da qualidade embrionária.

O estudo de Terriou *et al.* demonstrou uma forte correlação para CES e MSTe em relação à Taxa de gestação [5]. Em nosso estudo uma tendência linear pode ser observada entre o CES e a Taxa de gestação para ambos os grupos, entretanto o MSTe não seguiu uma tendência linear com a qualidade embrionária para o grupo suplementado com AH, apresentando uma manutenção da Taxa de gestação para os diferentes intervalos avaliados.

Terriou *et al* demonstram uma queda na Taxa de gestação em pacientes acima de 38 anos, em todos os intervalos de MSTe avaliados, quando comparadas as pacientes com idade igual ou inferior a 37 anos. Observaram uma distribuição de MSTe no grupo acima de 38 anos similar à encontrada nos demais grupos com idade inferior, demonstrando que a qualidade dos embriões não depende da idade. Sugerem que o decréscimo nas taxas de gestação de pacientes com idade avançada não está relacionado à qualidade embrionária, mas sim ao declínio da receptividade uterina.

Muitos são os possíveis mecanismos pelos quais, o AH possa apresentar um efeito promotor no processo de implantação. O AH encontra-se liberado na matriz extracelular e está envolvido na formação da matriz, no processo de adesão célula-célula e célula-matriz, na proliferação e migração celular, apresentando também co-receptores para fatores de crescimento, podendo estar relacionado, de alguma maneira, ao processo inicial de interação, aposição, adesão e invasão do blastocisto no endométrio [16,17,18].

O AH é o principal glicosaminoglicano presente nos fluídos foliculares e uterinos, e fluidos dos ovidutos propi-

ciando uma alta viscosidade à estes micro-ambientes [19,20,21]. A presença do AH talvez possa facilitar a rápida difusão do conteúdo do meio de transferência dentro da cavidade uterina. O meio contendo uma apropriada concentração de AH apresenta uma maior viscosidade em comparação aos meios de TE contendo apenas proteínas [22].

A síntese de ácido hialurônico aumenta substancialmente no dia em que a implantação normalmente ocorre [23]. Em contraste com este aumento, a síntese da maioria dos outros glicosaminoglicanos permanece constante durante o estágio de peri-implantação [24].

Na avaliação dos grupos a Taxa de implantação apresentou-se superior na presença de AH no meio de TE. Ainda que sem diferenças significativas, o número de embriões implantados é superior com esta suplementação. A expressão de receptores de AH nas células endometriais e nos embriões humanos e de mamíferos em geral, sugere uma possível função do AH no processo de implantação embrionário [25,26,27]. A expressão de CD44, um receptor de AH, nos embriões e nas células endometriais e decíduais, indicam um possível envolvimento desta molécula no processo de implantação [28,29].

Outro tipo de receptor para AH, RHAMM/IHABP, é expresso pelo embrião no estágio de pré-implantação e com níveis mais elevados no estágio de blastocisto expandido [30].

O mecanismo envolvido na implantação embrionária relacionado ao efeito do AH ainda não é claro. A presença deste no meio de transferência possivelmente se pronuncie de maneira mais importante em estádios mais avançados de desenvolvimento embrionário, quando há um aumento na expressão de receptores específicos para AH e onde a sinalização entre o blastocisto e o endométrio ocorre de maneira crucial.

Este estudo demonstrou que a suplementação do meio de TE, com AH, proporcionou uma elevação nas taxas de implantação e gestação para pacientes com idade avançada, entretanto sem diferenças estatisticamente significativas. Na avaliação dos parâmetros de qualidade dos embriões transferidos e Taxa de implantação o meio suplementado com AH demonstrou uma sustentação das taxas independente a qualidade embrionária, sugerindo uma melhor interação embrião-endométrio. Aparentemente a suplementação com AH apresenta um efeito positivo no momento de implantação embrionária.

A presença de AH no meio de TE melhorando as condições do processo de implantação embrionária pode otimizar as chances de implantação dos embriões. Esta possibilidade pode auxiliar em uma redução no número de embriões transferidos sem queda nas taxas de gestação e implantação e ao mesmo tempo, evitando as gestações múltiplas, principalmente para grupos de pacientes mais jovens.

Estudos prospectivos randomizados, direcionados a grupos específicos, com suplementação de AH no meio de TE para embriões em estádios mais avançados de desenvolvimento embrionário podem demonstrar uma otimização dos resultados de gestação e implantação.

## Referências

- 1 Dew JE, Don RA, Hughes GJ, Johnson TC, Steigrad SJ. The influence of advanced age on the outcome of assisted reproduction. *J Assist Reprod Genet.* 1998;15:210-4.
- 2 Schoolcraft WB, Surrey ES, Gardner DK. Embryo transfer: techniques and variables affecting success. *Fertil Steril.* 2001;76(5):863-70.
- Eppig JJ. FSH stimulates hyaluronic acid synthesis by oocyte-cumulus cell complexes from mouse preovulatory follicles. *Nature.* 1979 Oct 11;281:483-4.
- Binette JP, Ohishi H, Burgi W, Kimura A, Suyemitsu T, Seno N, Schmid K. The content and distribution of glycosaminoglycans in the ejaculates of normal and vasectomized men. *Androl.* 1996;28:145-9.
- Terriou P, Sapin C, Giorgetti C, Hans E, Spach JL, Roullet R. Embryo score is a better predictor of pregnancy than the number of transferred embryos or female age. *Fertil Steril.* 2001;75:525-31.
- Kenny DT. The impact of maternal age on clinical pregnancy and spontaneous abortion in women undergoing in vitro fertilization and gamete intra-fallopian transfer. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1994 ;34:443-8.
- Segal S, Casper RF. The response to ovarian hyperstimulation and in-vitro fertilization in women older than 35 years. *Hum Reprod* 1990;5:255-7.
- Piette C, de Mouzon J, Bachelot A, Spira A. In-vitro fertilization: influence of women's age on pregnancy rates. *Hum Reprod* 1990;5:56-9.
- Richardson SJ, Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition. *Ann. N.Y. Acad Sci* 1990; 592:13-20.
- Chetkowski RJ, Rode RA, Burrue V, *et al.* The effect of pituitary suppression and the woman's age on embryo viability and uterine receptivity. *Fertil Steril* 1991;56:1095-1103.
- Hull MG, Fleming C, Hughes A, *et al.* The age related decline in female fecundity: a quantitative controlled study of implanting capacity and survival of individual embryos after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1996;65:783-790.
- Navot D, Bergh PA, Williams MA, *et al.* Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fecundity. *Lancet* 1991;337:1375-1377.
- Ravhon A, Nahum H, Weissman A, Biran G, Umansky N, Levran D. Embryo Transfer in Hyaluronan Enriched Transfer Medium Does Not Improve Pregnancy Rate in IVF Program. *Fertil Steril* 2005;84(Suppl 1):P-619.
- Hazlett WD, Meyer L, Nasta T, Mangan P, Karande VC. Embryo-Glue® and its Impact on Pregnancy and Implantation Rates in Normal and Low Responding IVF Patients. *Fertil Steril* 2005;84(Suppl 1):S375-S376.
- Gardner DK, Rodriguez-Martinez H, Lane M. Fetal development after transfer is increased by replacing p rotein with the glycosaminoglycan hyaluronan for mouse embryo culture and transfer. *Hum. Reprod* 1999; 14: 2575-80.
- Simon A, Safran A, Revel A, Aizenman E, Reubinoff B, Porat-Katz A, Lewin A, Laufer N. Hyaluronic acid can successfully replace albumin as the sole macromolecule in a human embryo transfer medium. *Fertil Steril* 2003; 79:1434-8.
- Turley E, Moore D. Hyaluronate binding proteins also bind to fibronectin, laminin and collagen. *Biochem Biophys Res Commun.* 1984;29:121:808-14.
- Sato E, Tanaka T, Takeya T, Miyamoto H, Koide SS Ovarian glycosaminoglycans potentiate angiogenic activity of epidermal growth factor in mice. *Endocrinology.* 1991;128:2402-6.
- Lee CN, Ax RL. Concentrations and composition of glycosaminoglycans in the female bovine reproductive tract. *J Dairy Sci.* 1984;67:2006-9.
- Suchanek E, Simunic V, Juretic D, Grizelj V. Follicular fluid contents of hyaluronic acid, follicle-stimulating hormone and steroids relative to the success of in vitro fertilization of human oocytes. *Fertil Steril.* 1994;62:347-52.
- Rodriguez-Martinez H, Iborra A, Martinez P, Calvete JJ. Immunoelectronmicroscopic imaging of spermadhesin AWN epitopes on boar spermatozoa bound in vivo to the zona pellucida. *Reprod Fertil Dev.* 1998;10:491-7.
- Stojkovic M, Kolle S, Peinl S, Stojkovic P, Zakhartchenko V, Thompson JG, Wenigerkind H, Reichenbach HD, Sinowatz F, Wolf E. Effects of high concentrations of hyaluronan in culture medium on development and survival rates of fresh and frozen-thawed bovine embryos produced in vitro. *Reprod* 2002;124:141-53.
- Carson DD, Dutt A, Tang JP. Glycoconjugate synthesis during early pregnancy: hyaluronate synthesis and function. *Dev Biol* 1987;120:228-35.
- Zorn TM, Pinhal MA, Nader HB, Carvalho JJ, Abrahamssohn PA, Dietrich CP. Biosynthesis of glycosaminoglycans in the endometrium during the initial stages of pregnancy of the mouse. *Cell Mol Biol* 1995;41:97-106.
- Furnus CC, Valcarcel A, Dulout FN, Errecalde AL. The hyaluronic acid receptor (CD44) is expressed in bovine oocytes and early stage embryos. *Theriogenology* 2003;60:1633-44.
- Campbell S, Swann HR, Aplin JD, Seif MW, Kimber SJ, Elstein M. CD44 is expressed throughout pre-implantation human embryo development. *Hum Reprod.* 1995 Feb; 10: 425-30.
- Valcarcel A, de Matos DG, Furnus CC. The hyaluronic acid receptor (CD44) expressed in bovine oocytes and preimplantational stage embryos. *Theriogenology* 1999 51:193 (abstract)
- Behzad F, Seif MW, Campbell S, Aplin JD. Expression of two isoforms of CD44 in human endometrium. *Biol Reprod.* 1994;51:739-47.
- Yaegashi N, Fujita N, Yajima A, Nakamura M. Menstrual cycle dependent expression of CD44 in normal human endometrium. *Hum Pathol* 1995;26:862-5.
- Stojkovic M, Krebs O, Kolle S, Prella K, Assmann V, Zakhartchenko V, Sinowatz F, Wolf E. Developmental regulation of hyaluronan-binding protein (RHAMM/IHABP) expression in early bovine embryos. *Biol Reprod* 2003;68:60-6.



# Registro latinoamericano de reprodução assistida- Brasil- 2004

## Registro latinoamericano de reproducción asistida- Brasil- 2004

### Latin america registry on assisted reproductive techniques - Redlara - Brazil - 2004

#### Resumo

Este relato inclui informação das características dos diversos tipos de tratamentos, gestações, partos e recém-nascidos pelas clínicas brasileiras da Redlara.

#### Abstract

This paper includes the brazilian data on ART from the clinics that report to Redlara.

#### Resumen

Esse reporte incluye información acerca de las características de los diferentes tipos de tratamientos, embarazos y partos obtenidos por las clínicas de Brasil en la Redlara.

Ciclos de tratamento y embarazo clínico según tipo de procedimento (2004)

Brasil

MICROMANIPULACION													
							HATCHING ASISTIDO		CRIOPRE-SERVACIÓN		OVODONACIÓN		
RESULTADOS	FIV	GIFT	OTHERS	ICSI	ICSI +FIV	TOMI/ SOFT	FIV	ICSI	FIV	ICSI	FRES-COS	CONGE-LADOS	
CICLOS INICIADOS	1156	6	0	7106	208	0	32	612					
CICLOS DISCONTINUADOS	130	0	0	457	8	0	3	66					
ASPIRACIONES (A)	1026	6	0	6649	200	0	29	546					
TRANSFERENCIAS (B)	952	6	0	6025	185	0	29	523	157	712	743	72	
EMBARAZOS CLINICOS (C)	336	2	0	2149	71	0	11	161	26	131	271	21	
PARTOS CON >=1 RN (D)	203	2	0	1577	57	0	6	130	18	88	205	14	
NIÑOS NACIDOS (E)	290	2	0	2180	72	0	7	187	22	110	285	17	
% Ciclos Discontinuados	11,2	0,0	0,0	6,4	3,8	0,0	9,4	10,8					
% de Transferencia por:													
Aspiración	92,8	100,0	0,0	90,6	92,5	0,0	100,0	95,8					

Continúa >>

Continuação >>

% de Embarazo Clínico Por:											
Aspiración	32,7	33,3	0,0	32,3	35,5	0,0	37,9	29,5			
Transferencia	35,3	33,3	0,0	35,7	38,4	0,0	37,9	30,8	16,6	18,4	36,5    29,2
% de Parto(s) con >= 1 RN(s) Por:											
Aspiración	19,8	33,3	0,0	23,7	28,5	0,0	20,7	23,8			
Transferencia	21,3	33,3	0,0	26,2	30,8	0,0	20,7	24,9	11,5	12,4	27,6    19,4
Embarazo Clínico	60,4	100,0	0,0	73,4	80,3	0,0	54,5	80,7	69,2	67,2	75,6    66,7

- A. **Aspiraciones:** Se refiere a aspiraciones foliculares transvaginales y laparoscópicas, independientemente de la recuperación de ovocitos.  
B. **Transferencia:** Se refiere a la transferencia al útero y/o trompa de Falopio de uno o más *conceptus* (embriones) y/o gametos.  
C. **Embarazos Clínicos:** Se refiere a gestaciones intrauterinas documentadas ecográficamente con al menos un saco gestacional.  
D. **Partos con >=1 RN:** Se refiere a los partos con más de un recién nacido (después de completada las 20 semanas de gestación)  
E. **Niños Nacidos:** Se refiere al número de niños nacidos (incluye mortinatos).

Distribución de las aspiraciones de acuerdo al esquema terapéutico  
**EN FIV, GIFT Y MICROMANIPULACIÓN (2004)**

Brasil

Esquema Terapéutico	n	Porcentaje Del Total
GnRh(ag) + rFSH	3223	39,3%
GnRh(ag) + HMG	740	9,0%
GnRh(ag) + HMG + rFSH	983	12,0%
GnRh(ag) + HMG + uFSH	107	1,3%
GnRh(antag) + rFSH	1261	15,4%
GnRh(antag) + HMG	313	3,8%
GnRh(antag) + HMG + rFSH	770	9,4%
rLH + rFSH	682	8,3%
Clomiphene + HMG	83	1,0%
Natural Cycles	37	0,5%
Others	0	0,0%
Total	8199	100,0%

rFSH=Recombinant FSH, rLH=Recombinant LH, GnRh(ag)=agonist, GnRh(antag)=antagonist, uFSH=urinary FSH

Distribución de las transferencias según suplementación lútea  
**EN FIV, GIFT Y MICROMANIPULACIÓN (2004)**

Brasil

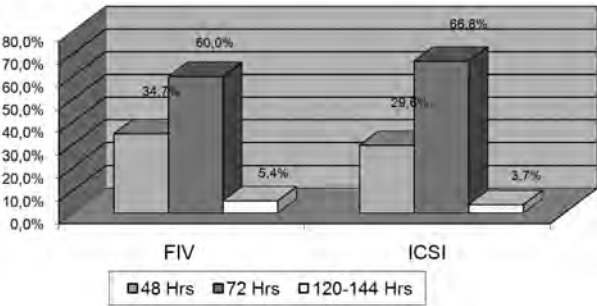
	Número de aspiraciones	Porcentaje del total
Oral	172	2,2%

Vaginal	6164	79,8%
Injectable	254	3,3%
Combination (Oral and Vaginal)	438	5,7%
None	0	0,0%
Other	692	9,0%
Total	7720	100,0%

Transferencia de embriones de acuerdo a la etapa de desarrollo del embrión  
**EN FIV E ICSI (2004)**

Brasil

%	Número de transferencias	FIV	Número de transferencias	ICSI
48 hrs	330	34,7%	1.782	29,6%
72 hrs	571	60,0%	4.022	66,8%
120-144 hrs	51	5,4%	221	3,7%
Total	952	100,0%	6025	100,0%



## Tasa de embarazo clínico según categoría diagnóstica y edad de la mujer (2004)

Brasil

EDAD	TUBARIA			OTRAS FEMENINAS			MASCULINA			MÚLTIPLE			INEXPLICADA		
	Asp.*	n	%	Asp.*	n	%	Asp.*	n	%	Asp.*	n	%	Asp.*	n	%
<35	503	194	38,6%	717	306	42,7%	1673	684	40,9%	675	222	32,9%	332	117	35,2%
35-39	436	136	31,2%	741	220	29,7%	927	294	31,7%	569	145	25,5%	344	115	33,4%
>=40	213	38	17,8%	463	91	19,7%	295	60	20,3%	376	68	18,1%	192	40	20,8%
TOTAL	1152	368	31,9%	1921	617	32,1%	2895	1038	35,9%	1620	435	26,9%	868	272	31,3%

(\*) Aspiraciones de FIV, GIFT y Micromanipulación.

Tasa de embarazo, tasa de implantación y tasa de multigestación de acuerdo al número de embriones transferidos y a la edad de la mujer en FIV + micromanipulación, criopreservación y OD (2004)

Brasil

FIV + MICROMANIPULACION					
	Edad (Años)	Tasa de Embarazo	Tasa de Implantación	Tasa de Multigestación	Tasa de Multigestación
				MG	MGE
UNO	< 35	16,3%	16,3%	0,0%	0,0%
	35-39	11,8%	12,3%	4,0%	0,0%
	≥ 40	5,4%	5,4%	0,0%	0,0%
	Subtotal	11,2%	11,4%	1,4%	0,0%
DOS	< 35	35,7%	21,9%	22,4%	0,0%
	35-39	25,7%	15,8%	22,7%	0,0%
	≥ 40	9,9%	5,3%	7,7%	0,0%
	Subtotal	28,1%	17,1%	21,6%	0,0%
TRES	< 35	44,7%	22,0%	37,6%	10,3%
	35-39	31,6%	14,9%	32,2%	9,0%
	≥ 40	18,8%	7,4%	15,4%	3,1%
	Subtotal	36,8%	17,7%	34,5%	9,4%
CUATRO	< 35	48,6%	19,1%	40,9%	12,7%
	35-39	40,9%	14,9%	34,0%	10,8%
	≥ 40	30,8%	9,9%	22,8%	4,7%
	Subtotal	42,4%	15,8%	36,0%	11,0%

CINCO	< 35	45,9%	15,1%	41,6%	16,9%
	35-39	45,0%	14,0%	39,7%	13,5%
	≥ 40	39,3%	11,5%	36,4%	10,4%
	Subtotal	43,6%	13,6%	39,4%	13,7%
SEIS o mas	< 35	40,0%	9,3%	27,8%	11,1%
	35-39	35,7%	7,1%	20,0%	0,0%
	≥ 40	39,7%	10,6%	48,0%	12,0%
	Subtotal	38,7%	1,5%	34,5%	8,6%
TOTAL		35,3%	16,0%	32,8%	8,8%

CRIOPRESERVACION					
	Edad (Años)	Tasa de Embarazo	Tasa de Implantación	Tasa de Multigestación	Tasa de Multigestación
				MG	MGE
UNO	< 35	15,6%	15,6%	0,0%	0,0%
	35-39	4,3%	4,3%	0,0%	0,0%
	≥ 40	12,5%	12,5%	0,0%	0,0%
	Subtotal	11,1%	11,1%	0,0%	0,0%
DOS	< 35	14,2%	7,5%	6,3%	0,0%
	35-39	8,6%	4,3%	0,0%	0,0%
	≥ 40	8,3%	4,2%	0,0%	0,0%
	Subtotal	11,6%	6,0%	4,2%	0,0%

Continua &gt;&gt;



Continuação >>

TRES	< 35	21,1%	8,3%	18,4%	0,0%
	35-39	22,2%	8,3%	8,3%	4,2%
	≥ 40	15,6%	7,3%	20,0%	20,0%
	Subtotal	20,9%	8,2%	14,9%	3,0%
CUATRO	< 35	26,8%	9,8%	30,3%	15,2%
	35-39	14,3%	4,3%	20,0%	0,0%
	≥ 40	7,7%	1,9%	0,0%	0,0%
	Subtotal	20,5%	7,1%	26,7%	11,1%
CINCO	< 35	34,8%	7,0%	0,0%	0,0%
	35-39	11,8%	2,4%	0,0%	0,0%
	≥ 40	14,3%	2,9%	0,0%	0,0%
	Subtotal	23,4%	4,7%	0,0%	0,0%
SEIS o mas	< 35	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	35-39	60,0%	13,3%	33,3%	0,0%
	≥ 40	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	Subtotal	23,1%	0,9%	33,3%	0,0%
TOTAL		18,0%	7,2%	14,9%	4,5%

OVODONACIÓN (OD)					
	Edad (Años)	Tasa de Embarazo	Tasa de Implantación	Tasa de Multigestación	Tasa de Multigestación
				MG	MGE
UNO	< 35	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	35-39	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	≥ 40	19,0%	19,0%	0,0%	0,0%
	Subtotal	13,3%	13,3%	0,0%	0,0%

DOS	< 35	18,8%	12,5%	33,3%	0,0%
	35-39	10,7%	5,4%	0,0%	0,0%
	≥ 40	27,2%	14,1%	4,0%	0,0%
	Subtotal	22,8%	12,1%	6,5%	0,0%
TRES	< 35	31,4%	11,4%	9,1%	0,0%
	35-39	40,4%	19,1%	42,1%	0,0%
	≥ 40	36,5%	16,0%	27,9%	3,3%
	Subtotal	36,5%	15,9%	28,6%	2,2%
CUATRO	< 35	51,4%	20,9%	47,4%	15,8%
	35-39	54,2%	23,7%	53,1%	21,9%
	≥ 40	39,3%	15,6%	38,6%	15,7%
	Subtotal	44,2%	18,1%	43,8%	17,4%
CINCO	< 35	40,0%	8,0%	0,0%	0,0%
	35-39	45,0%	13,0%	22,2%	11,1%
	≥ 40	31,6%	8,9%	33,3%	8,3%
	Subtotal	34,9%	9,6%	27,0%	8,1%
SEIS o mas	< 35	50,0%	8,3%	0,0%	0,0%
	35-39	16,7%	2,8%	0,0%	0,0%
	≥ 40	50,0%	8,3%	0,0%	0,0%
	Subtotal	40,0%	1,1%	0,0%	0,0%
TOTAL		35,9%	15,0%	31,4%	9,0%

Tasa de implantación (%)= Número de sacos gestacionales / Número de embriones transferidos  
MG: Tasa de multigestación global (≥ 2 sacos)  
MGE: Tasa de multigestación extrema (≥ 3 sacos)

## Devenir de los embarazos (2004)

Brasil

PROCEDIMIENTOS	N° EMBARAZOS	ABORTOS ESPONTANEOS		EMBARAZOS ECTOPICOS		PARTOS CON ≥ 1 RN	
		n	%	n	%	n	%
FIV	336	60	17,9%	10	3,0%	203	60,4%
ICSI (*)	2220	341	15,4%	49	2,2%	1640	73,9%
GIFT/OTROS	2	0	0,0%	0	0,0%	2	100,0%
SOFT/TOMI	0	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
HATCHING ASISTIDO (**)	172	31	18,0%	3	1,7%	136	79,1%
CRIO	157	47	29,9%	47	29,9%	135	86,0%
OD CRIO	21	6	28,6%	0	0,0%	15	71,4%
OD FRESCO	271	62	22,9%	1	0,4%	206	76,0%
<b>TOTAL</b>	<b>3179</b>	<b>547</b>	<b>17,2%</b>	<b>110</b>	<b>3,5%</b>	<b>2337</b>	<b>73,5%</b>

(\*) incluye ICSI e ICSI+FIV

(\*\*) incluye Hatching Asistido+FIV y Hatching Asistido+ICSI

## Resultado perinatal según orden de gestación (2004)

Brasil

FIV + MICROMANIPULACION							
	UNICO		GEMELAR		TRIPLE		≥ CUADRUPLE
	n	%	n	%	n	%	n %
NACIDOS VIVOS	1349	99,0%	987	98,2%	339	93,6%	37 86,0%
MORTINATO							
20-27 SEMANAS	3	0,2%	6	0,6%	8	2,2%	0 0,0%
28 O MAS SEMANAS	3	0,2%	3	0,3%	1	0,3%	0 0,0%
MORTINEONATO	8	0,6%	9	0,9%	14	3,9%	6 14,0%
TOTAL	1363		1005		362		43
% MORTALIDAD PERINATAL		1,0%		1,8%		6,4%	14,0%

CRIOPRESERVACION							
	UNICO		GEMELAR		TRIPLE		≥ CUADRUPLE
	n	%	n	%	n	%	n %
NACIDOS VIVOS	85	6,2%	32	3,2%	15	4,1%	0 0,0%
MORTINATO							
20-27 SEMANAS	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0 0,0%

Continua &gt;&gt;

Continuação >>

28 O MAS SEMANAS	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
MORTINEONATO	0	0,0%	1	0,1%	0	0,0%	0	0,0%
TOTAL	85		33		15		0	
% MORTALIDAD PERINATAL	0,0%		3,0%		0,0%		0,0%	

OVODONACIÓN (OD)								
	UNICO		GEMELAR		TRIPLE		≥ CUADRUPLE	
	n	%	n	%	n	%	n	%
NACIDOS VIVOS	152	11,2%	102	10,1%	42	11,6%	0	0,0%
MORTINATO								
20-27 SEMANAS	2	0,1%	4	0,4%	0	0,0%	0	0,0%
28 O MAS SEMANAS	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
MORTINEONATO	1	0,1%	1	0,1%	3	0,8%	0	0,0%
TOTAL	155		107		45		0	
% MORTALIDAD PERINATAL	1,9%		4,7%		6,7%		0,0%	

n = Número de nacidos vivos (No incluye mortineonatos).

Orden de gestación y edad gestacional al parto  
FIV + MICROMANIPULACIÓN, CRIOPRESERVACIÓN Y OD (2004)  
Brasil

FIV + MICROMANIPULACION							
EDAD GESTACIONAL  (SEMA- NAS)	UNICO		GEMELAR		TRIPLE		≥ CUADRUPLE
	n	%	n	%	n	%	n %
20-27	13	1,0%	13	2,7%	8	7,1%	0 0,0%
28-31	18	1,4%	36	7,4%	31	27,4%	6 66,7%
32-36	169	12,8%	259	53,5%	68	60,2%	2 22,2%
37-41	1120	84,7%	176	36,4%	6	5,3%	1 11,1%
≥42	2	0,2%	0	0,0%	0	0,0%	0 0,0%
TOTAL	1322		484		113		9

Se reporta además, un total de 223 partos con edad gestacional “desconocida”.

CRIOPRESERVACION							
EDAD GESTACIONAL  (SEMA- NAS)	UNICO		GEMELAR		TRIPLE		≥ CUADRUPLE
	n	%	n	%	n	%	n %
20-27	0	0,0%	1	0,2%	0	0,0%	0 0,0%
28-31	1	0,1%	0	0,0%	0	0,0%	0 0,0%
32-36	9	0,7%	8	1,7%	5	4,4%	0 0,0%
37-41	70	5,3%	7	1,4%	0	0,0%	0 0,0%
≥42	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0 0,0%
TOTAL	80		16		5		0

Se reporta además, un total de 8 partos con edad gestacional “desconocida”.

OVODONACIÓN (OD)								
EDAD GESTACIONAL (SEMANAS)	UNICO		GEMELAR		TRIPLE		≥ CUADRUPLE	
	n	%	n	%	n	%	n	%
20-27	3	0,2%	3	0,6%	1	0,9%	0	0,0%
28-31	3	0,2%	2	0,4%	1	0,9%	0	0,0%
32-36	27	2,0%	32	6,6%	11	9,7%	0	0,0%
37-41	116	8,8%	14	2,9%	1	0,9%	0	0,0%
≥42	4	0,3%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
<b>TOTAL</b>	<b>153</b>		<b>51</b>		<b>14</b>		<b>0</b>	

Se reporta además, un total de 0 partos con edad gestacional "desconocida".

Peso del recién nacido y orden de gestación  
FIV + MICROMANIPULACIÓN, CRIOPRESERVACIÓN Y OD (2004)

Brasil

FIV + MICROMANIPULACION							
PESO	UNICO		GEMELAR		TRIPLE		≥ CUADRUPLE
	n	%	n	%	n	%	n %
< 700 gr	6	0,5%	5	1,4%	11	47,8%	0 0,0%
700-899	8	0,7%	9	2,5%	6	26,1%	3 300,0%
900-1249	10	0,9%	45	12,4%	58	252,2%	12 1200,0%
1250-2499 gr	132	11,3%	536	147,3%	233	1013,0%	21 2100,0%
≥ 2500 gr	1166	100,0%	364	100,0%	23	100,0%	1 100,0%
<b>TOTAL</b>	<b>1322</b>		<b>959</b>		<b>331</b>		<b>37</b>

Se reporta además, un total de 408 bebés con peso "desconocido".

PESO	UNICO		GEMELAR		TRIPLE		≥ CUADRUPLE
	n	%	n	%	n	%	n %
< 700 gr	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0 0,0%
700-899	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0 0,0%
900-1249	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0 0,0%
1250-2499 gr	4	0,3%	8	2,2%	12	52,2%	0 0,0%

Continúa >>



Continuação >>

≥ 2500 gr	68	5,8%	22	6,0%	3	13,0%	0	0,0%
TOTAL	72		30		15		0	

Se reporta además, un total de 18 bebes con peso “desconocido”.

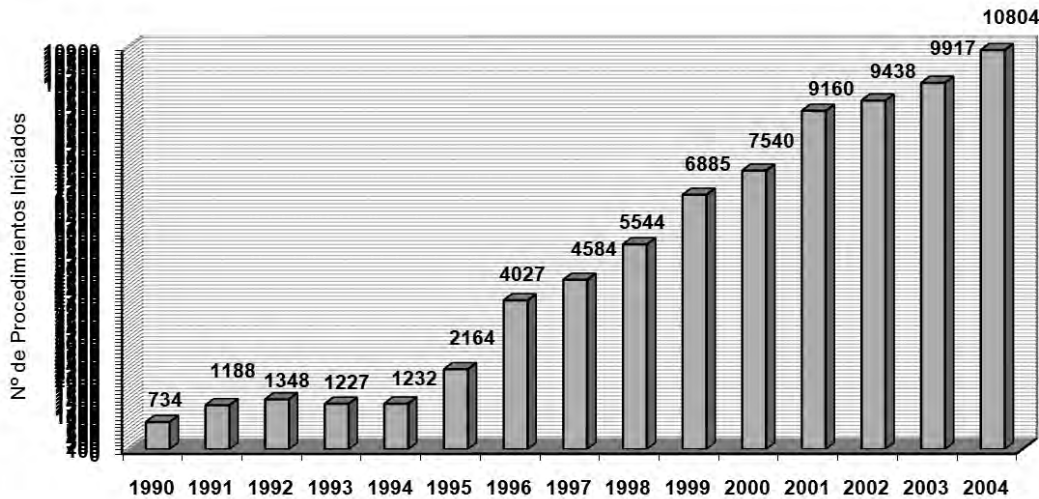
PESO	UNICO		GEMELAR		TRIPLE		≥ CUADRUPLE	
	n	%	n	%	n	%	n	%
< 700 gr	1	0,1%	5	1,4%	0	0,0%	0	0,0%
700-899	0	0,0%	2	0,5%	0	0,0%	0	0,0%
900-1249	2	0,2%	5	1,4%	0	0,0%	0	0,0%
1250-2499 gr	13	1,1%	52	14,3%	39	169,6%	0	0,0%
≥ 2500 gr	134	11,5%	38	10,4%	0	0,0%	0	0,0%
TOTAL	150		102		39		0	

Se reporta además, un total de 12 bebes con peso “desconocido”.

Número de procedimientos iniciados (1990-2004)

Brasil

1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
734	1188	1348	1227	1232	2164	4027	4584	5544	6885	7540	9160	9438	9917	10804

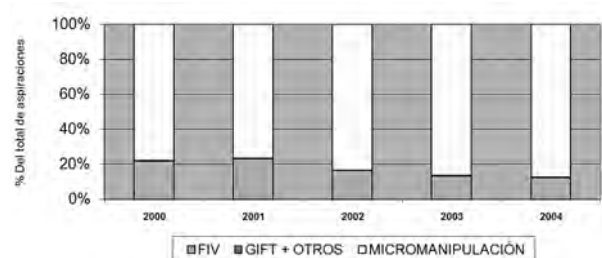


Datos corresponden al total de procedimientos iniciados en cada año (FIV, GIFT, Micromanipulación, Criopreservación,OD y Otros.)

## TIPO DE PROCEDIMIENTO PORCENTAJE DEL TOTAL DE ASPIRACIONES (2000-2004)

## BRASIL

Procedimiento/ Año	2000	2001	2002	2003	2004
<b>Aspiraciones</b>					
FIV	1407	1802	1307	1094	1156
GIFT + OTROS	6	1	0	16	6
MICROMANIPULACIÓN	4869	5784	6540	6985	7958
TOTAL	6282	7587	7847	8095	9120
<b>Porcentajes</b>					
FIV	22,4%	23,8%	16,7%	13,5%	12,7%
GIFT + OTROS	0,1%	0,0%	0,0%	0,2%	0,1%
MICROMANIPULACIÓN	77,5%	76,2%	83,3%	86,3%	87,3%



## BRASIL

(1990-2004)	(2000-2004)
PROCEDIMIENTOS	PROCEDIMIENTOS
71234	44313
↓	↓
TRANSFERENCIAS	TRANSFERENCIAS
64526	40867
↓	↓
EMBARAZOS	EMBARAZOS
19665	13068
↓	↓
PARTOS CON >= 1 RN	PARTOS CON >= 1 RN
14874	9778
↓	↓
NACIDOS VIVOS	NACIDOS VIVOS
20483	13569

Incluye FIV, GIFT, Otros, Micromanipulación, Criopreservación, y Ovodonación.

Distribución de las aspiraciones  
De acuerdo al esquema terapéutico (2000-2004)

## Brasil

Esquema Terapéutico	n	Porcentaje Del Total
GnRh(ag) + rFSH	16821	46,6%
GnRh(ag) + HMG	4433	12,3%
GnRh(ag) + HMG + rFSH	5868	16,2%
GnRh(ag) + HMG + uFSH	1179	3,3%
GnRh(antag) + rFSH	2982	8,3%
GnRh(antag) + HMG	943	2,6%
GnRh(antag) + HMG + rFSH	1653	4,6%
rLH + rFSH	1202	3,3%
Clomiphene + HMG	542	1,5%
Natural Cycles	505	1,4%
Others	0	0,0%
Total	36128	100,0%

rFSH=Recombinant FSH, rLH=Recombinant LH, GnRh(ag)=agonist, GnRh(antag)=antagonist, uFSH=urinary FSH

Distribución de las transferencias  
Según suplementación lútea (2000-2004)

## Brasil

	Número de aspiraciones	Porcentaje del total
Oral	6200	18,9%
Vaginal	20538	62,5%
Injectable	1566	4,8%
Combination (Oral and Vaginal)	1350	4,1%
None	4	0,0%
Other	3223	9,8%
Total	32881	100,0%

Tasa de parto con  $\geq 1$  rn por transferencia (2000-2004)

Brasil

FIV + MICROMANIPULACION					
	2000	2001	2002	2003	2004
Ciclos Transferidos	4062	5376	5405	6248	6977
Partos con $\geq 1$ RN	1049	1501	1800	1989	1981
Tasa de Parto con $\geq 1$ RN	25,8%	27,9%	33,3%	31,8%	28,4%

CRIOPRESERVACION					
	2000	2001	2002	2003	2004
Ciclos Transferidos	637	842	875	1025	869
Partos con $\geq 1$ RN	93	147	151	176	157
Tasa de Parto con $\geq 1$ RN	14,6%	17,5%	17,3%	17,2%	18,1%

OVODONACIÓN (OD)					
	2000	2001	2002	2003	2004
Ciclos Transferidos	621	731	716	797	815
Partos con $\geq 1$ RN	200	272	266	285	292
Tasa de Parto con $\geq 1$ RN	32,2%	37,2%	37,2%	35,8%	35,8%



## Devenir de los embarazos (2000-2004)

Brasil

PROCEDIMIENTOS	N° EMBARAZOS	ABORTOS ESPONTANEOS		EMBARAZOS ECTOPICOS		PARTOS CON $\geq 1$ RN	
		n	%	n	%	n	%
FIV	1769	296	16,7%	33	1,9%	1377	77,8%
ICSI (*)	7956	1375	17,3%	129	1,6%	6039	75,9%
GIFT/OTROS	7	0	0,0%	0	0,0%	19	271,4%
SOFT/TOMI	44	3	6,8%	1	2,3%	40	90,9%

HATCHING ASISTIDO (**)	1253	305	24,3%	21	1,7%	844	67,4%
CRIO	724	183	25,3%	187	25,8%	630	87,0%
OD CRIO	57	11	19,3%	0	0,0%	46	80,7%
OD FRESCO	1258	294	23,4%	15	1,2%	901	71,6%
<b>TOTAL</b>	<b>13068</b>	<b>2467</b>	<b>18,9%</b>	<b>386</b>	<b>3,0%</b>	<b>9896</b>	<b>75,7%</b>

(\*) incluye ICSI e ICSI+FIV

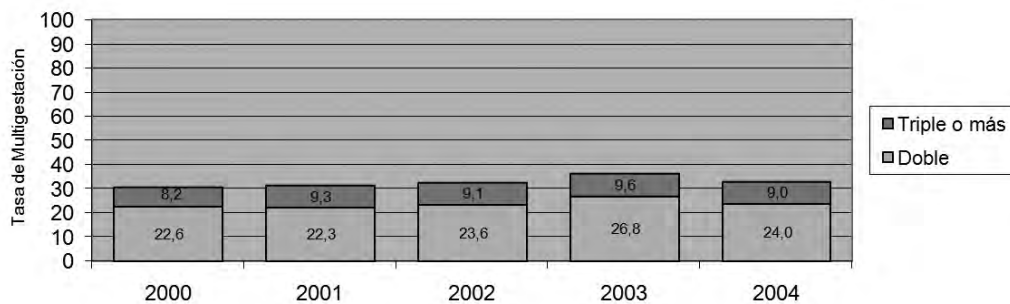
(\*\*) incluye Hatching Asistido+FIV y Hatching Asistido+ICSI

#### Tasa de multigestación en fiv e icsi (2000-2004)

##### Brasil

%	2000			2001			2002			2003			2004		
	cp	mg	%	cp	mg	%	cp	mg	%	cp	mg	%	cp	mg	%
Doble	1133	256	22,6	1666	371	22,3	1908	450	23,6	2290	614	26,8	2485	596	24,0
Triple o más	1133	93	8,2	1666	155	9,3	1908	174	9,1	2290	220	9,6	2485	223	9,0
Single			69,2			68,4			67,3			63,6			67,0
Tasa MG Global			30,8			31,6			32,7			36,4			33,0

cp = Embarazos, mg = Embarazo Múltiple



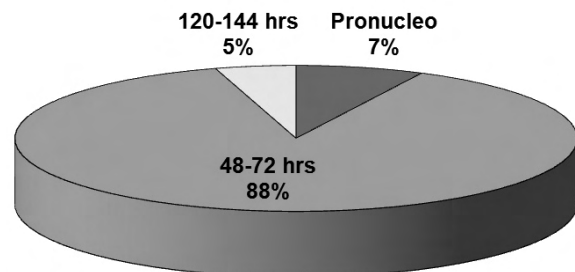
La tasa de multigestación ha sido calculada sobre el número de sacos gestacionales (incluye gestaciones generadas por FIV y por ICSI).

#### Proporción de embriones de acuerdo a la etapa de desarrollo del embrión al momento de la criopreservación (2004)

##### Brasil

Etapas de Desarrollo	Pronucleo	48-72 hrs	120-144 hrs	Total
n	580	6915	364	7859
%	7%	88%	5%	100%

Número de embriones almacenados hasta el 31 de diciembre, 2004: 20026





# Uso da trealose intracelular na vitrificação de oócitos bovinos maturados

## Intracell trehalose in vitrification of matured oocytes

Georgina Pinheiro Hastenreiter,<sup>2</sup> Angelo José Burla Dias,<sup>1</sup> Luis Freitas Matos,<sup>1</sup> Carla Paes Sobrinho Carvalho,<sup>1</sup> Selmo Geber<sup>2</sup>.

Universidade Estadual do Norte Fluminense  
Centro de Medicina Reprodutiva – Origen.

### Resumo

**Introdução:** A criopreservação de oócitos é alternativa que possibilitará a preservação do futuro reprodutivo em mulheres que tenham que adiar a maternidade por desejo próprio ou tratamento. Poderá ser alternativa para o congelamento de embriões em casais submetidos a técnicas de reprodução assistida. Até o momento, não existem resultados consistentes com congelamento de oócitos, estando indefinido o melhor protocolo de congelamento.

**Objetivo:** Determinar a efetividade da trealose como crioprotetor intracelular na vitrificação de oócitos bovinos maturados *in vitro*.

**Método:** estudo experimental com oócitos bovinos. Grupos: controles (maturados-Tc, penetrados-Tp e microinjetados-Tm) e os grupos da vitrificação (microinjetados com trealose- Tmv, crioprotetores penetrantes- Tvde e eletropermeabilizados com trealose- Tev). Avaliou-se a capacidade de retorno ao volume isotônico, integridade de membrana (marcação com iodo de propídio) e alterações glicoproteicas da zona pelúcida (marcação com lectinas).

**Resultados:** A taxa de retorno ao volume isotônico após a desvitrificação mostrou resultado superior para o grupo Tev, com trealose (80%); oócitos dos tratamentos Tmv e Tvde apresentaram índices de 55 e 68%, respectivamente. Oócitos do tratamento Tev foram os de menor taxa de extrusão citoplasmática (13%). A avaliação da integridade de membrana, resultou em ausência de marcação em 36 % (Tmv), 64% (Tvde) e 29% (Tev) dos oócitos. A marcação das glicoproteínas de superfície da zona pelúcida dos oócitos vitrificados não apresentou diferença entre os tratamentos.

**Conclusão:** Os resultados demonstram que a trealose intracelular é um importante agente crioprotetor para a vitrificação de oócitos bovinos maturados *in vitro*, mas estudos em humanos ainda deverão determinar sua aplicação em mulheres.

**Palavras-chave:** trealose, oócitos, microinjeção, vitrificação, eletropermeação

### Abstract

**Introduction:** The technique of oocytes cryopreservation is a helpful tool for assisted reproduction as it can be used to preserve female reproductive capacity.

**Objective:** To determine the effectiveness of trehalose as intracellular cryoprotectant in the vitrification of bovine oocytes matured *in vitro*.

**Methods:** The groups were controlled (Tc, Tp and Tm) and groups for vitrification (Tmv - microinjected with trehalose, Tvde - with penetrating cryoprotectant and Tev-lectropermeabilizations with trehalose). After thawing we evaluated the capacity of cytoplasmic re-expansion, the integrity of membrane (marking with propidium iodide) and glycoprotein alterations of the pellucid zone (with lectins conjugated with fluorescein 5- isotiocianato FITC).

**Results:** The evaluation of the tax of return to the isotonic volume after thawing showed a superior result for the eletroporation oocyte with trehalose (80%). Oocytes of the treatments Tmv and Tev presented indices of 55 and 68%, respectively. In the same way the oocytes of the treatment Tev were the ones that presented low cytoplasmic drawing tax (13%). However the evaluation of the integrity of membrane, determined for the exclusion of the IP, resulted in absence of marking in 36%, 64% and 29% of the oocytes of the treatments Tmv, Tvde and Te, respectively. The marking of residues of manose and sialic acid of the surface of the pellucid zone of the oocytes after thawing did not present difference between the treatments, having all presented 100% of marking.

**Conclusion:** These results demonstrate that intracellular trehalose presents an important effect crioprotectant for the vitrification of bovine oocytes matured *in vitro*.

**Key-words:** trehalose, oocytes, microinjection, electropermeation.

### INTRODUÇÃO

A criopreservação é técnica de conservação de tecidos e células por tempo indeterminado, mantendo as propriedades biológicas destas. Atualmente protocolos de criopreservação de fibroblastos, embriões, tecidos ovariano e de sêmen são aplicados na rotina de laboratórios, com sucesso. Apesar do congelamento de oócitos ser técnica ainda não estabelecida, sua aplicação é de grande interesse para a reprodução assistida. Uma vez que a técnica

pode auxiliar no aproveitamento de oócitos excedentes de ciclos de FIV, formação de bancos, na preservação da qualidade e quantidade de oócitos de mulheres que querem adiar a maternidade, mulheres que serão expostas a tratamentos de quimioterapia e radioterapia, além de transpor a ética que envolve a criopreservação dos embriões (Eroglu *et al.*, 2002; Chian *et al.*, 2004).

Por ter características peculiares oócitos possuem baixa viabilidade no pós-descongelamento (Parks & Ruffing, 1992; Chen *et al.*, 2003). O gameta feminino apresenta uma grande dimensão celular ( $\approx 120 \mu\text{m}$ ) e uma pequena relação superfície volume, fato que dificulta a desidratação celular adequada. Chen *et al.*, (2002) relataram que oócitos maturados são afetados em sua estrutura de fuso meiótico formado nessa fase, pela despolimerização dos microtúbulos dessa estrutura durante o resfriamento, ou pela ação dos crioprotetores.

As injúrias aos oócitos podem ocorrer em qualquer fase do congelamento e durante o descongelamento com efeitos tóxicos e osmóticos. Tem sido tentadas técnicas que melhorem os resultados. A vitrificação, método de congelamento rápido, é alternativa ao congelamento lento, que causa injúrias osmóticas, bioquímicas e formação de cristais de gelo (Vajta *et al.*, 1998). A vitrificação permite a passagem rápida por essa fase, além de promover a formação do estado vítreo, sem nucleação de gelo. Teoricamente, este estado vítreo pode ser conseguido com o aumento da velocidade de redução da temperatura e com o auxílio de elevadas concentrações de crioprotetores. O sucesso da vitrificação está relacionado também com a capacidade de penetração do crioprotetor, o tempo de exposição e o volume de crioprotetor, que devem ser adequados para impedir a formação de cristais de gelo intracelularmente, sem levar a lesões tóxicas e osmóticas (Martino *et al.*, 1996; Vajta *et al.*, 1997; Lane *et al.*, 1999; Vajta, 2000).

Outra forma de prevenir lesões osmóticas e tóxicas durante o congelamento é a escolha do crioprotetor (Palasz & Mapletoft, 1996). A trealose, um dissacarídeo extracelular, é excelente estabilizador de membranas, além de atóxico. Tem sido sugerido que grupos hidrofílicos da trealose formam pontes de hidrogênio em locais normalmente ocupados pela água, evitando o enrijecimento da membrana, mantendo-a em estado fluido. Além de substituir a água em condições de anidrobiose, a trealose aumenta a capacidade de transformação vítrea (Donnamaria *et al.*, 1994; Richards *et al.*, 2002). Devido a sua grande massa molecular e características bioquímicas, a trealose é incapaz de atravessar a membrana plasmática. Alternativas para permitir o ingresso deste açúcar no citoplasma dos ovócitos têm sido testadas, uma vez que a ação protetora da trealose à membrana plasmática, durante o resfriamento, pode ser potencializado quando intra e extracelular.

Este trabalho buscou avaliar a capacidade crioprotetora da trealose intracelular, na vitrificação de oócitos bovinos maturados *in vitro*, a fim de determinar estratégias possíveis para metodologias futuras que permitam integrar a criopreservação do gameta feminino à rotina das técnicas de reprodução e preservação.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção e seleção dos oócitos

Complexos *cumulus oophorus* (CCO) foram aspirados de ovários obtidos em matadouros da localidade do município de Campos dos Goytacazes, os quais foram transportados em solução fisiológica estéril (tabela 1) à temperatura ambiente.

Foram aspirados apenas folículos ovarianos com diâmetro de 2-6mm com auxílio de uma agulha de 19 "G" (40 x 1.2 mm) ligada a um tubo cônico de 50 mL, conectado a uma bomba de vácuo, sob uma pressão de 90 mm/Hg. Após 10 minutos de decantação, parte do sobrenadante foi descartado e o restante passado para uma placa de Petri (Corning, 100 x 20 mm) para busca dos CCOs.

Estes foram transferidos para gotas de meio de manipulação (tabela 1). Posteriormente procedeu-se a avaliação e classificação dos mesmos. Somente CCOs classificados como grau I e II, os que possuem mais de 3 camadas de células do *cumulus oophorus* envolvendo completamente e compactamente o ovócito, forma arredondada, granulações finas e homogênea e de coloração marrom; o citoplasma preenche o interior da zona pelúcida, grau I; e o ovócito de grau II, cumulus rodeando completamente com menos de 3 camadas celulares; citoplasma com granulações distribuídas com heterogeneidade, podendo estar mais concentrado centro e mais clara na periferia; o citoplasma preenche o interior da zona pelúcida (Kuleshova *et al.*, 1999) foram utilizados para os experimentos.

Os CCOs selecionados foram lavados em meio de manipulação e em seguida transferidos para o meio de maturação (tabela I). Os CCOs foram mantidos em gotas de 100  $\mu\text{L}$  do meio de maturação (20-25 oócitos por gota), sob óleo mineral, por um período de 22 horas a 38,5 °C, em atmosfera de 5% de  $\text{CO}_2$ . Após esse período os oócitos foram lavados em 10 gotas de meio de manipulação e posteriormente desnudados.

### Denudação dos oócitos

A remoção das células do *cumulus*, foi realizada de forma mecânica para facilitar a visualização do corpúsculo polar (indicador da maturação nuclear) e evitar erros de interpretação dos resultados após as marcações fluorescentes.

### Micromanipulação

As micropipetas de *holding* e microinjeção foram confeccionadas a partir de capilares de vidro de borossilicato (Narishige) com uso de estirador de capilares (Sutter Instrument Company) e de microforja (Narishige). Antes de ser acoplada ao micro-manipulador, a pipeta de microinjeção foi preenchida com uma pequena quantidade de óleo mineral, depositado com auxílio de uma seringa acoplada com uma fina agulha, para que a solução a ser microinjetada não entre em contato com os elementos que foram colocados nas colunas posteriores.

**Tabela I:** Composição de meios de cultura utilizados para criopreservação dos oócitos bovinos

Meios	Composição
Solução fisiológica	Cloreto de sódio a 0,9 % acrescida de antibióticos, 100 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina.
Meio de manipulação	TCM-199 com sais de Earle, acrescido de 25 mM de Hepes e antibióticos, 100 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina, suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB).
Meio de maturação	TCM-199 com sais de Earle, acrescido de 20 mM de bicarbonato de sódio, suplementado com 10% de SFB, 5,0 µg/mL de LH, 0,5 µg/mL de FSH e antibióticos, 100 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina.
Solução de equilíbrio	Trealose 0,15 M em TCM-199 Hepes
Solução de microinjeção	Trealose 0,8 M, em tampão TRIS 10 mM
Meio de vitrificação	Trealose 0,5M em TCM-199 Hepes acrescido de 20 % de SFB
Solução "holding"	TCM-hepes 20% de soro fetal bovino
Meio de eletropermeabilização	Trealose 291mM, sulfato de magnésio 0,1mM e BSA 0,05mg/ml
Meio de cultivo	TCM-199 acrescido de 100 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina e 10% SFB

## Tratamentos

Oócitos aspirados de ovários provenientes de matadouros sofreram maturação *in vitro* e depois foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes tratamentos:

O tratamento controle foi dividido nos seguintes grupos: oócitos maturados *in vitro* (Tc); grupo penetrados (Tp), oócitos foram apenas perfurados pela pipeta de microinjeção; grupo microinjetados (Tm), oócitos foram microinjetados com solução de trealose.

Tratamento dos vitrificados: grupo dos microinjetados (Tmv), oócitos microinjetados com 0,8M de trealose de acordo com Eroglu *et al.*, 2002 e posteriormente vitrificados; grupo vitrificados com dimetilsulfóxido (DMSO) e etilenoglicol (EG) (Tvde), segundo Vajta *et al.*, 1998. Grupo eletropermeação (Te), oócitos foram submetidos à eletropermeação no meio contendo trealose e seguido sua vitrificação.

Os oócitos submetidos aos tratamentos Tp e Tm foram postos em cultivo em atmosfera controlada de 5 % de CO<sub>2</sub> e temperatura a 38 °C, durante 3 horas, para avaliar se houve rompimento celular.

Os oócitos vitrificados (tratamentos Tmv, Tvde e Te) foram descongelados, e avaliados quanto a sua capacidade de re-expansão durante a desvitrificação e pós-cultivo de 3 horas. Determinou-se a integridade de membrana com iodeto de propídio, e finalmente avaliou-se mudança de oligossacarídeos da zona pelúcida, manose e ácido siálico.

## Microinjeção de solução de trealose

Seguiu o protocolo descrito por Eroglu *et al.*, 2002. Inicialmente, os oócitos foram colocados, por 10 min, em uma gota de solução de equilíbrio (tabela I), para provocar uma retração do volume citoplasmático. Após este período a extremidade da palheta de microinjeção foi preenchida com uma solução de microinjeção (tabela I) iniciando-se o procedimento de microinjeção, com auxílio de um microinjetor (Transjector 5246 Eppendorf), acoplado a um microscópio invertido (Axiovert Zeiss). O ovócito foi posicionado de modo que o corpúsculo polar ficasse situado na posição superior (doze horas) ou na posição inferior (6 horas). O corte da zona pelúcida e o rompimento da membrana plasmática foram realizados por pulsos piezoelétricos (PiezoDrill, marca Burleigh), de frequência 2 Hz, duração 66 µs, amplitude 60V. Após a penetração da micropipeta de injeção no citoplasma, os oócitos foram microinjetados com a solução de trealose 0,8M até que seu volume retornasse ao volume isotônico (correspondente a 0,15M de trealose).

## Vitrificação

Após a microinjeção de trealose 0,8 M, grupo de três oócitos foram transferidos para uma gota de 20 µl de meio de vitrificação (tabela I) e mantidos por 1 min nessa solução, a temperatura ambiente. Os oócitos foram envasados por capilaridade em palhetas estiradas e abertas, e em seguida mergulhados em nitrogênio líquido.

## Vitrificação dos oócitos com crioprotetores penetrantes

Os oócitos foram vitrificados segundo Vajta *et al.*, 1998. As soluções utilizadas no procedimento foram distribuídas em placas de quatro poços, sobre uma placa aquecedora mantida a 39 °C. No primeiro e no segundo poços foram depositados 800µl de solução "holding" (Tabela I), no terceiro poço foi colocada a solução de vitrificação 1 (SV1 - 800 µl de meio "holding" + 100 µl de EG + 100 µl de DMSO) e no quarto poço a solução de vitrificação 2 (SV2-600 µl de solução de sacarose 0,6M + 200 µl de EG + 200 µl de DMSO). Antes do congelamento os oócitos foram parcialmente desnudados e em seguida mantidos por 30 segundos em cada um dos três primeiros poços. Posteriormente foram colocados em uma gota de 20 µl da solução SV2, de onde foram envasados em número de 3 oócitos por capilaridade em OPS e imersos em nitrogênio líquido, num tempo máximo de 30 segundos.

### Eletropermeabilização

Visando simplificar a metodologia de introdução da trealose no citoplasma dos oócitos, foi testado o método de eletropermeabilização. Para isso, grupos de dez oócitos foram colocados em 400 µl de um meio de eletropermeabilização (tabela I) e transferidos para uma cubeta contendo eletrodos de alumínio, com 2mm de espaço entre eles (BTX<sup>TM</sup>). A eletroporação foi realizada em um eletromanipulador (ECM 2001, marca BTX), com 8 ciclos de 150V, no modo alta voltagem (HV) em intervalos de 50 µsegundos de tempo entre os pulsos. Após 15 min os oócitos foram retirados da cubetas, colocados num meio de vitrificação, por 1 min e então envasados em OPS (3 oócitos/ palheta), em 1 µl de meio, e imediatamente colocados no nitrogênio líquido.

Para verificar a abertura de poros na membrana, adicionou-se uma solução de iodeto de propídio (10 µg/ml, Sigma, P 4170) ao meio de eletropermeabilização. Após 3 minutos da eletroporação, os oócitos foram colocados entre lâmina e laminula, com 5 µl do meio de eletroporação, e observados em microscópio invertido Eclipse TE 300 (Nikon) com fluorescência.

### Desvitrificação dos oócitos

Realizada segundo Vajta *et al.*, (1998) em uma placa de quatro poços. No primeiro e segundo poços foram colocados 800µl de solução "holding" acrescida de sucrose 0,5M. No terceiro poço foram colocado 800 µl de solução de "holding" acrescida de sacarose 0,25M. O quarto poço recebeu 800 µl de solução "holding". Todo o procedimento foi realizado sobre placa aquecedora a 41° C.

Após a preparação da placa, cada OPS foi retirada do botijão criogênico e sua extremidade mergulhada no primeiro poço, para a recuperação dos oócitos. Imediatamente os oócitos foram transferidos para o segundo poço com auxílio de uma pipeta, sendo mantidos por cinco minutos. O mesmo procedimento ocorreu nos demais. Em seguida os oócitos foram colocados por 3 horas em condições de cultivo *in vitro*.

Cultivo *in vitro* dos oócitos

O cultivo pós- desvitrificação foi realizado como método auxiliar para avaliação da integridade da membrana plasmática. Para isso os oócitos foram colocados em 100 µl de meio de cultivo (tabela I) durante 3 horas, a 38,5 °C e atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub>.

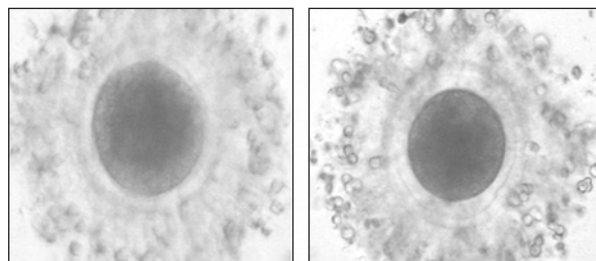
### Avaliação morfológica pós-desvitrificação

Após o período de 3 horas de cultivo *in vitro* foi avaliada a integridade da membrana plasmática e re-expansão citoplasmática, com auxílio de um microscópio invertido Eclipse TE 300 (Nikon), sob aumento de 200x (figura I).

### Avaliação da viabilidade celular

Foi determinada pela exposição dos oócitos à solução de iodeto de propídio (100µg/mL). Após o descongelamento os oócitos foram lavados em solução de PBS livre de cálcio e magnésio, com 20% de soro fetal bovino. Posteriormente, foram colocados em 5 µl de solução de iodeto de propídio por cinco minutos, ao abrigo da luz. Em

**Figura I:** Fotografias da resposta volumétrica do ovócito bovino maturado *in vitro*, antes (A) e após (B) exposição à solução de trealose 0,15M. Em B se observa a retração do citoplasma (desidratação) promovida pela solução hipertônica de trealose. Microscopia de luz, aumento de 400x.



seguida, entre lâmina e laminula e observados com auxílio de um microscópio invertido Axiovert (Zeiss) com fluorescência verde. Oócitos emitindo fluorescência vermelha foram considerados danificados, enquanto aqueles que não emitirem fluorescência foram considerados viáveis. Foi realizado um grupo maturado e exposto ao triton (detergente, que faz poros na membrana), de forma que este seja um grupo controle para marcação positiva, de forma a pré-determinar a marcação da placa metafásica por IP.

### Avaliação com lectinas

Durante a fertilização há a ligação dos espermatozoides no ovócito maturado através de oligossacarídeos da zona pelúcida. A ausência ou a mudança de conformação espacial desses oligossacarídeos impossibilita a fertilização, uma vez que a ligação do espermatozoide a essas glicoproteínas é uma ligação específica tipo chave-fechadura. Para avaliar os oligossacarídeos da zona pelúcida, manose e ácido siálico, também responsáveis pela ligação dos espermatozoides, utilizou-se lectinas marcadoras conca-Navalina-A (Con-A) e n-glucosamina (WGA), que marcam respectivamente manose e ácido siálico.

As células foram previamente lavadas por 10 minutos numa solução de PBS com 10% de BSA, logo após foram incubadas em uma solução de cloreto de amônio de 50mM em PBS durante 30 a 60 minutos. Seguidos, foram incubadas com as lectinas, Con-A (marcação de manose) e WGA (marcação do ácido siálico), diluídas em PBS com 1 % de BSA para uma concentração não aglutinante, a temperatura ambiente e em câmara úmida por 1 hora, ao abrigo da luz. Os oócitos foram lavados novamente em uma solução de PBS com 1 % de BSA. Finalmente foram montados e então avaliados num microscópio invertido

## RESULTADOS

### Efeito dos tratamentos sobre a taxa de retorno ao volume isotônico

O retorno dos oócitos ao seu volume isotônico é maneira prática de se avaliar a funcionalidade e a integridade da membrana plasmática. Oócitos dos diferentes tratamentos foram submetidos à avaliação da taxa de retorno ao volume isotônico, visto que as soluções de vitrificação utilizadas eram hipertônicas, promovendo dessa forma uma redução do volume citoplasmático devido a desidra-



tação (Figura I). Da mesma forma, dos tratamentos, tratamento de oócitos penetrados-Tp e tratamento de oócitos microinjetados-Tm, foram submetidos a essa avaliação como forma de determinar possíveis danos provocados pela microinjeção intracitoplasmática. A avaliação dos efeitos mecânicos da técnica de microinjeção mostrou que os oócitos simplesmente penetrados pela pipeta de microinjeção (Tp) e aqueles apenas microinjetados com solução de trealose (Tm) apresentaram taxas de retorno ao volume isotônico parcial ou total da ordem de 100%, mesmo após o período de cultivo *in vitro* (3h). Alterações importantes foram observadas, no entanto, nos oócitos vitrificados (Tabela 3). Dos 79 oócitos vitrificados após a microinjeção de trealose (Tmv), 55% retornaram total ou parcialmente ao seu volume isotônico, enquanto 21 % permaneceram com citoplasma contraído. Oócitos vitrificados com crioprotetores penetrantes (Tde) apresentaram de taxas de retorno superiores aos do tratamento T3 (68%) e taxa de não retorno de, apenas, 11%. O tratamento Te (vitrificados após eletropermeabilização) proporcionou o retorno ao volume isotônico total ou parcial de 80% dos oócitos criopreservados, contra

apenas 7% sem nenhuma modificação do volume citoplasmático, após as 3h de cultivo *in vitro* (Tabela II). Além de alterações detectadas no retorno ao volume isotônico, alguns tratamentos provocaram grandes lesões de membrana plasmática com conseqüente extrusão de conteúdo citoplasmático, sendo observada em 24, 21 e 13% dos oócitos de Tmv, Tde e Te, respectivamente.

Efeito dos tratamentos sobre a integridade da membrana plasmática

A integridade da membrana plasmática foi avaliada pela técnica da exclusão do iodeto de propídio. Oócitos controle (Tc) não apresentaram marcação intracitoplasmática, sendo possível apenas observar a marcação do corpúsculo polar no espaço perivitelinico (Figura I). Com exceção os oócitos de Tc (controle), todos os outros tratamentos interferiram com a integridade da membrana plasmática dos oócitos, determinando marcação pelo IP em 20%, 40%, 64%, 26% e 71% dos oócitos de Tp-penetrados, Tm-microinjetados, Tmv-microinjetados/vitrificados, Tde-vitrificados/ DMSO e EG e Te-eletropermeabilizados, respectivamente. A marcação pelo IP demonstrou, ainda, espalhamento de cromossomos provocado por alguns tratamentos, interfe-

Tabela II. Taxa de retorno ao volume isotônico de oócitos bovinos após descongelamento e cultivo *in vitro*

Tratamentos	Número de oócitos	Rompimento (%)	Retorno ao volume isotônico		
			total n(%)	mediano n(%)	nenhum(%)
Penetrados (Tp)	10	0	4(40)	6(60)	0
Microinj.(Tm)	15	0	15(100)	0	0
Microinj/vitr (Tmv)	79	19(24)	32(41)	11(14)	17(21)
Vitr/DMSO e EG (Tde)	47	10(21)	30(64)	2(4)	5(11)
Eletrop/Vitrif (Te)	15	2(13)	6(40)	6(40)	1(7)

Tabela III. Integridade da membrana plasmática e alterações cromossômicas de oócitos bovinos após descongelamento e cultivo *in vitro*

Tratamento	Número de oócitos	Marcação com Iodeto de propídio		
		Cromossomas não corados(%)	Cromossomas compactos n(%)	Cromossomas dispersos n(%)
Controle (Tc)	10	10(100)	0	0
Penetrados(Tp)	10	8(80)	2(20)	0
Microinjetados(Tm)	15	9(60)	0	6(40)
Microinj/vitrific (Tmv)	45	16(36)	17(37)	12(27)
Vitri/DMSO e EG (Tde)	28	18(64)	1(3)	9(23)
Eletrop/vitrif (Te)	7	2(29)	4(57)	1(14)

rindo com a configuração morfológica da placa metafásica. Esse efeito foi causado mecanicamente pela técnica de microinjeção, como evidenciado pela ocorrência de cromossomos dispersos em 40% dos oócitos de Tm. O espalhamento de cromossomos também foi observado em oócitos de Tmv (27%), Tde (23%) e Te (14%) (Tabela III).

### **Avaliação de componentes de glicoproteínas da superfície da zona pelúcida**

A determinação da presença da manose e ácido siálico na superfície da zona pelúcida de oócitos bovinos foi realizada pela marcação com Con-A e WGA acoplados ao FITC. Foi possível demonstrar a presença desses açúcares como constituintes da zona pelúcida, tendo ambas as marcações sido evidenciadas em 100% dos oócitos examinados.

Oócitos vitrificados (Tmv, Tvde e Te) foram examinados para verificar a ocorrência de alguma alteração na distribuição desses açúcares na superfície da zona pelúcida em decorrência dos tratamentos efetuados. Todos os oócitos avaliados apresentaram uma marcação homogênea por toda a zona pelúcida sem diferença da marcação observada nos oócitos controle.

### **DISCUSSÃO**

Vários grupos de pesquisa de áreas como a Embriologia e Reprodução Animal e Humana vêm procurando estabelecer um protocolo de congelamento de oócitos mais efetivo, com o objetivo de minimizar efeitos danosos da vitrificação (Begin *et al.*, 2002; Chian *et al.*, 2004; Eroglu *et al.*, 2002; Isachenko *et al.* 2005). Foi demonstrado que a trealose é um eficiente estabilizador de membranas biológicas, capaz de preservar sua integridade estrutural e funcional (Kuleshova *et al.*, 1999). Entretanto, para exercer essa ação é preciso uma metodologia que permita sua internalização, visto ser a trealose um crioprotetor de grande massa molecular, não sendo capaz de atravessar a membrana plasmática. Esse trabalho utilizou duas técnicas de introdução da trealose em oócitos bovinos (microinjeção e eletropermeabilização), a fim de avaliar a capacidade crioprotetora desse dissacarídeo intracelular na vitrificação desses gametas.

A microinjeção foi utilizada pela primeira vez por Eroglu (Eroglu *et al.*, 2002) para injetar trealose no citoplasma de oócitos humanos. Porém, não há dados sobre a utilização dessa técnica, nem mesmo da eletropermeabilização para internalização da trealose em oócitos bovinos.

A microinjeção pode ser uma fonte de injúrias ao ovócito. A avaliação da ação mecânica da microinjeção foi testada no Tp-penetrados e foi demonstrado que a simples penetração da agulha de microinjeção promoveu danos em 20% dos oócitos, os quais se apresentavam marcados pelo IP. Os efeitos da microinjeção foram ainda mais evidentes nos oócitos de Tm-microinjetados, os quais mostraram marcação pelo IP em 40% dos oócitos microinjetados.

Apesar desses resultados, as taxas de retorno ao volume isotônico obtidas com oócitos microinjetados com solução de trealose (Tmv) e eletropermeabilizados (Te) antes da vitrificação, demonstram que a trealose intracelular

foi capaz de preservar a integridade e funcionalidade da membrana plasmática de oócitos vitrificados. Apenas 21% e 7% dos oócitos desses tratamentos, respectivamente, não apresentaram retorno ao seu volume isotônico após a desvitrificação.

A trealose tem a capacidade de promover a proteção contra a remoção de água durante a desidratação, através da substituição da água de hidratação, estabilizando os fosfolípidos da membrana pela formação de pontes de hidrogênio e assim inibindo a desnaturação irreversível destes (Donnamaria *et al.*, 1994). Essas características que podem influenciar positivamente a viabilidade dos oócitos frente a vitrificação, concorrendo para minimizar as alterações da membrana plasmática durante o congelamento/descongelamento.

Oócitos vitrificados com concentrações mais elevadas de trealose (0,29 M) após eletropermeabilização apresentaram menor taxa de extrusão citoplasmática (13%), que oócitos vitrificados após microinjeção de trealose (0,15 M) (24%) e oócitos vitrificados com crioprotetores penetrantes (21%).

Porém apenas 36% dos oócitos microinjetados não apresentaram marcação ao IP, possivelmente devido a alterações na membrana plasmática provocadas pela microinjeção. Resultado semelhante foi observado nos oócitos eletropermeabilizados.

A elevada taxa de retorno observada é incompatível com a elevada taxa de marcação pelo IP, o que sugere fortemente que as lesões foram ocasionadas após o descongelamento, provavelmente provocadas pela reidratação excessiva dos oócitos. Tal situação pode ter sido ocasionada pela metodologia de desvitrificação, que seguiu o procedimento para desvitrificação com crioprotetores penetrantes (Vajta. *et al.*, 1998) ou devido a elevada concentração interna da trealose, principalmente nos oócitos do grupo Te, que receberam 0,29 M desse crioprotetor. Essa condição, aliada ao fato da trealose não se difundir através da membrana, pode levar a importante dano osmótico, pela entrada excessiva de água após o descongelamento.

Oócitos bovinos apresentam boa resposta à trealose extracelular. A exposição destes à solução de 0,35M de trealose diluída em TCM-Hepes com 10% de SFB, não alterou as taxas de clivagem e de blastocisto (66,4% e 33,9%, respectivamente) (Martins, 2001). Mas experimentos prévios realizados neste laboratório demonstraram que oócitos bovinos são mais sensíveis que oócitos de camundongos a exposição a trealose (Martins 2001).

A vitrificação de oócitos com crioprotetores penetrantes foi utilizada para comparação por ser amplamente utilizada e atualmente apresentar os melhores resultados de viabilidade ovocitária pós-desvitrificação. A utilização de crioprotetores penetrantes para a vitrificação de oócitos tem sido utilizada de várias maneiras. Otoi (Otoi *et al.*, 1998), vitrificaram oócitos bovinos com 40% etilenoglicol (EG) e obtiveram 24% de clivagens. Usando DMSO e EG na vitrificação de oóci-

tos bovinos, Chian (Chian *et al.*, 2004), conseguiram uma taxa de sobrevivência ovocitária de 92,8% e taxa de blastocisto de 7%.

Oócitos vitrificados com crioprotetores penetrantes (Ted) apresentaram taxa de retorno de 68%, superior a dos oócitos de Tmv (55%), porém inferior a de Te (80%). É importante ressaltar também o efeito desse tratamento sobre a disposição da placa metafásica. Dos dez oócitos que apresentaram marcação pelo IP, nove tinham cromossomos dispersos. O DMSO, um dos crioprotetores utilizados, pode ser causador de despolimerização dos fusos meióticos, levando ao aumento do potencial da poliploidia (Chian *et al.*, 2004). Esses resultados vêm confirmar a possibilidade de utilização da trealose intracelular como crioprotetor na vitrificação de oócitos bovinos e ressaltar sua baixa toxicidade celular. Zigotos de camundongos toleram bem a trealose intracelular até 0,15 M, sem diminuição na taxa do desenvolvimento (Chian *et al.*, 2004). Da mesma forma oócitos humanos, quando expostos ao meio contendo 0,15 M, apresentam uma retração de 70-75% do seu volume isotônico, retornando ao normal após a microinjeção de trealose 0,8 M (Eroglu *et al.*, 2002). O congelamento de oócitos humanos a -60° C, com trealose intracelular numa concentração de 0,15 M, resultou em 63% de viabilidade pós-descongelamento, medida como taxa de retorno ao volume isotônico (Eroglu *et al.*, 2002). A concentração de trealose utilizada em Tvm (0,15M) corresponde a concentração de trealose encontrada em muitos dos organismos anidrobióticos (Eroglu *et al.*, 2002), porém pode não ser a mais adequada para oócitos bovinos.

Oócitos bovinos são mais sensíveis ao congelamento do que oócitos humanos e de camundongos, porque, entre outras causas, possuem grande quantidade de lipídios no citoplasma (Martins, 2001). Os baixos índices de viabilidade ovocitária podem estar diretamente ligados à extrema sensibilidade da membrana a alterações de temperatura (Martins, 2001).

A trealose intracelular apresenta efeitos benéficos para a criopreservação de oócitos, porém é necessário adequar a técnica. A microinjeção demanda grande familiarização com equipamentos sofisticados, para evitar a ocorrência de injúrias mecânicas à zona pelúcida, à membrana plasmática e demais organelas dos oócitos. Além disso, a membrana plasmática do ovócito bovino é altamente elástica (Eroglu *et al.*, 2002), acompanhando facilmente a agulha de microinjeção sem se romper, fazendo com que o operador realize a injeção erroneamente no espaço perivitelinico. A utilização do Piezo (PiezoDrill, Burleigh) facilita essa penetração, cortando a zona pelúcida e abrindo caminho na membrana plasmática, por pulsos piezoelétricos, sem a necessidade de comprimir o ovócito para a penetração da agulha, o que diminui as injúrias provocadas pelo procedimento de microinjeção.

A microinjeção é uma técnica já estabelecida para fertilização de oócitos, porém demanda grande experiência do operador, equipamentos caros e sofisticados

e baixo rendimento. Por isso, neste trabalho, foi testada a utilização da eletropermeabilização para o mesmo fim. Ela permite trabalhar um maior número de oócitos em um curto espaço de tempo, de forma prática e simples, mas ainda com a desvantagem de necessitar de equipamento caro e sensível.

A vitrificação com crioprotetores penetrantes, apesar de amplamente utilizada, não apresenta resultados satisfatórios. A utilização de concentrações extremamente elevadas de crioprotetores tem sido um limitante desse método, devido ao grande potencial tóxico.

## CONCLUSÃO

Ficou demonstrado que a trealose intracelular tem um importante potencial para a criopreservação de oócitos bovinos, necessitando, no entanto a adequação de protocolos mais eficientes para sua internalização, assim como determinar concentração ideal e métodos de descongelamento que permitam sua utilização de forma eficiente, contribuindo assim para a utilização rotineira da criopreservação de oócitos humanos.

## Referências

- Begin I, Bhatia, B, Baldassarre, H, Dinnyes, A, Keefer, CL. Cryopreservation of goat oocytes and in vivo derived 2-to 4-cell embryos using the cryoloop (CLV) and solid-surface vitrification (SSV) methods. *Theriogenology*. 2002; 59: 1839-50.
- Chen, SU., Liem, YR., Chao, HN., Yang, Y, Lee, TY - Effect of cryopreservation on meiotic spindles of oocytes and its dynamics after thawing: clinical implications in oocytes freezing- a review article. *Mol and Cel Endocrinol*. 2003; 202: 101-7.
- Chian, CR., Uwayama, M, Tan L, Tan, J, Kato, O., Nagai, T. High survival rate of bovine oocytes matured in vitro following vitrification. *J of Reprod and Develop*. 2004; 50: 685-96.
- Donnamaria, MC., Howard, EI, Gricera, JR.-Interactions of water with  $\alpha,\alpha$ -trehalose in solution: molecular dynamics simulations approach. *J of Chem Soc Faraday Trans*. 1994; 90: 2731-5.
- Eroglu, A, Lawitts, JA, Torner M, Toth, TL. Beneficial effect of microinjected trehalose on the cryosurvival of human. *Fertil and Steril*. 2002; 77: 152-8.
- Eroglu, A, Lawitts, JA, Torner M, Toth, TL. Quantitative microinjection of trehalose into mouse oocytes and zygotes, and its effect on development. *Cryobiol*. 2002; 46: 121-34.
- Fabbri, R, Porcu, E, Marsella, T, Rocchetta, G, Venturoli, S, Flamigni, C. Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocytes survival. *Hum Reprod*. 2001; 16: 9.411-16.
- Kuleshova, L., Macfarlane, D.R., Trounson, A.O., Shaw, J. M.-Sugar exerts a major influence on the vitrification properties of ethylene glycol-based solutions and have low toxicity to embryos and oocytes. *Cryobiology*. 38: 119-1130, 1999
- Kuleshova, L., Gianaroli, L., Magli, C., Ferraretti, A., Trounson, A. -Birth vitrification of small number human oocytes. *Human Reproduction*, 3077-3079, 1999.
- Lane, M., Forest, K.T., Lyons, E.A., Bavister, B.D. - Live births following vitrification of hamster embryos using a novel containerless technique. *Theriogenology*, 51, p.167, 1999.
- Martins, R.P. Vitrificação de oócitos e embriões bovinos: Efeito do choque osmótico para introdução da trealose. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Produção Animal- Universidade Estadual do Norte Fluminense UENF Campos dos Goytacazes, RJ 2001.

Martino, A., Songsansen, N., Leibo, S.P.- Development into blastocysts of bovine oocytes cryopreserved by ultra-rapid cooling. *Biology Reproduction.*, 54: p.10591069, 1996.

Otoi, T., Yamamoto, K., Koyama, S., Suzuki, T. - Cryopreservation of matured bovine oocytes by vitrification in straws. *Cryobiology.*, 37: 77-85, 1998.

Palasz, A.T., Mapletoft, R.J.- Cryopreservation of mammalian embryos and oocytes: recent advances. *Biotechnology Advances.*, 2: p.127-149, 1996.

Parks, J. E., Ruffning, N. A.- Factors affecting low temperature survival of mammalian oocytes. *Theriogenology.*, 37, n.1, p.59-73, 1992

Porcu, E., Fabbri, R., Ciotti, P. M., Marsella, T., Ballicchia, B., Damiano, B., Carraciolo D., Giunchi S., De Sesari, R., Flamigni, C.- Cycles of human oocytes cryopreservation and intracytoplasmic sperm injection: results of 112 cycles. *Fertility and Sterility* 72 (supplement 1 ): S2. 1999.

Richards, A. B., Krakowka, S., Dexter L.B., Schmid, H., Wolterbeek A. P. M., Waalkens-Berendsen, D. H., Shigoyuki, A., Kurimoto, M.- Trehalose : a review of properties, history of use and human tolerance, and results of multiple safety studies. *Food and Chemical Toxicology.*, 40 : 871-898, 2002.

Shaw, J. M., Jones, M.G. - Terminology associates with vitrification and other cryopreservation procedures for oocytes and embryos. *Human Reproduction Update.*, 9:583-609, 2003.

Vajta, G., Booth, P.J., Holm, P.- Successful vitrification of early stage bovine in vitro produced embryos with the open pulled straw (OPS) method. *Cryo-Letters.*, 18, p. 191-195, 1997.

Vajta, G., Holm, P., Kuwayama, M., Booth, P.J., Jacobsen, H., Greve, T., Callesen, H.- Open pulled straw (OPS): vitrification: a new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos. *Molecular Reproduction Development.*, 51: 53-58, 1998.

Vajta, G.-Criopreservação de oócitos e embriões produzidos in vitro. In: Reunião anual da sociedade brasileira de transferência de embriões, 15, Rio Grande do Sul. Arquivos da Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre., 28:85-94, 2000.

Yoon, T. K., Chung H. M., Lim, J. M., Han, S. Y.; Ko, J. J., Cha, K. Y.- Pregnancy and delivery healthy infants developed from vitrified oocytes in a stimulated in vitro fertilization embryo-transfer program. *Fertility and Sterility.*, 74, 180-181, 2000.

#### Endereço para correspondência:

Avenida do Contorno nº 7747 - Lourdes

Belo Horizonte - MG

Telefone: (31) 21026317

email: hastenreitergp@gmail.com

Financiamento: Fundação de apoio a pesquisa do estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).



# A luteinização prematura e suas implicações nos resultados da fertilização *in vitro*

## The impact of premature luteinization and in vitro fertilization outcome

Michelle Amorim Costa Burmann,<sup>1</sup> Marcos Sampaio,<sup>1</sup> Selmo Geber,<sup>1</sup>

1 - Clínica Origen - Av do Contorno, 7747 - Lourdes  
Belo Horizonte - Minas Gerais  
Tel: (31) 2102 6363 - Fax: (31) 2102 6334  
Email: selmogeber@origen.com.br

### Resumo

A luteinização prematura consiste na elevação dos níveis séricos da progesterona, além dos valores de referência, no dia da aplicação da gonadotrofina coriônica humana para maturação final dos oócitos, nos ciclos de fertilização *in vitro* (FIV). Por ser evento frequente e de etiologia incerta desperta o interesse quanto a suas implicações clínicas. Estudos vem sendo realizados buscando definir a existência de uma associação entre a luteinização prematura e os resultados da FIV. Vários autores descrevem uma redução significativa nas taxas de gravidez das pacientes que a apresentam, sugerindo alternativas para o tratamento desses casais. Estes dados, entretanto, são ainda controversos. A presente revisão tem como objetivo avaliar os dados disponíveis na literatura para um melhor delineamento de conduta, buscando responder se níveis elevados de progesterona ao final da fase folicular interferem nos resultados da FIV, nos ciclos em que se utilizam análogos de GnRH.

**Palavras-chave:** luteinização prematura, progesterona elevada, fertilização *in vitro*

### Abstract

*Premature luteinization is defined as a rise in serum progesterone levels on the day of human chorionic gonadotrophin administration for final oocyte maturation, during in vitro fertilization (IVF) cycles, above a threshold level. It is a frequent event of uncertain aetiology. Studies have been made trying to look for an association between premature luteinization and IVF outcome. Significant reduction in pregnancy rates has been reported by many authors. Alternative treatment to the couple who present with premature luteinization has been suggested for several researches, but it remains controversial. The aim of this review is to verify the literature data trying to find if the elevated progesterone levels at the end of the follicular phase have an association with IVF outcome in cycles using GnRH analogs.*

**Key-words:** premature luteinization, progesterone elevation, in vitro fertilization.

### INTRODUÇÃO

A utilização das gonadotrofinas para hiperestimulação ovariana nos ciclos de fertilização *in vitro* (FIV) modifica o perfil hormonal das pacientes se comparado àquele dos ciclos naturais. O rápido aumento da concentração sérica do

estrogênio (E2) a níveis supra-fisiológicos leva ao aparecimento precoce do hormônio luteinizante (LH), estimulando a produção de progesterona (P4) (Escudero *et al.*, 2005).

A introdução do uso dos análogos do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) para supressão hipofisária, a partir de 1984, reduziu significativamente o pico precoce do LH. Mesmo assim, ainda verifica-se aumento nos níveis de P4 ao final da fase lútea (Venetis *et al.*, 2007). Define-se luteinização prematura (LP) a elevação dos níveis séricos da progesterona, além dos valores de referência, no dia da aplicação da gonadotrofina coriônica humana (hCG), para maturação final dos oócitos nos ciclos de FIV (Venetis *et al.*, 2007). Sua incidência varia de acordo com o protocolo de estimulação ovariana utilizado, estando presente em cerca de 5% a 30% dos ciclos nos quais se utilizam agonistas e em 20% a 38% daqueles nos quais se opta pelos antagonistas do GnRH (Bosch *et al.*, 2003; Eldesten *et al.*, 1990; Silverberg *et al.*, 1991; Ubaldi *et al.*, 1996).

É controversa a origem da LP (Melo *et al.*, 2006; Ubaldi *et al.*, 1996). Uma dessensibilização incompleta da hipófise pelos análogos do GnRH permitiria que o aumento dos níveis séricos de E2 estimulasse a produção de LH. Esse, agindo sobre as células da granulosa, induziria a produção de P4 sem, contudo, deflagrar a ovulação (Ubaldi *et al.*, 1996). A sensibilidade dos receptores de LH nas células da granulosa parece estar aumentada. Com isso, eles passam a ser estimulados pelo estrogênio e pelo hormônio folículo estimulante (FSH) elevando os níveis de progesterona (Ubaldi *et al.*, 1996). Foi também sugerido que a LP seria uma manifestação de baixa reserva ovariana. Tais mulheres, por apresentarem maior nível de FSH circulante, estimulariam os receptores das células da granulosa levando a produção de progesterona precocemente, mas os estudos não são conclusivos (Bosch *et al.*, 2003; Fanchin *et al.*, 1997; Hofmann *et al.*, 2002; Younis *et al.*, 1998).

As reais implicações dessa modificação no ambiente endócrino das pacientes não foram ainda definidas. Especula-se que concentrações plasmáticas elevadas de P4 possam alterar o microambiente folicular, afetando a qualidade oocitária (Silverberg *et al.*, 1991). Além disso, poderiam modificar o endométrio, diminuindo sua receptividade

de (Melo *et al.*, 2006). A luteinização prematura seria, portanto, um fator prejudicial, interferindo negativamente nos resultados da FIV. Os dados da literatura, entretanto, são ainda controversos (Venetis *et al.*, 2007).

Por ser evento frequente e com possíveis implicações práticas, vem despertando o interesse nos últimos anos. Se as pacientes que cursam com LP realmente apresentam pior resultado nos ciclos de FIV, alternativas de tratamento deverão ser oferecidas com a finalidade de se obter melhores taxas de gravidez.

A presente revisão tem como objetivo avaliar os dados disponíveis na literatura para um melhor delineamento de conduta, buscando responder se níveis elevados de P4 ao final da fase folicular interferem nos resultados da FIV, nos ciclos em que se utilizam análogos de GnRH. Foram realizadas pesquisas bibliográficas nas bases de dados Medline e Lilacs utilizando-se os termos *premature luteinization*, *progesterone elevation* e *in vitro fertilization* no período de 1984 a 2007. Foram excluídos os artigos que não abordavam a questão proposta.

## DISCUSSÃO

Apesar da luteinização prematura ser definida como elevação dos níveis de P4 ao final da fase folicular nos ciclos de FIV, não existe consenso quanto ao valor ideal para expressá-la numericamente (Venetis *et al.*, 2007). Grande parte dos estudos desenvolvidos até o momento utilizou valores selecionados de forma arbitrária (Venetis *et al.*, 2007). O ponto de corte da progesterona descrito pelos autores varia de maior que 0,5 ng/ml (Schoolcraft *et al.*, 1991) a maior que 1,5 ng/ml (Papanikolaou *et al.*, 2007). Alguns trabalhos definem LP como a relação P4/E2 maior que 1 (Ozasakir *et al.*, 2004).

A maioria dos estudos disponíveis na literatura é retrospectiva, o que pode permitir a existência de viés interferindo com os resultados. As características básicas das pacientes como idade, causa da infertilidade, dose de gonadotrofinas utilizadas e número de embriões transferidos foram semelhantes entre os grupos avaliados na maioria dos estudos (Bosch *et al.*, 2003; Venetis *et al.*, 2007).

Os agonistas do GnRH foram os primeiros métodos de bloqueio da função hipofisária a serem empregados nos ciclos de FIV. Com a sua utilização verificou-se uma diminuição na incidência de picos precoces de LH durante a hiperestimulação ovariana (Venetis *et al.*, 2007), e apesar de promoverem supressão hipofisária com queda do LH, não foram capazes de inibir completamente a elevação da progesterona ao final da fase folicular (Ubaldi *et al.*, 1996; Venetis *et al.*, 2007).

A maior parte dos estudos que avaliaram a incidência de LP em ciclos de FIV, aborda o uso dos agonistas de GnRH. Na maioria deles não foram encontradas alterações significativas nas taxas de gravidez, quando compararam pacientes com e sem elevação precoce de P4 (Abuzeid & Sasy, 1996; Edelstein *et al.*, 1990; Hofmann *et al.*, 1996; Martinez *et al.*, 2004; Miller *et al.*, 1996; Moffitt *et al.*, 1997; Silverberg *et al.*, 1991). A tabela 1 traz as principais características desses estudos.

Dois dos trabalhos analisados demonstraram que a presença de LP aumentou a taxa de gravidez em ciclos com agonistas de GnRH (Doldi *et al.*, 1999; Legro *et al.*, 1993). Legro *et al.*, em 1993, após avaliarem 114 ciclos

consecutivos de doadoras de oócitos, observaram uma maior taxa de gravidez nas pacientes que apresentaram P4 maior que 1,2 ng/mL ( $P=0,012$ ). O trabalho de Doldi *et al.*, 1999, avaliou mulheres com síndrome dos ovários policísticos ( $n=84$ ) e as comparou com um grupo controle formado por 84 pacientes apresentando fator tubário como única causa de infertilidade. Desse modo, observaram que, apenas no grupo de estudo, pacientes com níveis séricos de P4 maiores ou iguais a 1,2 ng/mL apresentaram maiores taxas de gravidez ( $P<0,01$ ).

Alguns autores observaram redução da taxa de gravidez em mulheres que apresentaram P4 elevada ao final da fase folicular em ciclos nos quais utilizaram agonistas do GnRH (Ozasakir *et al.*, 2004; Schoolcraft *et al.*, 1991; Shulman *et al.*, 1996). Em 1991, Schoolcraft *et al.* avaliaram 113 ciclos de FIV nos quais observaram redução significativa nas taxas de gravidez daqueles que apresentaram níveis séricos de P4 maiores que 0,5 ng/mL ( $P<0,005$ ). O trabalho de Shulman *et al.*, 1996, avaliou 3 grupos de pacientes definidos de acordo com o nível de progesterona sérica no dia do hCG: grupo A, P4 < 0,9 ng/mL (525 ciclos), grupo B, P4 entre 1 e 2 ng/mL (223 ciclos) e grupo C, P4 > 2 ng/mL (38 ciclos), sendo as maiores taxas de gravidez observadas no grupo A ( $A>B>C$ ;  $P<0,005$ ). Ozasakir *et al.*, em 2004, definiram luteinização prematura como a relação P4/E2 maior que 1 e compararam dois grupos de pacientes com e sem LP ( $n=132$  e 116, respectivamente), observando menores taxas de gravidez no primeiro grupo ( $P<0,05$ ).

O uso dos antagonistas do GnRH nos ciclos de FIV tem por objetivo bloquear rapidamente a hipófise o que, inicialmente, parecia ser capaz de impedir a elevação do LH e, conseqüentemente, a ocorrência de LP (Ubaldi *et al.*, 1996). Contudo, desde 1996, vários estudos vêm demonstrando elevação de P4 mesmo assim (Ubaldi *et al.*, 1996). Dos trabalhos avaliados, dois demonstraram redução nas taxas de gravidez das pacientes que apresentaram LP (Bosch *et al.*, 2003; Papanikolaou *et al.*, 2007), enquanto um não encontrou alterações significativas (Ubaldi *et al.*, 1996). A tabela 2 apresenta as características desses estudos.

Recente metanálise, publicada em 2007, analisou 12 artigos selecionados de 1984 a 2005 com o objetivo de definir se a elevação da progesterona no dia do hCG está associada à possibilidade de gravidez nas pacientes submetidas a FIV (Venetis *et al.*, 2007). Após análise criteriosa, tendo como ponto de corte o valor de progesterona de 0,9 ng/ml, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos com e sem LP, independente do análogo de GnRH utilizado (agonista ou antagonista). A idade das pacientes e o número de embriões transferidos foram semelhantes. Os autores concluíram que a elevação da progesterona no dia da administração do hCG parece não estar associada à probabilidade de gravidez em mulheres submetidas a estimulação ovariana com análogos de GnRH e gonadotrofinas. A tabela 3 resume as principais características dos estudos. Desde que os primeiros trabalhos começaram a questionar a interferência da LP nos resultados da FIV, surgiram dúvidas quanto a seu possível mecanismo de ação. Tornou-se necessário determinar se a alteração básica seria no endométrio ou nos oócitos. Estudo realizado por

**Tabela 1.** Estudos que utilizaram agonistas de GnRH e não demonstraram relação significativa entre a presença de luteinização prematura e alterações nas taxas de gravidez (TxG).

Estudos	Tipo de estudo	Ciclos/pacientes	Valor da P4	Relação com TxG
Edelsten <i>et al.</i> , 1990	retrospectivo	101/101	> 0,9 ng/mL	NS
Silverberg <i>et al.</i> , 1991	retrospectivo	115/115	> 0,9 ng/mL	NS
Hofmann <i>et al.</i> , 1996	retrospectivo	133/133	> 0,9 ng/mL	NS
Abuzeid & easy, 1996	retrospectivo	63/54	> 0,9 ng/mL	NS
Miller <i>et al.</i> , 1996	retrospectivo	168/168	> 0,9 ng/mL	NS
Moffitt <i>et al.</i> , 1997	retrospectivo	333/333	> 0,9 ng/mL	NS
Martinez <i>et al.</i> , 2004	retrospectivo	377/377	> 0,9 ng/mL	NS

Valor da P4: valor da progesterona definidor de luteinização prematura.

NS: não significativo.

**Tabela 2.** Estudos que utilizaram antagonistas de GnRH e avaliaram a relação entre a presença de luteinização prematura e as taxas de gravidez (TxG).

Estudos	Tipo de estudo	Ciclos/pacientes	Valor de P4	Relação com TxG
Ubaldi <i>et al.</i> , 1996	retrospectivo	24/24	> 1,1 ng/mL	NS
Bosch <i>et al.</i> , 2003	prospectivo	85/85	> 1,2 ng/mL	diminui
Papanikolaou <i>et al.</i> , 2007	prospectivo	482/482	> 1,5 ng/mL	diminui*

Valor da P4: valor da progesterona definidor de luteinização prematura. NS: não significativo.

\* Diminuição da taxa de gravidez após transferência de embriões D3, sem efeitos sobre a transferência de blastocistos.

**Tabela 3.** Características dos estudos que compõem a metanálise publicada por Venetis *et al.*, 2007.

Estudos	Tipo de estudo	Ciclos/ pacientes	Supressão Hipofisária	Valor de P4	Relação com TxG
Edelstein <i>et al.</i> , 1990	retrospectivo	101/101	agonista	0,9 ng/mL	NS
Silverberg <i>et al.</i> , 1991	retrospectivo	115/115	agonista	0,9 ng/mL	NS
Check <i>et al.</i> , 1993	----	119/119	agonista	1,0 ng/mL	NS
Check <i>et al.</i> , 1994	retrospectivo	138/138	agonista	1,0 ng/ml	diminui
Shechter <i>et al.</i> , 1994	retrospectivo	104/104	agonista	1,0 ng/mL	NS
Hofmann <i>et al.</i> , 1996	retrospectivo	133/133	agonista	0,9 ng/mL	NS
Miller <i>et al.</i> , 1996	retrospectivo	125/125	agonista	0,9 ng/mL	NS
Ubaldi <i>et al.</i> , 1996	retrospectivo	24/24	antagonista	1,2 ng/mL	NS
Moffitt <i>et al.</i> , 1997	retrospectivo	333/333	agonista	0,9 ng/mL	NS
Urman <i>et al.</i> , 1999	retrospectivo	911/911	agonista	0,9 ng/mL	aumenta
Bosch <i>et al.</i> , 2003	prospectivo	85/85	antagonista	1,2 ng/mL	diminui
Martinez <i>et al.</i> , 2004	retrospectivo	377/377	agonista	0,9 ng/mL	NS

Valor da P4: valor da progesterona definidor de luteinização prematura. TxG: taxa de gravidez; ---- não relatados;

NS: não significativo.

Silverberg *et al.*, em 1994, no qual foram transferidos embriões congelados, não mostrou diferenças estatisticamente significativas nas taxas de gravidez clínica entre os grupos com e sem P4 maior que 0,9 ng/ml. Em 2006, Melo *et al.* realizaram estudo com doadoras, no qual cada uma delas atuava como seu próprio controle (um ciclo com P4 maior ou igual a 1,2 ng/ml e outro com P4 menor que 1,2 ng/ml). Concluíram não haver impacto negativo da LP nas taxas de gravidez clínica das receptoras, estando preservada a qualidade dos oócitos. Esses trabalhos sugerem que níveis elevados de P4 ao final da fase folicular aceleram a maturação do endométrio, deixando-o fora de fase, o que poderia afetar a implantação e diminuir as taxas de gravidez (Melo *et al.*, 2006; Silverberg *et al.*, 1991). Chetkowsky *et al.*, 1997, no entanto, realizaram estudo com 25 doadoras no qual analisaram amostras de endométrio obtidas no dia da coleta dos oócitos, correlacionando tais achados aos níveis de P4 séricos. Encontraram endométrio fora de fase (secretor) em 12 pacientes, sendo que em 75% delas a P4 foi maior que 0,9 ng/mL. Com níveis de progesterona maiores ou iguais a 0,9 ng/mL o valor preditivo positivo foi de 78,6% para transformação secretora do endométrio no dia do hCG. As taxas de gravidez, contudo, foram semelhantes entre os grupos, independentemente do tipo de endométrio encontrado. Escudero *et al.*, em 2005, propuseram a utilização de mifepristone (antiprogestínico) para prevenir o aparecimento da luteinização prematura, durante ciclos de hiperestimulação ovariana controlada, como alternativa aos análogos de GnRH. Realizaram estudo com 15 doadoras de oócitos no qual 5 utilizaram análogos de GnRH, em protocolo longo (grupo controle), e 10 utilizaram mifepristone (50 mg/dia) e FSH recombinante iniciados a partir do segundo dia do ciclo (grupo de estudo). Todas as pacientes do grupo de estudo receberam progesterona ao final da fase folicular, sendo que em apenas 5 delas foi utilizado hCG para deflagrar ovulação. Biópsias endometriais foram realizadas 2 e 7 dias após administração do hCG ou da P4. Observaram que, das pacientes que receberam mifepristone, apenas aquelas que fizeram uso do hCG apresentaram oócitos para coleta e endométrio compatível com a fase do ciclo. Os níveis séricos de P4 ficaram abaixo de 1,2 ng/mL em todas as pacientes do grupo de estudo. O endométrio das pacientes que não receberam hCG mostrou atraso no desenvolvimento. Com isso, concluíram que o mifepristone é eficaz em prevenir o aparecimento da luteinização prematura, possuindo, entretanto, efeitos adversos sobre o endométrio.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de luteinização prematura em ciclos de FIV nos quais se utilizam os análogos do GnRH constitui questão em aberto desde sua possível causa até suas implicações clínicas. Os trabalhos disponíveis não permitem conclusões definitivas.

Não foi, ainda, definido se a elevação de P4 ao final da fase lútea se deve a bloqueio parcial da hipófise, à maior sensibilidade dos receptores de LH ou à menor reserva ovariana (Hofmann *et al.*, 2002; Melo *et al.*, 2006; Ubaldi *et al.*, 1996).

O valor de corte mais adequado para definir numericamente a LP permanece como fator de confusão. São necessários estudos para que ele possa ser estabelecido, permitindo análise de dados mais homogêneos e conclusões mais precisas quanto a suas consequências.

A importância clínica deste tema reside em buscarmos sempre oferecer aos casais inférteis o melhor tratamento possível. Caso se confirmem piores resultados nos ciclos de FIV, nos quais a luteinização prematura está presente, poderá esta ser evitada? Criopreservar embriões oferecerá maiores taxas de gravidez? Dosagens seriadas de P4 na fase folicular com o objetivo de definir o melhor momento para aplicação do hCG terá influência positiva? Enfrentaremos, assim, novos desafios para encontrarmos alternativas mais eficazes. Até o momento não existem dados suficientes para se concluir que a LP é fator de impacto na taxa de gravidez.

## Referências

- Abuzeid MI & Sasy MA. Elevated progesterone levels in the late follicular phase do not predict success of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1996; 65:981-5.
- Bosch E, Valencia I, Escudero E *et al.* Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril*. 2003; 80:1444-9.
- Chetkowsky RJ, Kiltz RJ & Salyer WR. In premature luteinization, progesterone induces secretory transformation of the endometrium without impairment of embryo viability. *Fertil Steril*. 1997; 68:292-7.
- Dirnfeld M, Goldman S, Gonen Y *et al.* A modest increase in serum progesterone levels on the day of human chorionic gonadotropin (hCG) administration may influence pregnancy rate and pregnancy loss in in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) patients. *J Assist Reprod Genet*. 1993; 10:126-9.
- Doldi N, Persico P, De Santis L *et al.* Serum progesterone at human chorionic gonadotropin injection significantly correlate with female age. *Minerva Ginecol*. 2005; 57:477-82.
- Edelstein MC, Seltman HJ, Cox BJ *et al.* Progesterone levels on the day of human chorionic gonadotropin administration in cycles with gonadotropin-releasing hormone agonist suppression are not predictive of pregnancy outcome. *Fertil Steril*. 1990; 54:153-6.
- Escudero EL, Boerrigter PJ, Bennink HJTC *et al.* Mifepristone is an effective oral alternative for the prevention of premature luteinization hormone surges and/or premature luteinization in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for *in vitro* fertilization. *J Clin Endocrinol Metabol*. 2005; 90:2081-88.
- Ezra Y, Simon A, Sherman Y *et al.* The effect of progesterone administration in the follicular phase of an artificial cycle on endometrial morphology: a model of premature luteinization. *Fertil Steril*. 1994; 62:108-12.
- Fanchin R, de Ziegler D, Taieb J *et al.* Premature elevation of plasma progesterone alters pregnancy rates of in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril*. 1993; 59:1090-4.
- Fanchin R, Righini C, Olivennes F *et al.* Consequences of premature progesterone elevation on the outcome of in vitro fertilization: insights into a controversy. *Fertil Steril*. 1997; 68:799-805.
- Hofmann GE, Khoury J & Michener C. Elevated serum progesterone-to-estradiol ratio during gonadotropin stimulation for intrauterine insemination or in vitro fertilization is not associated with diminished ovarian reserve. *Fertil Steril*. 2002; 78:47-50.
- Legro RS, Ary BA, Paulson RJ *et al.* Premature luteinization as detected by elevated serum progesterone is associated with a higher pregnancy rate in donor oocyte in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1993; 8:1506:11.



Martinez F, Coroleu B, Clua E *et al.* Serum progesterone concentrations on the day of HCG administration cannot predict pregnancy in assisted reproduction cycles. *Reprod Biomed Online*. 2004; 8:183-90.

Melo MAB, Meseguer M, Garrido N *et al.* The significance of premature luteinization in an oocyte-donation programme. *Hum Reprod*. 2006; 6:1503-07.

Ozasakir HT, Levi R, Tavmergen E *et al.* Premature luteinization defined as progesterone estradiol ratio > 1 on hCG administration day seems to adversely affect clinical outcome in long gonadotropin-releasing hormone agonist cycles. *J Obstet Gynaecol Res*. 2004; 30:100-4.

Papanikolaou EG, Kolibianakis EM, Pozzobon C *et al.* Progesterone rise on the day of human chorionic gonadotropin administration impairs pregnancy outcome in day 3 single-embryo transfer, while has no effect on day 5 single blastocyst transfer. *Fertil Steril*. 2007; (epub ahead of print).

Randall GW, Gantt PA, Gantt D *et al.* Elevated serum progesterone values at the time of ovulation induction in luteal leuprolide acetate-down-regulated GIFT cycles are associated with decreased clinical pregnancy rates. *J Assist Reprod Genet*. 1996; 13:459-63.

Schoolcraft W, Sinton E, Schlenker T *et al.* Lower pregnancy rate with premature luteinization during pituitary suppression with leuprolide acetate. *Fertil Steril*. 1991; 55:563-6.

Shulman A, Ghetler Y, Beyth Y *et al.* The significance of an early (premature) rise of plasma progesterone in in vitro fertilization cycles induced by a "long protocol" of gonadotropin releasing hormone analogue and human menopausal gonadotropins. *J Assist Reprod Genet*. 1996; 13:207-11.

Silverberg KM, Martin M, Olive DL *et al.* Elevated serum progesterone levels on the day of human chorionic gonadotropin administration in in vitro fertilization cycles do not adversely affect embryo quality. *Fertil Steril*. 1994; 61:508-13.

Silverberg KM, Burns WN, Olive DL *et al.* Serum progesterone levels predict success of in vitro fertilization/embryo transfer in patients stimulated with leuprolide acetate and human menopausal gonadotropins. *J Clin Endocrinol Metabol*. 1991; 73:797-803.

Ubaldi F, Albano C, Peukert M *et al.* Subtle progesterone rise after the administration of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Hum Reprod*. 1996; 11:1405-07.

Venetis CA, Kolibianakis EM, Papanikolaou E *et al.* Is progesterone elevation on the day of human chorionic gonadotrophin administration associated with the probability of pregnancy in in vitro fertilization? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2007; 13:343-55.

Younis JS, Haddad S, Matilsky M *et al.* Premature luteinization: could it be an early manifestation of low ovarian reserve? *Fertil Steril*. 1998; 69:461-5.

# Gravidez após a maturação *in vitro* de oócitos obtidos sem estimulação hormonal em paciente com ovários policísticos.

## Pregnancy after in vitro maturation of oocytes collected without hormonal stimulation in a patient with polycystic ovaries.

Nilo Frantz<sup>1</sup>, Adriana Bos-Mikich<sup>2</sup>, Gerta Frantz<sup>1</sup>, Marcos Höher<sup>1</sup>, Marcelo Ferreira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz, Porto Alegre, RS.

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Morfológicas, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

### Resumo

Esta é a primeira descrição no Brasil de gravidez após o uso da tecnologia de maturação *in vitro* (IVM) de oócitos obtidos em ciclo sem estimulação ovariana com gonadotrofinas exógenas, em uma paciente com infertilidade primária, portadora de ovários policísticos.

**Palavras-chave:** maturação ovariana *in vitro*, gravidez, ovários policísticos.

### Abstract

*This is the first brazilian report of pregnancy after in vitro maturation of oocytes (IVM) obtained in a cycle without exogenous gonadotrophins for ovarian stimulation in a patient with primary infertility due to polycystic ovaries.*

**Keywords:** *in vitro maturation, pregnancy, polycystic ovaries.*

### INTRODUÇÃO

A maturação *in vitro* é uma metodologia emergente em reprodução assistida (RA) humana, a qual vem atraindo um número cada vez maior de especialistas em busca de um tratamento alternativo às tecnologias clássicas, particularmente para pacientes portadoras de ovários policísticos ou da síndrome dos ovários policísticos (SOP). Estas pacientes são muito sensíveis à estimulação ovariana com gonadotrofinas exógenas e correm um risco bastante elevado de sofrerem a síndrome da hiperestimulação ovariana, em consequência do tratamento hormonal que é parte dos tratamentos clássicos de RA (Practice Committee of the ASRM). Além de efetivamente excluir o risco de hiperestímulo, a metodologia de IVM apresenta as vantagens adicionais de ter um custo bastante reduzido em comparação aos tratamentos clássicos e de ser mais simples de ser conduzida pelo clínico.

Há mais de uma década, Trounson e colegas (1994) realizaram as primeiras coletas de oócitos imaturos obtidos de

pacientes com ovários policísticos chegando a uma gestação e nascimento, após a fertilização *in vitro* e transferência de embriões gerados a partir de oócitos maturados *in vitro*. Em 2007 apresentamos no XI Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida nossa primeira experiência com uma série de 10 pacientes portadoras da síndrome dos ovários policísticos tratadas pela metodologia da IVM e transferência de embriões (Frantz et al., 2007). O presente relato de caso descreve, a nosso ver, a primeira gestação no Brasil resultante da transferência de embriões gerados a partir de oócitos maturados *in vitro*, em ciclo sem estimulação ovariana, em uma paciente com ovários policísticos.

### DESCRIÇÃO DO CASO

A paciente NEP, 23 anos, procurou nosso serviço em outubro de 2007 por infertilidade primária. Paciente com ciclos regulares, perfil hormonal normal e ovários, à ultrasonografia, com múltiplos pequenos folículos menores que 10 mm na periferia (ovários policísticos). O marido apresentava astenoteratospermia, com espermograma apresentando concentração de 26 milhões/ml, motilidade 3% A e 17%B, morfologia de 14% normais (OMS). Já haviam tentado um ciclo de inseminação intra-uterina em outro serviço, sem sucesso. Após esclarecimentos e discussão sobre a metodologia de IVM, o casal concordou em participar do programa, assinando consentimento livre e informado.

Foi realizada a monitorização do ciclo com ultra-sonografia seriada para avaliar o crescimento do folículo dominante e da espessura endometrial. No 12º dia do ciclo a paciente apresentava folículo dominante com 11mm e endométrio de aspecto trilaminar com espessura de 5mm, e, nesse dia, foi aplicado 10.000 UI de hCG sub-cutâneo (Choriomon®). Após 36h do uso do hCG foi realizada a

coleta dos oócitos imaturos utilizando-se uma agulha de 19-Gauge, especialmente desenhada pela fabricante Cook para essa técnica, e pressão de sucção de 75 a 80 mmHg. A punção foi guiada por ultra-sonografia transvaginal, com sonda multifrequencial de 5 a 9 mHz (Ultrasonix OP, Sonix).

Para o preparo do endométrio, a paciente recebeu vale-rato de estradiol oral (6mg), a partir do dia da punção ovariana. Após a punção foram obtidos 11 complexos cumulus-oócitos (CCOs), os quais foram imediatamente postos em cultivo em meio de maturação (Oocyte Maturation Medium, Sage, USA) já acrescido de fonte protéica e suplementado com 75UI de FSH, 75UI de LH (Menopour, Ferringer, Suecia) a 37°C, 5% CO<sub>2</sub> em atmosfera úmida por 36 horas. Após este período, os CCOs foram denu-dados pela exposição à hialuronidase (Sage) e avaliados quanto a ausência de vesícula germinativa e presença de primeiro corpúsculo polar. Dez oócitos atingiram o está-gio de metáfase II (MII), perfazendo um índice de 91% de maturação. Estes oócitos foram inseminados por inje-ção intracitoplasmática de espermatozóides (ICSI) (n=4) ou por fertilização *in vitro* (FIV) (n=6), 3 a 4 horas após a denudação. Os parâmetros seminais do marido, pós-capacitação para inseminação por FIV foram de 30 x 10<sup>6</sup> espermatozóides móveis rápidos e direcionais /ml.

Quando a fertilização foi avaliada 18 horas após ICSI e FIV, dois zigotos foram detectados provenientes da ICSI. Os dois zigotos foram transferidos para cultivo em meio Embryo Maintenance Medium (Sage) por 72 horas até a transferência realizada no 3º. dia pós-insemina-ção. Quando avaliados ambos os embriões apresenta-ram desenvolvimento satisfatório para o terceiro dia de desenvolvimento, um apresentando 8 células e o outro 6 células sendo que ambos foram classificados como grau II (Veeck, 1999), por apresentarem um pequeno grau de fragmentação (cerca de 15%). Para transferência foi utilizado um cateter de Wallace®. A paciente apresentou endométrio de espessura de 8mm, adequado à transfe-rência no 3º. dia pós-inseminação. Suporte lúteo foi feito pela administração de progesterona micronizada (600mg/dia), a partir do dia da inseminação.

Decorridos 14 dias da transferência embrionária solicita-mos um exame de  $\beta$ hCG plasmático que revelou índice de 406 mU/mL. O acompanhamento ultrassonográfico no 21º. dia de gestação demonstrou a presença de um único saco gestacional com batimentos cardíacos regulares. A última ultra-sonografia, realizada antes do envio desse trabalho foi no dia 15/01/08, com presença de feto único, com batimentos cardíacos presentes, com idade gesta-cional de 8/9 semanas.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O presente relato de gestação após a transferência de embriões obtidos a partir de oócitos maturados *in vitro* culmina nossos esforços técnicos e de pesquisa na meto-dologia de IVM humana no Brasil (Frantz et al., 2007), com resultados iniciais apresentados no XI Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida, Brasília, 2007. Como diversos serviços de RA mundiais vêm demonstan-do, a IVM é uma metodologia simples e viável para o tratamento da infertilidade em um grupo específico de pacientes. Sua principal vantagem é eliminar o uso de

gonadotrofinas exógenas evitando assim, a síndrome da hiperestimulação ovariana e seus riscos para a paciente. A incidência de hiperestimulo ovariano após exposição a gonadotrofinas exógenas pode ser de até 6% em mulhe-res jovens portadoras da SOP (MacDougall et al., 1993; Brisden et al., 1995), uma frequência que requer uma atenção especial por parte do clínico, quando do emprego de tecnologias clássicas de RA.

Desde o primeiro relato de gestação, a partir de IVM em paciente com ovários policísticos (Trounson et al., 1994), as taxas de implantação e gestação, que eram inicial-mente desencorajadoras (Barnes et al., 1996; Trounson et al., 1998) vêm apresentando gradativas melhoras atin-gindo atualmente patamares em torno de 15% e 35%, respectivamente, para mulheres com idade inferior a 35 anos (Al-Sunaïdi et al., 2007). Esta curva ascendente na melhora dos resultados reflete a constante pesquisa e aprimoramento da tecnologia, em diferentes centros mundiais.

As taxas de sucesso com IVM dependem diretamente do número de complexos cumulus-oócitos coletados para maturação. Obviamente este índice está relacionado ao número de folículos antrais presentes no córtex ovariano. Portanto, pacientes portadoras de ovários policísticos ou SOP, nas quais a contagem de folículos antrais é eleva-da, constituem o grupo ideal para este tipo de tratamen-to, visto que elas terão um maior número de complexos cumulus-oócitos coletados, de oócitos maturados *in vitro* e de embriões disponíveis para transferência, o que even-tualmente resultará em índices mais elevados de gesta-ções (Tan et al., 2002).

No caso da paciente deste relato, o número de COCs coletado foi adequado, semelhante à média relatada em diversos estudos anteriores (Trounson et al., 1994; Lin et al., 2003; Cha et al., 2005; Lê Du et al., 2005; Al-Sunaïdi et al., 2007). Obtivemos ainda, um ótimo índice de matu-ração *in vitro* (91%) e de fertilização por ICSI (50%), o qual ficou dentro da média de nosso serviço para oóci-tos maturados *in vitro* e fertilizados por ICSI (48%-51%; Frantz et al., 2007).

Houve falha de fertilização por FIV, embora os parâme-tros seminais apresentados no momento da inseminação terem sido satisfatórios para este procedimento. A gran-de maioria dos estudos de IVM utiliza ICSI para insemi-nação dos oócitos (Jurema e Nogueira, 2006). Dois estu-dos compararam a eficiência dos dois métodos e ambos demonstraram maiores taxas de fertilização com ICSI. Entretanto, a capacidade de desenvolvimento dos embri-ões ou foi semelhante entre os dois métodos (Hwang et al., 2000), ou foi superior após a FIV (Sönderström-An-tilla et al., 2004).

Possivelmente, a prolongada permanência dos COCs em cultivo pré-inseminação leve a alterações na zona pelú-cida, as quais podem dificultar ou impedir a penetração dos espermatozóides por FIV. A qualidade morfológica e a dinâmica de clivagem dos embriões derivados de IVM são, em geral, baixas (Lê Du et al., 2005; Frantz et al., 2007). No presente caso, entretanto, podemos conside-rar que ambos os embriões apresentaram bom índice de desenvolvimento, atingindo o estágio de 6 a 8 células no terceiro dia e boa qualidade morfológica, com pouca fragmentação e blastômeros homogêneos (Veeck, 1991).

Certamente estes parâmetros embrionários associados, e provavelmente decorrentes, da pouca idade da paciente contribuíram de forma decisiva para o sucesso de seu tratamento.

Em conclusão, acreditamos que a IVM tem um nicho importante entre as tecnologias de RA humana, sendo particularmente recomendável para mulheres jovens, portadoras de ovários policísticos ou da síndrome dos ovários policísticos.

## Referências:

Al-Sunaidi M, Tulandi T, Holzer H, Sylvestre C, Chian RC, Tan SL. Repeated pregnancies and live births after in vitro maturation treatment. *Fertil Steril*. 2007; 87: 1212e9-1212e12.

Barnes FL., Kausche A, Tiglias J, Wood C, Wilton L, Trounson A. Production of embryos from in vitro-matured primary human oocytes. *Fertil Steril*. 1996; **65**:1151-56.

Brisden P, Wada I., Tan SL, Balen A, Jacobs HS. Diagnosis, prevention and management of ovarian hyperstimulation syndrome. *Br J Obstet Gynecol*. 1995; 102: 767-72.

Cha KY, Chung HM, Lee DR, Kwon H, Chung MK, Park LS, Choi DH, Yoon TK. Obstetric outcome of patients with polycystic ovary syndrome treated by in vitro maturation and in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 2005; 83: 1461-65.

Frantz N, Bos-Mikich A, Frantz G., Oliveira N., Ferreira M. - Maturação *in vitro* (IVM) de oócitos obtidos de pacientes com a síndrome dos ovários policísticos em ciclos sem estimulação ovariana: resultados iniciais. *J Bras Rep Assist*. 2007; 11 (3):40.

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

Jurema M, Nogueira D. In vitro maturation of human oocytes for assisted reproduction. *Fertil Steril*. 2006; 86: 1277-91.

Le Du A., Kadoch IJ., Bourcigaux N, Doumerc S, Bourrier MC, Chevalier N., Fanchin R, Chian RC., Tachdjian G, Frydman R, Frydman N. -. In vitro oocyte maturation for the treatment of infertility associated with polycystic ovarian syndrome: the French experience. *Hum Reprod*. 2005; 20: 420-24.

Lin YH., Hwang JL., Huang LW., Mu SC., Seow KM., Chung J. Combination of FSH priming and hCG priming for in-vitro maturation of human oocytes. *Hum Reprod*. 2003; **18**:1632-36.

MacDougall MJ., Tan SL., Balen A, Jacobs HS. A controlled study comparing patients with and without polycystic ovaries undergoing in vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1993; 8: 233-37.

Practice Committee of ASRM – The practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. *Fertil Steril*. 2003; 80: 1309-14.

Rotterdam ESHRE-ASRM/sponsored PCOs consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long term health risks related to polycystic ovarian syndrome (PCOS). *Hum Reprod*. 2004; 19: 41-47.

Sönderström-Anttila V, Mäkinen S., Tuuri T, Suikkari AM.. Favorable pregnancy results with insemination of in vitro matured oocytes from unstimulated patients. *Hum Reprod*. 2005; 20: 1534-40.

Tan SL., Child TJ., Gulekli B. In vitro maturation and fertilization of oocytes from unstimulated ovaries: predicting the number of immature oocytes retrieved by early follicular phase ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol*. 2002; **186**: 684-9.

Trounson A., Anderiesz C, Jones GM., Kausche A., Lolatgis N., Wood C. Oocyte maturation. *Hum Reprod*. 1994; **13**: 52-62.

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

Veeck L (ed) Atlas of the human oocyte and early conceptus. Vol.2. Baltimore: Williams & Wilkins; 1999.

## Correspondência:

Profa. Dra. Adriana Bos-Mikich  
Departamento de Ciências Morfológicas  
Instituto de Ciências Básicas da Saúde  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Av. Sarmiento Leite 500  
CEP: 90.050-170 - Porto Alegre, RS  
Telefone: 051-33083599/ 33083146/ 051-93336767  
Fax: 051-33083146  
adriana.bosmikich@gmail.com



**GONAL-F®** – alafaltropina hormônio folículo estimulante recombinante (r-hFSH) – Para uso subcutâneo – USO ADULTO. **Composição e apresentações:** GONAL-F® 300 UI/0,5 mL: 1 injetor contendo 0,5 mL de alafaltropina e 5 agulhas; GONAL-F® 450 UI/0,75 mL: 1 injetor contendo 0,75 mL de alafaltropina e 7 agulhas; GONAL-F® 900 UI/1,5 mL: 1 injetor contendo 1,5 mL de alafaltropina e 14 agulhas. **Indicações:** (I) Anovulação (incluindo Síndrome do Ovário Policístico) em mulheres que não responderam ao tratamento com citrato de clomifeno. (II) Para o estímulo do desenvolvimento multifollicular em pacientes submetidas à superovulação em técnicas de reprodução assistida (TRA). (III) Em associação com hormônio luteinizante (LH) para a estimulação do desenvolvimento folicular em mulheres com insuficiência grave de LH e FSH (nível sérico de LH endógeno menor que 1,2 UI/L). (IV) Para estimular a produção de espermatozoides no homem com hipogonadismo hipogonadotrófico congênito ou adquirido, em associação com a gonadotropina coriônica humana (hCG). **Contra-indicações:** Hipersensibilidade à folitropina, FSH ou a qualquer dos excipientes; tumores do hipotálamo ou da hipófise. Em mulheres: hipertrofia ou cistos ovarianos não originados da Síndrome do Ovário Policístico; hemorragias ginecológicas de etiologia desconhecida; carcinoma do útero, ovário ou mama; quando uma resposta efetiva não pode ser obtida por insuficiência ovariana primária, malformações dos órgãos sexuais incompatíveis com a gravidez ou por tumores fibróticos do útero incompatíveis com a gravidez. Em homens: insuficiência testicular primária. **Precações e advertências:** Na mulher, a utilização do GONAL-F® requer monitorização ecográfica regular da resposta ovariana e a avaliação dos níveis de estradiol. Pode haver um certo grau de variabilidade na resposta individual ao FSH. Tanto no homem como na mulher, deve ser utilizada a dose mais baixa eficaz, em relação ao objetivo do tratamento. A auto-administração do GONAL-F® deve ser unicamente efetuada por pacientes adequadamente treinadas, com recomendação de um especialista. As pacientes devem ser avaliadas quanto a hipotidismo, insuficiência da supra-renal, hiperprolactinemia e tumores do hipotálamo ou hipófise, e fornecido tratamento específico adequado. Nas mulheres submetidas à estimulação do crescimento folicular, pode ocorrer um aumento do volume ovariano ou do desenvolvimento de hiperestimulação. Uma excessiva resposta ovariana ao tratamento com gonadotropinas raramente origina uma OHSS, exceto se for administrado hCG para induzir a ovulação. Em casos de hiperestimulação ovariana, não se deve administrar hCG e recomenda-se à paciente a abster-se de relações sexuais ou utilizar métodos anticoncepcionais de barreira durante, pelo menos, 4 dias. A OHSS pode progredir rapidamente (de 24 horas até vários dias) e se agravar, devendo-se, portanto, acompanhar as pacientes durante pelo menos duas semanas após a administração de hCG. Há maior incidência em mulheres com a síndrome do ovário policístico. A adesão à posologia recomendada e ao esquema de administração, além de uma cuidadosa monitorização da terapêutica minimizam a incidência de tais efeitos. O risco de gravidez múltipla, em mulheres submetidas aTRA, está relacionado com o número e qualidade de embriões implantados, e com a idade da paciente. As pacientes devem ser avisadas do risco potencial de nascimentos múltiplos. A incidência de perda da gravidez por aborto é mais elevada em mulheres submetidas à estimulação do crescimento folicular para indução da ovulação ou TRA do que na população normal. Mulheres com história de doença tubária apresentam risco de desenvolvimento de gravidez ectópica. A prevalência de má formações congênitas após TRA pode ser ligeiramente superior relativamente às concepções espontâneas, podendo ser originada pelas diferenças nas características dos progenitores (ex: idade materna, características do espermia) e pelas gravidezes múltiplas. O risco de episódios tromboembólicos pode aumentar em mulheres com tendência para esta ocorrência. A própria gravidez também aumenta o risco de trombose. Valores elevados de FSH endógeno, no homem, são indicativos de insuficiência testicular primária. Estes pacientes não respondem ao tratamento com GONAL-F®/hCG. Recomenda-se a análise do espermia 4 a 6 meses após o início do tratamento. Não há indicação para a utilização de GONAL-F® durante a gravidez e aleitamento. O uso concomitante de GONAL-F® com outros medicamentos utilizados na estimulação da ovulação, (por ex. hCG, citrato de clomifeno), pode potencializar a resposta folicular, enquanto que a utilização simultânea de um agonista do GnRH, pode aumentar a dose de GONAL-F® necessária para provocar uma resposta ovariana adequada. Não foram relatadas outras interações clinicamente significativas durante a terapêutica com GONAL-F®. Não foram observados casos de superdosagem de GONAL-F®, no entanto, pode admitir-se a ocorrência da Síndrome de Hiperestimulação Ovariana. **Reações adversas:** Múltiplos comuns: cistos ovarianos; reações no local da injeção; cefaleia. Comuns: OHSS leve a moderada; dor abdominal e sintomas gastrointestinais, tais como náuseas, vômitos, diarreia, cólica e distensão abdominal. Pouco comuns: OHSS grave. Raras: torção ovariana. Muito raras: tromboembolismo, geralmente associado com OHSS grave; reações alérgicas sistêmicas moderadas (eritema, rash ou edema facial). No homem: Comuns: ginecomastia, acne e incremento ponderal. **Posologia e modo de usar:** GONAL-F® injetor nas apresentações de 900 UI/1,5 mL, 450 UI/0,75 mL e 300 UI/0,5 mL devem ser aplicados por via subcutânea. **Mulheres com Anovulação (incluindo SOP):** O tratamento deve comear-se 7 dias do ciclo menstrual e deve ser ajustado pela a resposta individual da paciente. Um regime comum inicia com 75-150 UI FSH por dia e é aumentado em 37,5 UI (até 75 UI) em intervalos de 7 ou 14 dias, se necessário. A dose máxima diária não é normalmente superior a 225 UI de FSH. Se a paciente não responder após 4 semanas, o ciclo deve ser abandonado e reincomçado com uma dose inicial mais alta. Quando é obtida uma resposta ótima, injeção única de hCG deve ser administrada 24-48 horas após a última injeção de Gonal-F®. Se for obtida uma resposta excessiva, o tratamento deve ser interrompido e a aplicação do hCG suspensa. O tratamento deve recomeçar no próximo ciclo com dosagem menor. **Estimulação ovariana em Técnicas de Reprodução Assistida:** Um regime de superovulação envolve a administração de 150-225 UI de GONAL-F® por dia, começando no 2º ou 3º dia do ciclo, até que seja atingido desenvolvimento folicular adequado, com a dose ajustada de acordo com a resposta da paciente, geralmente não mais que 450 UI por dia. Em geral, obtêm-se um desenvolvimento folicular adequado em média no décimo dia do tratamento (de 5 a 20 dias). Uma única injeção de hCG é administrada 24-48 horas após a última injeção de GONAL-F® para induzir a maturação final do folículo. “Down-regulation” com agonista do hormônio liberador de gonadotropina (GnRH) é usado a fim de suprimir o aumento de LH endógeno. Geralmente GONAL-F® é administrado 2 semanas após o início do tratamento com o agonista. **Mulheres com anovulação por deficiência grave de LH e FSH:** GONAL-F® deve ser administrado em injeções diárias, simultaneamente com a alafaltropina (Luviers®). O tratamento deve ser adaptado à resposta individual de cada paciente. Inicia-se com a administração diária de 75 UI de alafaltropina e com 75 a 150 UI de FSH. O ajuste da dose pode ser efetuado após intervalos de 7 a 14 dias com incrementos de 37,5 a 75 UI, até 5 semanas. Quando se obtém uma resposta ótima, deve ser administrada uma única injeção de hCG, de 24 a 48 horas após as últimas injeções de GONAL-F® e de alafaltropina. Recomenda-se que a paciente tenha relações sexuais no dia da administração de hCG, bem como no dia seguinte. Como alternativa, pode ser efetuada uma inseminação intra-uterina. Pode ser necessário um suporte da fase lútea. Caso seja obtida uma resposta excessiva, o tratamento deve ser interrompido e o hCG não deve ser administrado. O tratamento deve ser reiniciado no ciclo seguinte, com dose de FSH inferior à do ciclo anterior. **Homem infértil com deficiência hormonal:** GONAL-F® é usualmente prescrito na dose de 150 UI, 3 vezes por semana em combinação com a gonadotropina coriônica humana (hCG) por, pelo menos, 4 meses. A experiência clínica atual indica que pode ser necessário um tratamento de pelo menos 18 meses para obter a espermátogênese. **Conservação:** GONAL-F® injetor deve ser mantido sob refrigeração entre 2 e 8°C, protegido da luz. Não congelar. Durante o período de validade, pode ser guardado abaixo de 25°C por até 28 dias e descartado após esse período. Qualquer quantidade restante de medicamento após passados 28 dias da primeira abertura deve ser desprezado. Não utilize o medicamento se existirem partículas na solução ou se a solução não estiver límpida. Mantenha o GONAL-F® em sua embalagem original. Nestas condições, o prazo de validade é de 24 meses a partir da data de fabricação. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** SAS- Serviço de Atendimento Sero: 0800-113320. Reg MS 1.1124.0205.

**LUVERIS® 75 UI** – alafaltropina – Para uso subcutâneo. USO ADULTO. **Composição e apresentação:** Cada frasco-ampola contém 75 UI de alafaltropina na forma de pó liofilizado para injeção. Solvente: água para injeção. Caixa com 1 frasco-ampola de pó liofilizado e 1 frasco-ampola de solvente. **Indicação:** Luveris® em associação com uma preparação de hormônio l foliculo estimulante (FSH), é recomendado para a estimulação do desenvolvimento folicular em mulheres com insuficiência grave de LH e FSH. Luveris® deve ser administrado seguindo um esquema de injeções diárias, simultaneamente ao FSH. Dado que estas pacientes são amenorreicas e têm uma reduzida secreção de estrogénios endógenos, o tratamento pode ser iniciado a qualquer momento. **Contra-indicações:** hipersensibilidade às gonadotropinas ou a qualquer dos excipientes; carcinoma do útero, ovário ou mama; tumores alitos, não tratados, do hipotálamo e da hipófise; hipertrofia ou cistos ovarianos de etiologia desconhecida; hemorragias ginecológicas de etiologia desconhecida. **Precações e advertências:** Não deve ser utilizado quando não é possível a obtenção de uma resposta efetiva, tais como, baléncia ovariana, má formação dos órgãos sexuais ou tumores fibróticos do útero incompatíveis com a gravidez. As pacientes devem ser examinadas em relação a hipotidismo, insuficiência da supra-renal, hiperprolactinemia e tumores do hipotálamo ou hipófise. Risco aumentado de hiperestimulação, podendo conduzir a um grave quadro clínico, caracterizado por cistos ovarianos de grandes dimensões, que podem romper. Uma excessiva resposta ovariana raramente origina uma hiperestimulação significativa, exceto se houver administração de hCG para induzir a ovulação. Portanto, é prudente não administrar hCG nestes casos e recomendar à paciente a abstenção de relações sexuais, ou métodos anticoncepcionais de barreira, durante pelo menos 4 dias. Recomenda-se a monitorização com ecografia, bem como medições do estradiol. Em pacientes submetidas à indução de ovulação, a incidência de gravidez e nascimentos múltiplos é maior, em comparação à concepção natural. Luveris® não deve ser administrado durante a gravidez e a amamentação, em idosas, crianças e outros grupos de risco. Não se conhecem os efeitos da superdosagem com alafaltropina, no entanto, pode-se admitir a ocorrência da síndrome da hiperestimulação ovariana. **Reações adversas:** A alafaltropina é utilizada em associação com alafaltropina, sendo difícil atribuir efeitos indesejáveis a qualquer das substâncias utilizadas. Foram relatadas reações ligeiras e moderadas no local da injeção (equimose, dor, rubor, prurido ou edema). Não foram relatadas reações graves no local da injeção nem reações alérgicas sistêmicas após a administração de Luveris®. A síndrome de hiperestimulação ovariana foi observada em menos de 6% das pacientes tratadas com Luveris®. Não foi relatada síndrome de hiperestimulação ovariana grave. Tromboembolia, torção dos anexos (uma complicação do aumento do volume ovariano) e hemoperitônio foram raramente associados com a terapêutica com gonadotropinas menopausais humanas. Pode também ocorrer gravidez ectópica, especialmente em mulheres com história de doença tubária anterior. Reações mais comuns: reações no local da injeção, cefaleia, sonolência, náuseas, dor abdominal, dor pélvica, síndrome de hiperestimulação ovariana, cistos ovarianos, dor nas mamas. A incidência das reações no local da injeção foi significativamente mais baixa no tratamento com Luveris® do que com outros medicamentos contendo hCG. **Posologia:** O tratamento deve ser adaptado à resposta individual da paciente, avaliada pela medição das dimensões do folículo por meio de ecografia e do nível de estrogénios. Inicia-se com a administração diária de 75 UI de alafaltropina, por até 3 semanas, em associação com 75-150 UI de FSH. Se um aumento da dose de FSH for considerado apropriado, o ajuste da dose deve ser efetuado, de preferência, após intervalos de 7-14 dias e, de preferência, com incrementos de 37,5-75 UI. Pode ser aceitável prolongar a duração da estimulação em qualquer um dos ciclos até 5 semanas. Quando se obtém uma resposta ótima, deve ser administrada uma única injeção de hCG, 24-48 horas após as últimas injeções de Luveris® e de FSH. Recomenda-se que a paciente tenha relações sexuais no dia da administração de hCG, bem como no dia seguinte. Como alternativa, pode ser efetuada uma inseminação intra-uterina. Pode ser necessário um suporte da fase lútea, uma vez que a ausência de substâncias com atividade luteotrófica (LH) /hCG após a ovulação pode conduzir a uma balência prematura do corpo lúteo. Se for obtida uma resposta excessiva, o tratamento deve ser interrompido e o hCG não deve ser administrado. O tratamento deve ser reiniciado no ciclo seguinte, com uma dose de FSH inferior à do ciclo anterior. **Modo de Usar:** Para administração subcutânea única e imediata após abertura e reconstituição. Luveris® pode ser misturado com GONAL-F® monodose em 1 ml de solvente, e co-administrado numa injeção única. Neste caso Luveris® deve ser reconstituído em primeiro lugar e depois utilizado para reconstituir o pó de alafaltropina. Os produtos não utilizados ou os resíduos devem ser descartados. **Conservação:** Conservar em temperatura abaixo de 25°C. Proteger da luz. Nessas condições o medicamento é estável por 36 meses. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** SAS- Serviço de Atendimento Sero: 0800-113320. Reg MS 1.1124.0221.

**CETROTIDE®** – acetato de cetrotrelix – USO ADULTO. **Composição e apresentação:** Cetrotide® pó-liofilizado para injeção 0,25 mg contém acetato de cetrotrelix 0,26 - 0,30 mg (equivalente a 0,25 mg de cetrotrelix base). Cada caixa contém: 1 frasco-ampola de pó liofilizado; 1 seringa pré-enchida com 1 ml de diluente (água para injeção); 1 agulha para diluição (calibre 20); 1 agulha para injeção subcutânea (calibre 27); 2 lenços umedecidos em álcool. **Indicação:** Cetrotide® é indicado para a prevenção de ovulação prematura em pacientes submetidas a uma estimulação ovariana controlada, seguida por coleta do óvulo e técnicas de reprodução assistida. **Contra-indicações:** Hipersensibilidade ao acetato de cetrotrelix, a análogos estruturais do GnRH ou a qualquer

outro componente da fórmula. Em grávidas, lactantes ou em pós-menopausa, disfunção renal e hepática moderada e grave. **Precações e Advertências:** Atenção especial aos sinais e sintomas de condições alérgicas agudas ou histórico de predisposição alérgica. Pode ocorrer síndrome de hiperestimulação ovariana, como risco intrínseco do procedimento de estimulação com gonadotropinas. Deve ser dado suporte à fase lútea, de acordo com a prática médica reprodutiva. Cetrotide® deve ser utilizado em ciclos repetidos somente após avaliação cuidadosa da relação risco/benefício. Não deve ser administrado durante a gravidez e lactação. É improvável que Cetrotide® diminua a habilidade do paciente em dirigir ou operar máquinas. São improváveis as interações com medicamentos metabolizados pelo citocromo P450 ou glucuronizados ou conjugados da mesma forma. A possibilidade de interação com outros medicamentos não pode ser totalmente excluída, incluindo produtos que podem induzir a liberação de histamina em indivíduos suscetíveis. A superdosagem pode resultar em prolongamento da ação, sendo improvável o aparecimento de efeitos tóxicos agudos. **Reações Adversas:** Podem ocorrer reações leves e transitórias no local da injeção como eritema, prurido e edema local. Casos raros de reações de hipersensibilidade, incluindo reações pseudo-alérgicas/anafiláticas. Frequentemente pode ocorrer síndrome de hiperestimulação ovariana leve a moderada. Com pouca frequência, síndrome de hiperestimulação ovariana grave, náuseas e cefaleia. **Posologia e modo de usar:** Cetrotide® deve ser administrado por injeção subcutânea na parede abdominal inferior. A primeira administração de Cetrotide® deve ser efetuada sob supervisão médica, onde o tratamento de possíveis reações pseudo-alérgicas esteja imediatamente disponível. As injeções seguintes podem ser auto-administradas, desde que a paciente tenha sido informada sobre os sinais e sintomas que possam indicar hipersensibilidade. Deve ser administrado em dose única diária, de manhã ou à noite. **Pela manhã:** deve iniciar no dia 5 ou 6 da estimulação ovariana com gonadotropina (aproximadamente 96 a 120 horas após início da estimulação ovariana), devendo manter-se durante o período de tratamento com gonadotropinas incluindo o dia de indução da ovulação. **À noite:** deve iniciar no dia 5 da estimulação ovariana com gonadotropina (aproximadamente 96 a 108 horas após início da estimulação ovariana), devendo manter-se durante o período de tratamento com gonadotropinas até a noite anterior ao dia da indução da ovulação. **Conservação:** Deve ser conservado em temperatura inferior a 25°C, ao abrigo da luz e umidade e mantido em sua embalagem original. Nestas condições o prazo de validade é de 24 meses. Após esse período o medicamento não deve ser utilizado. A solução deve ser utilizada imediatamente após a preparação. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** SAS- Serviço de Atendimento Sero: 0800-113320. Reg MS 1.1124.0220.

**OVIDREL® 250 µg** – alfacoriongonadotropina – hCG recombinante (r-hCG) – Para uso subcutâneo – USO ADULTO. **Composição e apresentação:** **Ovidrel® 250 µg / 0,5 mL**, 1 seringa pré-enchida pronta para uso contendo 250 microgramas de alfacoriongonadotropina em 0,5 mL de solução. **Indicações:** Ovidrel® é administrado para induzir a maturação folicular final e a luteinização, após a estimulação do desenvolvimento folicular em mulheres submetidas às técnicas de reprodução assistida (TRA). Ovidrel® também é utilizado para induzir a ovulação e a luteinização em mulheres anovulatórias ou oligo-ovulatórias, após a estimulação do desenvolvimento folicular. **Contra-indicações:** Ovidrel® não é indicado nos casos de: tumores do hipotálamo e da hipófise; hipersensibilidade à substância ativa ou aos excipientes; hipertrofia ou cistos ovarianos não originados por Doença do Ovário Policístico; hemorragia ginecológica de etiologia desconhecida; carcinoma ovariano, uterino ou de mama; gestação extra-uterina nos últimos 3 meses; alterações tromboembólicas ativas; ou em situações onde uma resposta efetiva não possa ser obtida (falência ovariana primária, malformação dos órgãos sexuais incompatíveis com a gravidez, pós menopausa). **Precações e advertências:** Antes de iniciar o tratamento, a paciente deve ser avaliada quanto a hipotidismo, insuficiência da supra-renal, hiperprolactinemia e tumores do hipotálamo ou hipófise. Precações especiais devem ser tomadas para mulheres com doença sistêmica clinicamente significativa, em que uma gravidez possa levar a um agravamento da situação. O tratamento com Ovidrel® pode aumentar o risco de “síndrome de hiperestimulação ovariana (OHSS)”, sendo o sintoma mais comum a dor abdominal. Esta pode ser evitada suspendendo a administração de hCG e a paciente não deve ter relações sexuais durante, no mínimo, 4 dias, ou utilizar um método contraceptivo de barreira. A frequência de gestações e nascimentos múltiplos é aumentada em pacientes submetidas a este tratamento e está relacionada com o número de embriões transferidos. O risco de desenvolvimento de OHSS ou de gestação múltipla é reduzido se for utilizada a dose recomendada de Ovidrel®, e houver cuidadosos monitoramento ecográfico e dos níveis de estradiol. A taxa de aborto, tanto em pacientes anovulatórias como em mulheres submetidas a TRA, é superior à que se verifica na população normal, mas comparável às taxas observadas em mulheres com outros problemas de fertilidade. Durante a terapêutica com Ovidrel®, é possível ocorrer uma ligeira estimulação da tireoide. A auto-administração de Ovidrel® deverá ser unicamente efetuada por pacientes adequadamente treinadas e com recomendações de um especialista. Após a administração, Ovidrel® pode interferir, até dez dias, na determinação imunológica do hCG sérico / urinário, levando a falsos resultados positivos de testes de gravidez. **Reações adversas:** Síndrome de hiperestimulação ovariana, vômitos e náuseas (de forma dose-dependente). Gravidez ectópica, torção do ovário e outras complicações são consideradas decorrentes das Técnicas de Reprodução Assistida. Comuns: Reação / dor no local da injeção; cefaleia; astenia; náuseas / vômitos, dor abdominal; síndrome de hiperestimulação ovariana ligeira a moderada. Pouco comuns: depressão, irritabilidade, agitação; diarreia; síndrome de hiperestimulação ovariana grave, mastalgie. **Posologia e modo de usar:** O conteúdo de uma seringa pré-enchida de Ovidrel® (250 microgramas) deve ser administrado 24 a 48 horas depois de se ter alcançado uma estimulação ótima do desenvolvimento folicular. **Estabilidade e conservação:** **Ovidrel® 250 µg / 0,5mL** – Solução injetável em seringa pré-enchida – deve ser conservado sob refrigeração (2°C a 8°C). Mantenha o medicamento em sua embalagem original. A seringa com solução injetável pode ser armazenada a uma temperatura de até 25°C por, no máximo, 30 dias. Caso o medicamento não seja usado dentro de 30 dias, a solução deverá ser descartada. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** SAS – Serviço de Atendimento Sero: 0800-113320. Reg MS 1.1124.0222.

**CRINONE®** – Progesterona – Gel Vaginal 8% – USO ADULTO. **Composição e apresentações:** Cada aplicador contém 1,125 g de gel vaginal com 90 mg de progesterona (8%). Caixas com 7 ou 15 aplicadores de 90 mg. **Indicação:** Crinone® (progesterona) é indicado para o tratamento de infertilidade devido à fase lútea inadequada. Para uso nos procedimentos de fertilização *in vitro*, onde a infertilidade é principalmente devido a problemas tubários, idiopáticos ou relativa a endometriose associada a ciclos ovulatórios normais. **Contra-indicações:** Hipersensibilidade conhecida a progesterona ou a qualquer um dos componentes da formulação; hemorragia uterina anormal não diagnosticada; câncer de mama ou de órgãos genitais; porfiria aguda; tromboflebite, distúrbios trombo-embólicos, embolia cerebral; aborto oculto ou incompleto. **Precações e advertências:** Atenção particular às náuseas e órgãos pélvicos, devendo ser solicitado Papanicolaou para acompanhamento. Devido à possibilidade de retenção hídrica, qualquer condição que possa ser influenciada por este fator necessita observação cuidadosa. Em casos de sangramento vaginal irregular, avaliar se há doença orgânica presente. Crinone® deve ser interrompido se houver recidiva de depressão grave. Sintomas da pós-menopausa podem ser mascarados. Os prostaglandinos podem piorar as manifestações de porfiria pré-existentes. Crinone® pode ser administrado durante o primeiro trimestre de gestação de um procedimento de TRA, em caso de deficiência do corpo lúteo. Crinone® não é indicado para o uso em aborto bilíado ou ameaça de aborto. A amamentação deve ser suspensa durante o tratamento com Crinone®. Crinone® não deve ser utilizado em crianças. Possibilidade de distúrbios trombóticos (incluindo tromboflebite, trombose retiniana, embolismo cerebral e pulmonar). Nestes casos o tratamento deve ser imediatamente interrompido. Não é recomendada a utilização de Crinone® conjuntamente com outras preparações intravaginais. Há relatos de sonolência associados ao uso de Crinone®, portanto não se recomenda operar maquinário perigoso e/ou dirigir veículos motorizados. Superdosagem aguda é improvável devido à sua dependência da concentração, taxa limitada de absorção da progesterona pelo epitélio vaginal e às características de liberação controlada da formulação. Em caso de superdosagem, interromper o tratamento com Crinone® e tratar a paciente sintomaticamente. **Reações adversas:** Dor abdominal, dor nas costas ou articulações das pernas e dor no perineo, flatulência, dor/tensão nas mamas, tadia, ondas de calor, lactação e retenção de líquidos, constipação, diarreia, dispnéia, eructação, dor gástrica, náuseas e vômitos, redução da libido, dismenorreia, dispárea, aumento da mucos, leucorréia, noctúria, irritação/prurido vaginal, sangramento vaginal e secreção vaginal, tontura, depressão, labilidade emocional, cefaleia, insônia, irritabilidade, nervosismo, sonolência e acne. A maioria dos eventos são leves e transitórios e frequentemente são resolvidos sem a interrupção do tratamento. **Posologia e modo de usar:** A administração vaginal para induzir transformação secretória do endométrio está indicada somente em casos em que o endométrio tenha sido adequadamente suprido de estrogênio, endógeno ou exógeno. Nestes casos o sangramento por superação usualmente ocorre dentro de 3 a 7 dias após a interrupção da terapia com Crinone®, a menos que tenha ocorrido gestação. Variação usual de dosagem: O esquema de dosagem assume o intervalo entre as menstruações ou ciclos estrogênicos como sendo de 28 dias e o dia 1 como sendo o primeiro dia de sangramento ou da terapia estrogênica cíclica. Complementação ou reposição de progesterona como parte do esquema das Técnicas de Reprodução Assistida - Para suporte endometrial como parte da TRA, iniciar administrando Crinone® em uma ou duas aplicações diárias. A maioria das mulheres respondem com 90 mg diariamente. Entretanto, algumas mulheres podem precisar de 90 mg duas vezes ao dia. Se a gravidez for confirmada, continuar com Crinone® até 12 semanas. Crinone® deve ser administrado, diariamente, no mesmo horário. Doses menores podem ser usadas em mulheres ovulando normalmente, com suspeita de deficiência de progesterona, como deficiência da fase lútea. **Conservação:** Conservar o medicamento em temperatura abaixo de 25°C. O prazo de validade é de 36 meses contados a partir da data de fabricação indicada na embalagem externa. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** SAS- Serviço de Atendimento Sero: 0800-113320. Reg MS 1.1124.0217.

**Referências Bibliográficas:** **1)** Balasch J et al. Outcome from consecutive assisted reproduction cycles in patients treated with recombinant follitropin (hCG) or llyed-by-bioassay and those treated with recombinant follitropin (hCG) or llyed-by-mass. RBM Online 2004; 8 (4): 408-413. **2)** Sero Study 22240, data on file. **3)** Hugues JN et al. Improvement in consistency of response to ovarian stimulation with recombinant human follicle stimulating hormone resulting from a new method for calibrating the therapeutic preparation. RBM Online 2003; 6 (2): 185-190. **4)** Marrs R et al. Randomized trial to compare the effect of recombinant human FSH (follitropin (hCG) with or without recombinant human LH in women undergoing assisted reproduction treatment. RBM Online 2004; 8 (2): 175-182. **5)** Monografia do produto (Cetrotide®). **6)** Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K. Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis. Arch Gynecol Obstet 2001; 265 (4): 175-182. **7)** Albano C et al. Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrotrelid and the LHRH-agonist buserelin. European Cetrotrelid Study Group. Hum Reprod 2000; 15 (3): 526-531. **8)** Warne DW, Hugues J-N, Decoster G et al. The International Recombinant Human Chorionic Gonadotropin Study Group. Induction of ovulation in WHO Group II anovulatory women undergoing follicular stimulation with r-FSH: a comparison of recombinant human chorionic gonadotropin (r-hCG) and urinary hCG. Fertil Steril 2001; 75 (6): 1111-1118. **9)** Hovatta et al. Data on file. **10)** Monografia do produto (Ovidrel®). **11)** Marrs et al. Use of Recombinant Human Chorionic Gonadotropin (r-hCG, Ovidrel) or Urinary Human Chorionic Gonadotropin (u-hCG) for triggering ovulation in assisted reproductive technologies (ART). 4th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility. Berlin, Germany, 24-27 April, 2003. **12)** Doody K. Ovulation triggering with recombinant choriongonadotropin Alfa. 58th Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine, Seattle, USA, 12-17 October, 2002. **13)** Maislisch L, Warne D, Bologna S et al. The European Recombinant Human Chorionic Gonadotropin Study Group (ERHCGSG). Induction of final follicular maturation and early luteinization in women undergoing OI for ART. Recombinant hCG versus urinary hCG. Hum Reprod 2000, 15 (7): 1446-1451.

Serviço de Atendimento Merck Sero  
0800 113320





**AGENDA DE EVENTOS PARA 2008****JULHO**

**06/07 a 09/07** - 24<sup>th</sup> edition of the Annual Meeting of the European Society for Human Reproduction and Embryology in 2008. <http://www.eshre.com>

**AGOSTO**

**20/08 a 23/08** - XII Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida. São Paulo Br. [www.sbra.com.br](http://www.sbra.com.br)

**SETEMBRO**

**7/09 a 10/09** - VII Congresso Brasileiro da SBDST/ III Congresso Brasileiro de AIDS. Local: Centro de Convenções de Goiânia. <http://www.dst2008.com.br>

**NOVEMBRO**

**08/11 a 12/11** - 64th Annual Meeting American Society for Reproductive Medicine. Local: San Francisco. [www.asrm.org/Professionals/Meetings/annualmeeting.html](http://www.asrm.org/Professionals/Meetings/annualmeeting.html)

# SBRA

SOCIEDADE BRASILEIRA DE  
REPRODUÇÃO ASSISTIDA

# A

## **Filie-se a Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida**

### **Benefícios aos Associados:**

**Recebimento do Jornal SBRA**

**Desconto na Inscrição para  
as reuniões anuais da SBRA**

**Cadastre-se no site [www.sbra.com.br](http://www.sbra.com.br)  
e envie a ficha de inscrição abaixo  
acompanhada de cheque nominal no valor  
de R\$ 70,00 (anuidade) para SBRA  
Av. Brigadeiro Luiz Antonio, 4251  
São Paulo-SP - CEP. 01401-002**

Nome: \_\_\_\_\_ CRM: \_\_\_\_\_  
Especialidade: \_\_\_\_\_ Data de Nasc.: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Outra Formação: \_\_\_\_\_  
Cons. Regional \_\_\_\_\_  
Endereço Comercial: \_\_\_\_\_ Bairro \_\_\_\_\_  
Cidade: \_\_\_\_\_ Estado \_\_\_\_\_ CEP \_\_\_\_\_  
Telefone: (Cons) \_\_\_\_\_ (Res) \_\_\_\_\_ (Cel) \_\_\_\_\_ (Fax) \_\_\_\_\_

# UTROGESTAN®

progesterona natural  
micronizada

Quando a  
fertilidade se  
transforma em  
maternidade.



## Fertilidade

- Indução da Ovulação<sup>(1)</sup>
- Insuficiência Lútea<sup>(1,2,5)</sup>
- Inseminação Intra-uterina<sup>(3,4)</sup>
- FIV e ICSI<sup>(1,5,6,7)</sup>

## Gestação

- Ameaça de Aborto<sup>(1,2)</sup>
- Abortamento Habitual<sup>(2,3,8)</sup>

**Fertilidade:** (1) Tassinari, A., Smitz J., Bougass, C., Denoye R. Comparison between different doses of progesterone administration as luteal phase support in infertility treatments. *Human Reproduction Update* 2000; Vol. 6 Nº 2 pp. 139-148. (2) Di Rienzo GC. Progesterone and pregnancy. *Contraception* 2002; 17(5):559-606. (3) Daya S., Ward S., Benbow C. Progesterone profiles in luteal phase defect cycles and outcome of progesterone treatment in assisted reproduction. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 255-60. (4) Flückiger LA, Good A. Micronized progesterone: clinical indications and comparison with current treatments. *Fertil Steril* 1999; 72:308-327. (5) Rörnes E, et al. Analysis of the luteal phase in assisted reproduction cycles with luteal phase supplementation using vaginal micronized progesterone. *Human Reprod* 2000; 15: 1435-1438. (6) Friedler S, et al. Luteal support with micronized progesterone following in vitro fertilization using a down-regulation protocol with gonadotrophin-releasing hormone agonist: a comparative study between vaginal and oral administration. *Human Reprod* 1999; 14:1844-1848. (7) Smitz J, et al. A prospective randomized comparison of intramuscular or intravaginal natural progesterone as a luteal phase and early pregnancy supplement. *Human Reprod* 1992; 7:166-175. (8) Daya S. Efficacy of progesterone support for pregnancy in women with recurrent miscarriage. A meta-analysis of controlled trials. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 80: 275-80.

**UTROGESTAN®** - progesterona natural micronizada - USO ADULTO - **Composição:** Cada cápsula contém progesterona 100 mg ou 200 mg, excipientes q.s. **Indicação:** UTROGESTAN® é indicado para as distúrbios relacionados à deficiência de progesterona, como alterações do ciclo menstrual e amenorréia secundária; na insuficiência lútea; na pré-menopausa e na reposição hormonal da menopausa (como complemento à terapia estrogênica). UTROGESTAN® via vaginal é indicado também na implantação do embrião e manutenção da gravidez durante o primeiro trimestre e como suporte da fase lútea durante os ciclos de reprodução assistida. **Contra-indicação:** Este medicamento é contra-indicado em doenças graves do fígado. **Responsabilidade do princípio ativo ou a qualquer outro componente da fórmula:** **Precaução:** Atenção leve ou moderada de função hepática, pacientes com distúrbio renal. **Advertências:** Este medicamento não trata todas as causas de aborto espontâneo precoce e, particularmente, ele não tem ação sobre abortos precedidos de defeitos genéticos (o que corresponde a mais da metade das causas de aborto). **Posíveis efeitos:** Não há fatores que indiquem a necessidade do ajuste de dose para a paciente idosa. **Gravidez - Amamentação:** Não há relação entre a progesterona e malformações fetais foi observada durante diversos estudos epidemiológicos em mais de mil pacientes. **Interações medicamentosas:** o uso crônico de barbitúricos, carbamazepina, hidantoína ou rifampicina pode diminuir a eficácia de UTROGESTAN®. Por outro lado, UTROGESTAN® pode potencializar os efeitos farmacológicos da dicouparina, heparina ou beta-bloqueadores. **Posologia:** Via Oral: Na insuficiência de progesterona, na insuficiência lútea ou regime de tratamento usual é de 200 mg por dia, de 15 dias por ciclo, habitualmente do 17º dia ao 29º dia, inclusive. Em terapia de reposição hormonal para menopausa, a terapia estrogênica isolada não é recomendada (risco de hiperplasia endometrial). Consequentemente, a progesterona é continuada em dose de 200 mg por dia, de acordo com a forma. — dose única de 200 mg à noite antes de dormir, de 12 a 14 dias por mês. Na dose de 200 mg é comum observar-se um sangramento de privação após o uso da progesterona, via vaginal. Cada cápsula gelatinosa deve ser introduzida profundamente na vagina. Suplementação da fase lútea (segunda fase do ciclo menstrual) durante ciclos de FIV. A dosagem recomendada é de 400 a 600 mg por dia, divididos em duas a três doses, do dia da injeção HCG até a 12ª semana de gravidez. Suplementação da fase lútea durante ciclos espontâneos ou induzidos. A dosagem recomendada é de 200 a 400 mg por dia, divididos em duas doses, a partir de 17º dia do ciclo, durante 16 dias. O tratamento espontaneamente iniciado ou a manutenção não ocorrem novamente, sendo diagnosticada uma gravidez, até a 12ª semana dela. Ameaça de aborto precoce ou prevenção de aborto comum devido à insuficiência lútea. A dosagem recomendada é de 200 a 400 mg por dia divididos em duas doses até a 12ª semana de gravidez. **Forma farmacêutica e apresentação:** UTROGESTAN® 200 mg é apresentado em caixas contendo blister com 14 cápsulas gelatinosas. UTROGESTAN® 100 mg é apresentado em caixas contendo blister com 30 cápsulas gelatinosas. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** Registro no RLS: 1.3330.0167. Farm. Resp.: Dra. Marcia Weiss I. Campos - CRF-RJ nº 4498. Fabricado por: CAPSULAT, PLOCEMIL, Tare Indústria Farmacêutica, S. R. 305 - 56803 Pomerai Cadea - Embalado por: Laboratório Biotec Internacional S/A. Distribuído por: FARMACOLÓGICA S/A, Rua Vitorino, 300 - Rio de Janeiro - RJ. Indústria Brasileira - CNPJ: 33.343.473/0003-10 - SAC 0800 25 0119 - Para ver o local de venda no Brasil, acesse o site [www.fpm.com.br](http://www.fpm.com.br)

A PERSISTIREM OS SINTOMAS, O MÉDICO DEVERÁ SER CONSULTADO.







Uma das coisas mais bonitas  
da vida é fazê-la acontecer.

A fecundação é uma dádiva.  
E embora nem sempre possa ser  
de forma natural, é um momento  
onde afeto e responsabilidade são  
os principais fatores. A Meizler  
Biopharma já contribuiu para tornar  
esse sonho possível a milhares de  
casais por meio de suas linhas de  
reprodução humana. E isso inclui  
não apenas os medicamentos, mas  
todo o suporte necessário a algo  
tão importante como a formação  
de uma nova vida.

Registado

[www.meizler.com.br](http://www.meizler.com.br)

SAC: 0800 166 613

Matriz / Headquarter  
Al. Juruá, 149 - Alphaville  
Barueri, SP - 06455-901 - Brasil  
Tel (+55 -11) 4195.6613

Filial / Branch  
Av. Vera Cruz, 463 - Jardim Guanabara  
Goiânia, GO - 74675-830 - Brasil  
Tel (+55 -62) 3207.2800

  
**Meizler**  
BIOPHARMA S/A