

**Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Fernandes Figueira
Pós-Graduação em Saúde da Criança e da Mulher**

**O PAPEL DA TÉCNICA DE TRANSFERÊNCIA EMBRIONÁRIA NO
RESULTADO DOS CICLOS DE FERTILIZAÇÃO IN VITRO**

Ana Paula Machado Martins

**Rio de Janeiro
Janeiro de 2007**



**Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Fernandes Figueira
Pós-Graduação em Saúde da Criança e da Mulher**

O PAPEL DA TÉCNICA DE TRANSFERÊNCIA EMBRIONÁRIA NO RESULTADO DOS CICLOS DE FERTILIZAÇÃO IN VITRO

Ana Paula Machado Martins

Dissertação apresentada à Pós-Graduação em Saúde da Criança e da Mulher, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre, em Janeiro de 2007

Orientador (a): Lizanka Marinheiro
Co-orientador: Selmo Geber

**Rio de Janeiro
Janeiro de 2007**

AGRADECIMENTOS

A Vitor, meu filho, por ter dividido, pacientemente, seus primeiros dois anos de vida com este trabalho e por ser sempre uma fonte de inspiração.

A Glauber, grande companheiro, amigo e incentivador. Seu carinho, paciência e tolerância foram essenciais para esta jornada.

A meus pais, Dulcéa e Roberto, por me ensinarem o respeito pela ciência e pelo ser humano, sentimentos fundamentais para a carreira que abracei. A vida pessoal e profissional de vocês sempre foi, e continua sendo, um grande exemplo de equilíbrio, dignidade e paixão. Obrigada por tudo. A ajuda de vocês foi imprescindível para a realização deste trabalho.

À Maíra, minha querida irmã e amiga, mesmo de longe sua presença é constante. Nos momentos difíceis e alegres seu apoio é fundamental.

Aos orientadores deste trabalho, Lizanka Marinheiro e Selmo Geber pela ajuda e disponibilidade.

À Maria do Carmo Borges, Renato Sá e Kátia Silveira por aceitarem fazer parte da banca de defesa, contribuindo para o enriquecimento deste trabalho

À Maria Albina Catellani, exemplo de profissional desde a graduação. Seu incentivo ajudou a tornar, o desejo de fazer o mestrado, uma realidade. Obrigada pelo carinho e apoio sempre.

Aos sócios: Marcello Valle, Selmo Geber e Marcos Sampaio, por permitirem a utilização dos dados da Clínica ORIGEN, Centro de Medicina Reprodutiva, tornando este trabalho possível.

À Karen, minha querida amiga e colega de trabalho. Este ano de apoio mútuo tornou mais sólida uma amizade antiga. Obrigada por tudo!

Ao biólogo Fernando Guimarães, por ajudar na coleta dos dados; e a todos os funcionários da clínica ORIGEN que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

Aos amigos por compreenderem a ausência e por torcerem sempre.

Aos colegas de turma do mestrado: conviver com todos vocês foi enriquecedor e alegre. Espero reencontrá-los pela vida.

Aos professores da pós-graduação, em especial a Kátia Silveira, por auxiliarem na construção deste projeto.

Aos funcionários da secretaria acadêmica, sempre dispostos a ajudar, mesmo nas situações mais difíceis.

A Bernardo Tura, por sua inestimável ajuda na análise dos dados.

Aos funcionários da biblioteca da Maternidade Escola da UFRJ, por serem incansáveis no levantamento da bibliografia necessária durante estes dois anos, e em especial a Janaina por realizar a revisão das referências bibliográficas.

A Leonardo Marona por ter realizado a revisão do texto

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – cateteres usados na transferência embrionária -----	60
Figura 2 – Demonstração da medida realizada para determinar a posição dos embriões na cavidade uterina -----	64
Figura 3 – Exemplo de embrião na porção superior -----	65
Figura 4 – Exemplo de embrião na porção média -----	65
Gráfico 1 – Freqüência das causas de infertilidade conjugal -----	03
Gráfico 2 – Freqüência das causas de infertilidade feminina -----	04
Gráfico 3 – Freqüência da evolução das gestações -----	52
Gráfico 4 – Freqüência da evolução das gestações segundo o tipo de tratamento -----	53
Gráfico 5 – Freqüência das causas de infertilidade na população estudada --	54
Gráfico 6 – Freqüência da evolução das gestações segundo a qualidade embrionária -----	57
Gráfico 7 – Freqüência da evolução das gestações segundo o tipo de cateter utilizado -----	62
Gráfico 8 - Freqüência da evolução das gestações segundo o tempo de duração da transferência embrionária -----	63
Gráfico 9 – Incidência das intercorrências durante a transferência embrionária-- -----	68
Quadro 1 – Critérios usados para avaliar a qualidade embrionária -----	43

LISTA DE SIGLAS

β hCG – Sub-unidade beta da gonadotrofina coriônica humana

BIOQ. – Gestação bioquímica

DL – Cateter de Frydman 4,5 cm com duplo lúmen

DO – Doa o de óvulos

EO – Estímulo ovariano

ESCA – esterilidade sem causa aparente

F – cateter de Frydman 5,5 cm

FU – Fundo uterino

FIV – Fertiliza o *in vitro*

FIV-DO – Fertiliza o *in vitro* com óvulos doados

FSH – Hormônio folículo estimulante

G – Cateter de Frydman 4,5 cm com guia

GnRH – Hormônio liberador de gonadotrofinas

hCG – Gonadotrofina Cori nica humana

HMG – Gonadotrofina Menopáusica humana

I – Porão inferior da cavidade uterina

ICSI – Inje o intra-citoplasmática de espermatozóides

LH – Hormônio luteinizante

M - Porão média da cavidade uterina

OI – Orifício interno do colo uterino

OMS – Organiza o mundial de saúde

PE – Persistência dos embriões no cateter

RA – Reprodu o assistida

REDLARA – Rede Latino Americana de Reprodução assistida

S – Porção superior da cavidade uterina

S.D.- Sem data

TE – Transferência embrionária

USG – Ultra-sonografia

USTD – Ultra-sonografia tridimensional

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste estudo é investigar que fatores relacionados à técnica de transferência embrionária (TE) podem interferir no resultado da fertilização *in vitro* (FIV). Os fatores analisados foram: o tempo do procedimento, a posição dos embriões na cavidade uterina e se houve alguma intercorrência durante o procedimento, tais como: troca do cateter, toque deste no fundo uterino e a presença de sangue ou persistência de embriões no cateter após a TE.

Materiais e métodos: Análise retrospectiva dos ciclos de FIV da clínica ORIGEN, Rio de Janeiro, realizados entre março de 2002 e novembro de 2005. A TE (2 a 4 embriões tipo I ou II) foi realizada no segundo dia após a inseminação dos óvulos (pela técnica de ICSI). Todas as TEs foram acompanhadas por ultra-sonografia pélvica. O cateter foi escolhido de acordo com teste prévio feito no dia da captação oocitária. O β hCG foi solicitado 12 dias após a TE: caso positivo, duas ultra-sonografias foram realizadas na 5^o e 6^o semanas de gestação.

Resultados: Foram analisados 552 ciclos de FIV, e não houve associação estatisticamente significativa das variáveis relacionadas à técnica de TE com as taxas de implantação, gravidez, gravidez clínica, bioquímica e abortamento.

Conclusão: O presente estudo demonstra que não há interferência do tempo de duração da transferência, posição do embrião na cavidade uterina ou da presença das intercorrências analisadas durante o procedimento no resultado dos ciclos de Fertilização *in vitro*.

Palavras-chave: transferência embrionária, fertilização *in vitro*, implantação do embrião

ABSTRACT

Introduction: The goal of this study is to evaluate the embryo transfer (ET) parameters which could potentially have influence on *in vitro* fertilization (IVF) outcome. The parameters analyzed were: length of the procedure, embryo position inside the uterine cavity, and any catheter-related complications occurring during ET, defined as: catheter change; touching the uterine fundus; blood inside the catheter and embryo persistence inside the catheter.

Materials & Methods: Retrospective analyses of IVF cycles of the ORIGEN clinics, Rio de Janeiro, performed between march 2002 and november 2005. An ET (2 to 4 embryos type I or II) was done on the second day after oocytes insemination (ICSI technique). Every ET was guided by pelvic ultrasonography. The catheter was chosen based on a previous test done on the oocyte aspiration day. The β hCG was requested 12 days after the ET: in case of positive, two ultrasonographies were scheduled on the 5^o and 6^o gestational week

Results: 552 IVF cycles were reviewed. There was no association between the ET parameters analyzed and implantation rate, pregnancy rate, clinical or biochemical pregnancy rate or abortion rate.

Conclusions: This study shows that the length of ET procedure, embryo position inside the uterus and catheter-related complications do not have any influence on IVF outcome.

Key-words: embryo transfer, in vitro fertilization, embryo implantation

SUMÁRIO

Introdução -----	XIV
Objetivos -----	01
Capítulo 1- A Infertilidade e a fecundação in vitro	
1.1 – Histórico e epidemiologia -----	02
1.2 – Indicações de fecundação in vitro -----	04
1.3 – Etapas da fecundação in vitro -----	05
1.3.1 – Obtenção de gametas -----	05
1.3.2 – Fecundação dos gametas e desenvolvimento embrionário em laboratório -----	07
1.3.3 – Transferência dos embriões para o útero-----	08
1.3.4 – Avaliação da gravidez após a fecundação in vitro-----	09
1.4 - Fatores prognósticos-----	09
1.4.1 – O laboratório -----	09
1.4.2 – O casal -----	10
1.4.2.1 – A idade -----	10
1.4.2.2 – Os gametas e os embriões -----	11
1.4.2.3 – A receptividade uterina -----	12
1.4.2.4 – Fatores associados -----	13
1.4.2.5 – Fertilização in vitro com doação de óvulos -----	14
Capítulo 2- Implantação embrionária	
2.1 - Fisiologia da implantação-----	15
2.2 – Fatores que interferem na implantação-----	17

2.2.1 – O embrião-----	18
2.2.2 – O endométrio-----	19
2.2.3 – A transferência embrionária-----	22

Capítulo 3- A transferência embrionária

3.1- Eventos que podem interferir na transferência embrionária-----	23
3.1.1 – A contração uterina-----	23
3.1.2 - Fluido tubário, muco e sangue na cavidade uterina-----	24
3.1.3 – Lesão endometrial-----	25
3.1.4 – Contaminação-----	26
3.1.5 – Exposição excessiva dos embriões-----	27
3.1.6 – Posição dos embriões na cavidade uterina-----	27
3.1.7 – A experiência do profissional-----	28
3.2 – Estratégias para tornar a transferência embrionária mais eficaz-----	29
3.2.1 – Ultra-sonografia-----	29
3.2.2 – Avaliação prévia da cavidade-----	30
3.2.3 – Prova de transferência-----	31
3.2.4 – Tipo de cateter-----	32
3.2.5 – Montagem do cateter-----	33
3.2.6 – Introdução do cateter na cavidade uterina-----	33
3.2.7 – Repouso após o procedimento-----	34
3.2.8 – Repleção vesical-----	35
3.2.9 – Medicação-----	35
3.2.9.1 – Progesterona-----	35
3.2.9.2 – Piroxican-----	36

Capítulo 4 – Materiais e método	
4.1 - Avaliação prévia das pacientes -----	37
4.2 - Seleção de pacientes -----	38
4.2.1 – Critérios de inclusão -----	38
4.2.2 – Critérios de Exclusão -----	38
4.3 - Estímulo ovariano e preparo endometrial -----	39
4.3.1 – Protocolo de estímulo para pacientes submetidas à Fertilização in vitro com óvulos próprios -----	39
4.3.1.1 – Bloqueio hipofisário -----	39
4.3.1.2 – Estímulo ovariano -----	39
4.3.2 – Protocolo de preparo endometrial para pacientes submetidas à fertilização in vitro com doação de óvulos -----	40
4.3.2.1 – Bloqueio hipofisário -----	40
4.3.2.2 – Preparo endometrial -----	40
4.4 – Coleta e preparo dos gametas -----	40
4.4.1 – Coleta e preparo dos oócitos -----	40
4.4.2 – Coleta e preparo dos espermatozóides -----	41
4.4.3 – Fecundação dos oócitos -----	41
4.4.4 – Doação de óvulos -----	41
4.5 – Cultivo e avaliação dos embriões -----	42
4.6 - Transferência embrionária -----	42
4.6.1- Seleção dos embriões -----	42
4.6.2 – Os profissionais envolvidos -----	43
4.6.3-Escolha e preparo do cateter -----	44

4.6.4- preparo da paciente -----	44
4.6.5- Transferência dos embriões para a cavidade uterina -----	45
4.6.6- Revisão do cateter -----	45
4.6.7 – Avaliação do procedimento -----	46
4.6.7.1 – Tempo de duração do procedimento -----	46
4.6.7.2 – Posição dos embriões na cavidade uterina -----	46
4.6.7.3 – Troca de cateter -----	46
4.6.7.4 – Presença de sangue no cateter -----	47
4.6.7.5 – Persistência dos embriões no cateter -----	47
4.6.7.6 – Toque do cateter no fundo uterino -----	47
4.7 - Suporte de fase lútea -----	47
4.8 - Avaliação da gravidez -----	48
4.8.1- β hCG sérico -----	48
4.8.2- Ultra-sonografia -----	48
4.8.3 – Desfechos analisados -----	48
4.9 – Coleta e análise dos dados -----	49
4.10 – Questões éticas -----	50
Capítulo 5- Resultados -----	51
Capítulo 6 – Discussão -----	71
Conclusão -----	81
Referencias bibliográficas -----	82
Apêndice -----	95
Anexos -----	97

INTRODUÇÃO

A infertilidade conjugal, definida como ausência de gestação após um ano de coito desprotegido (The Practice Committee of the American Society for reproductive Medicine, 2004), afeta cerca de 15 % da população mundial segundo a Organização Mundial de Saúde. Destes casais cerca de 20% precisam recorrer a técnicas de reprodução assistida para conseguir uma gestação (OMS, S/D.). A reprodução assistida (RA) é definida pela Rede Latino Americana de Reprodução Assistida (Redlara, S/D.)¹ como:

Todos os tratamentos ou procedimentos que incluam a manipulação *in vitro* de oócitos, espermatozoides ou embriões, com o propósito de conseguir uma gravidez. Inclui, entre outros, a fecundação *in vitro* e transferência de embriões transcervical,..., doação de oócitos e embriões e cessão temporária de útero” (Redlara)

Denomina-se, então, fecundação *in vitro* (FIV) todo procedimento de RA que implica em fecundação extracorpórea (Redlara-S/D).

Segundo a Redlara, em 2003, foram realizados 9917 ciclos de (FIV) na América Latina, 50% destes no Brasil. O Brasil realiza, portanto, cerca de 5.000 ciclos de FIV por ano

A maternidade continua sendo um grande desejo e uma etapa importante da vida, mesmo para a mulher moderna e para os casais modernos, em toda a sua diversidade, e a infertilidade ainda constitui uma fonte de sofrimento para as mulheres (Trindade *et al*, 2002). Os recursos necessários para ajudar casais com dificuldade de concepção existem e o grande investimento em pesquisa nessa área fez com que surgissem novas tecnologias e que outras tantas fossem aprimoradas. Apesar disso, os resulta-

¹-Redlara – Rede Latino-americana de Reprodução Assistida, responsável por catalogar os resultados das técnicas de RA de 90% dos centros de reprodução humana da América Latina.

dos em tratamentos de reprodução assistida dificilmente ultrapassam 50% de taxa de gravidez (Andersen et al, 2005)

Nas últimas décadas surgiram grandes avanços no que diz respeito ao estímulo ovariano para superovulação, com o lançamento de novas drogas indutoras e um melhor conhecimento da fisiologia ovariana; assim como, de novas técnicas laboratoriais para manejo e inseminação de gametas, e cultivo de embriões (Rossin-Amar, 2006). Porém, o que ocorre na prática é uma discrepância entre as taxas de aspiração, fertilização e clivagem, que geralmente são altas, e o sucesso do tratamento que se traduz pela ocorrência de gravidez (Margalioth et al, 2006). Sabe-se que diversos fatores influenciam a implantação do embrião: a qualidade embrionária, a receptividade uterina e a qualidade da transferência embrionária (TE) (Mansour & Aboulghar, 2002). Porém os estudos que visam entender as falhas de implantação são em sua maioria focados na receptividade uterina e na cultura e transferência de blastocistos (Margalioth et al, 2006).

A TE, embora seja uma etapa fundamental da FIV, vem merecendo, comparativamente, pouca atenção por parte dos especialistas em reprodução assistida. Um melhor entendimento da técnica da transferência embrionária pode contribuir, para um processo de implantação mais adequado e, portanto, melhor resultado nas taxas de gravidez em FIV (Mansour & Aboulghar, 2002).

Os estudos dedicados à técnica de TE são poucos e não apresentam uma uniformidade na definição das variáveis que poderiam estar envolvidas com o insucesso da FIV (Mansour & Aboulghar, 2002). Sabemos que deve ser uma técnica não traumática, mas ainda é difícil definir quais os fatores que ocorrem durante o procedimento que realmente podem interferir no resultado

final. Um maior número de estudos avaliando esta etapa da FIV pode contribuir para compreendermos os fatores envolvidos na implantação uterina pós RA.

O objetivo deste trabalho é definir se fatores relacionados à técnica utilizada na TE tem interferência nas taxas de gestação em ciclos de reprodução assistida. Especificamente, tem como proposta avaliar o tempo de duração do procedimento, a posição dos embriões na cavidade uterina e se houve determinadas intercorrências durante o procedimento: troca do cateter, toque deste no fundo uterino e a presença de sangue ou persistência de embriões no cateter após a TE, e relacionar de forma independente estas variáveis com as taxas de implantação, gravidez e a evolução desta.

OBJETIVOS

Identificar se fatores relacionados à técnica de transferência embrionária, estão associados com as taxas de implantação, gestação e evolução da gestação em ciclos de reprodução assistida.

Objetivos específicos:

Investigar se a duração do procedimento, independente de outras variáveis, pode interferir no resultado final do tratamento.

Investigar se a posição em que os embriões são colocados na cavidade uterina pode interferir com o resultado do tratamento

Investigar se a presença de determinadas intercorrências como: presença de sangue no cateter, persistência de embriões no cateter, troca de cateter ou toque do cateter no fundo uterino, pode interferir no resultado do tratamento.

CAPÍTULO 1 – A INFERTILIDADE E A FECUNDAÇÃO IN VITRO

1.1- Histórico e epidemiologia:

O conhecimento sobre a fisiologia da reprodução, as causas de infertilidade e as terapias disponíveis para solucioná-los apresentaram crescimento importante no último século.

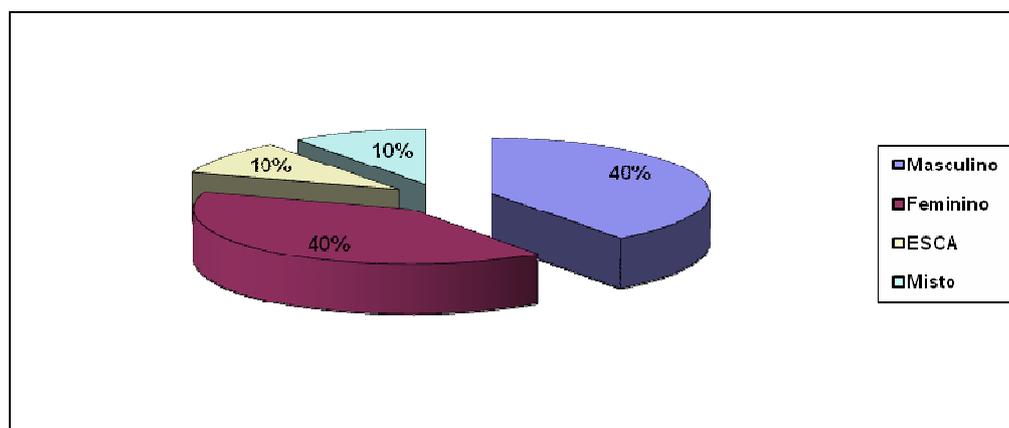
A teoria das células germinativas foi proposta por Carl Ernst Von Baer em 1827, após sua descoberta da presença do oócito no interior do folículo. Quase meio século depois, em 1875, Oscar Hertwig apresenta a teoria da fecundação através da junção de um óvulo e um espermatozóide (Clarke, 2006). A partir daí, diversos foram os estudos sobre o processo reprodutivo, até que, em 1965, surgem os primeiros relatos de maturação de oócitos humanos *in vitro* (Passos, 2006). Após mais de 10 anos de pesquisas e tentativas, em 1978 é anunciado o nascimento de Louise Brown, na Inglaterra, o primeiro bebê a nascer a partir de fecundação *in vitro* (FIV) (Steptoe & Edwards, 1978), que se tornaria um marco no desenvolvimento das técnicas de reprodução assistida.

Embora a FIV tradicional tenha representado um grande avanço, permaneciam sem solução os casos de infertilidade por fator masculino grave, com ausência ou número bastante reduzido de espermatozóides no sêmen. Foi então que, em 1992, a técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozóides (ICSI) foi descrita, procedimento no qual um único espermatozóide é injetado através da zona pelúcida dentro de um oócito (Palermo *et al*, 1992).

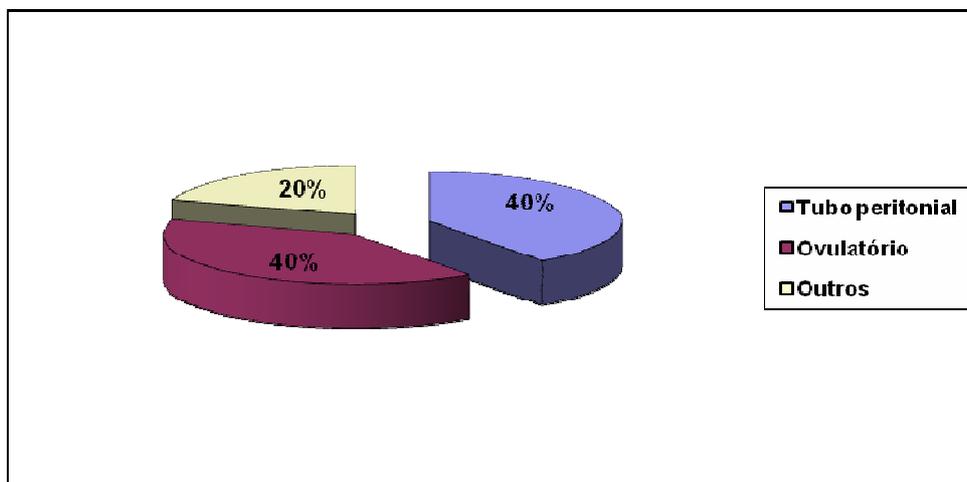
Desde então, os avanços na área são muitos e crescem as indicações de tratamento usando técnicas de reprodução assistida .

Dentre as causas de infertilidade o fator masculino é responsável por 40% dos casos, o fator feminino por outros 40%, em 10% ambos os fatores estão envolvidos. Nos 10% restantes, não conseguimos identificar o fator responsável através dos exames disponíveis para investigação, o que se denomina esterilidade sem causa aparente (ESCA) (Speroff, 1999). Na mulher, são várias as causas que levam a infertilidade: para efeito de investigação podemos dividi-las em: fator tuboperitoneal, fator ovariano, fator uterino e outras causas menos comuns, como cervical, imunológico etc. (Speroff, 1999). A distribuição das causas de infertilidade na população está representada nos gráficos 1 e 2.

Gráfico 1- Distribuição das causas de infertilidade conjugal



Fonte: Modificado de Speroff. Clinical Gynecologic Endocrinology and infertility, 1999.

Gráfico 2 – Distribuição das causas de infertilidade feminina

Fonte: Modificado de Speroff. Clinical Gynecologic Endocrinology and infertility, 1999.

1.2- Indicações de fecundação *in vitro*

O casal infértil deve passar por uma avaliação rigorosa dos principais componentes envolvidos no ciclo reprodutivo, até definir o fator responsável pela dificuldade ou impossibilidade de conceber. A partir desta definição o tratamento é escolhido, podendo ser: medicamentoso, cirúrgico, de baixa complexidade (coito programado e inseminação intra-uterina) ou de alta complexidade, como a FIV, FIV com doação de oócitos (FIV-DO), entre outros (Smith *et al*, 2003; Forti & Krausz, 2005).

Inicialmente as técnicas de alta complexidade foram criadas para tratar casais que tinham como diagnóstico de infertilidade o fator tubo-peritonal, mas logo passaram a ser usadas em casos de infertilidade masculina, especialmente com o advento da ICSI, em casos de endometriose e de ESCA, sendo estas duas

últimas indicações relativas (Smith *et al*, 2003). A FIV está também indicada quando os tratamentos de baixa complexidade não obtiveram sucesso, após no mínimo três tentativas, ou quando existe indicação de doação de oócito, em pacientes em menopausa ou com baixa reserva ovariana (Smith *et al*, 2003).

A idade da paciente é outro fator extremamente importante na orientação terapêutica. Os tratamentos de baixa complexidade oferecem taxas de gravidez muito baixas para mulheres acima de 35 anos e principalmente acima de 40 anos. Por isso, muitas vezes a FIV é indicada para oferecer uma melhor chance de sucesso (De Sutter *et al*, 2005).

1.3- Etapas da fecundação *in vitro*

A FIV consiste basicamente na obtenção dos gametas, manipulação destes em laboratório para a formação do embrião e transferência destes para o útero materno (Steptoe & Edwards, 1978).

1.3.1- Obtenção dos gametas

Para obtenção do gameta feminino realizamos a superovulação controlada, que tem como objetivo permitir que um maior número possível de oócitos chegue à maturidade.

Em ciclos espontâneos vários folículos iniciam o processo de amadurecimento, mas apenas um chega à maturidade, ou seja, existe um mecanismo de controle fisiológico que faz com que os outros entrem em atresia. Em ciclos artificiais devemos aumentar os níveis de hormônio folículo estimulante (FSH) sérico, de forma a evitar a atresia folicular, o que é realizado através da

administração de gonadotrofinas exógenas. Com isso, diversos oócitos chegam à maturidade, ficando disponíveis para a fecundação (Lunenfeld, 2002)

A produção de estrógenos pelos folículos em desenvolvimento estimula a proliferação do endométrio, que ao final do estímulo está preparado para receber os embriões (Sher *et al*, 1991).

Na FIV há ainda a necessidade de evitar o pico ovulatório de hormônio luteinizante (LH), já que precisamos aspirar os óvulos e realizar a fecundação em laboratório. Para evitar o pico de LH, realizamos o bloqueio hipofisário através de análogos ou antagonistas do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), respectivamente antes e durante o estímulo com gonadotrofinas (Janssens *et al*, 2000).

Quando os folículos ovarianos atingem cerca de 18 mm de diâmetro médio (controle realizado por ultra-sonografia) administramos gonadotrofina coriônica humana (hCG), exógeno que pode ser de origem urinária ou recombinante. O hCG apresenta uma molécula semelhante ao LH, logo se liga aos receptores deste no folículo induzindo a maturação final oocitária (Lunenfeld, 2002; European Recombinant HCG Study Group, 2000).

Antes que ocorra a ovulação, cerca de 34h após a administração do hCG, realizamos a punção aspirativa dos folículos, para obtenção dos oócitos. A punção é realizada, sob anestesia, por via vaginal e guiada por ultra-sonografia (Tan *et al*, 1992)

Pacientes que apresentam falência ovariana, independentemente da causa, necessitam recorrer à doação de oócitos para realização do tratamento. Os oócitos da doadora são inseminados com espermatozóides do parceiro da

receptora. Os embriões resultantes são transferidos para o útero da receptora que precisa ser preparado para recebê-los. Para este preparo, o bloqueio hipofisário é realizado também com análogo do GnRH, quando a menopausa ainda não está instalada. Após confirmação do bloqueio, inicia-se a administração de estrogênio. O uso de estrogênio pode ser feito por via oral ou vaginal, embora a primeira via seja mais usada (Devroey *et al*, 1998).

Para obtenção dos gametas masculinos recorremos à coleta de sêmen. Em casos de azoospermia, definida como ausência de espermatozóides no ejaculado, podemos realizar a punção de epidídimo ou a biópsia de testículo (Silber *et al*, 1995; Sharlip, 2002).

1.3.2- Fecundação de gametas e desenvolvimento embrionário em laboratório

Após a coleta, oócitos e espermatozóides são preparados em laboratório, e realiza-se a fecundação que pode ser da forma tradicional ou através da ICSI (Steptoe & Edwards, 1978; Palermo *et al*, 1992)

O sêmen é preparado de forma a retirar o fluido seminal e selecionar os espermatozóides morfolologicamente normais e com boa motilidade. Este processo é denominado capacitação espermática e pode ser feito através de várias técnicas (Gianaroli *et al*, 2000). Uma técnica bastante utilizada é o *swim-up*, que consiste em lavagem do sêmen com meio de cultura e posterior centrifugação. O sobrenadante é desprezado e o resíduo é mantido em banho-maria por 30 a 60 minutos, com meio de cultura para que os espermatozóides migrem para a

suspensão. Através desta técnica selecionam-se os espermatozóides com melhor motilidade e morfologia para inseminação dos oócitos (Jakab *et al*, 2003).

Na FIV tradicional, coloca-se um oócito e 50mil a 150mil espermatozóides por placa de petri com meio de cultura. Este material é mantido em incubadora até que a fecundação ocorra (Kee *et al*, 2000).

A ICSI é uma técnica na qual a coroa radiada é retirada do oócito (procedimento denominado denudação) e, com a ajuda de um micromanipulador, injeta-se um espermatozóide no citoplasma de cada oócito (Palermo *et al*, 1992).

Os oócitos fecundados permanecem, então, em cultivo laboratorial por 2 a 5 dias, até que seja realizada sua transferência para a cavidade uterina. Nesta fase é fundamental que as condições do ar e temperatura do laboratório estejam controladas, assim como o meio de cultura onde os embriões permanecerão, pois qualquer alteração nestas condições pode afetar o desenvolvimento embrionário (Gianaroli *et al*, 2000; Geber *et al*, 2002).

1.3.3- Transferência dos embriões para a cavidade uterina

A transferência dos embriões (TE) para a cavidade uterina pode ser realizada no segundo, terceiro, quarto ou quinto dia de desenvolvimento, a critério do centro onde o procedimento está sendo realizado.

No dia designado para o procedimento, os embriões são avaliados e os melhores são selecionados para a transferência. O número de embriões transferidos pode variar de um a quatro. O que determina este número são parâmetros clínicos, como: idade da paciente, prole, resultados em ciclos

anteriores; e laboratoriais, como a qualidade embrionária (Blake *et al*, 2005; Oatway *et al*, 2005; Pandian *et al*, 2005; Borini *et al*, 2005).

Através de um cateter próprio os embriões são, então, depositados na cavidade uterina, podendo, este procedimento, ser guiado por ultra-sonografia pélvica supra-púbica (Buckett, 2003; Buckett, 2006).

Durante o período entre a punção de oócitos até a realização do teste de gravidez administra-se progesterona como suporte de fase lútea (Daya & Gunby, 2005)

1.3.4- Avaliação da gravidez após a fecundação *in vitro*

Cerca de 12 dias após a TE, realiza-se a dosagem sérica da sub-unidade beta da gonadotrofina coriônica humana (β hCG), para detectar a presença de gestação. Valores acima de 25 UI/dl são considerados positivos (Poikkeus *et al*, 2002).

Uma vez que a gestação é detectada, a ultra-sonografia pode ser realizada para avaliação do número de fetos e sua vitalidade. Com 5 semanas de gestação o saco gestacional pode ser visualizado através da ultra-sonografia transvaginal e, com 6 semanas, detecta-se o embrião com batimento cardíaco (Callen, 2000).

1.4- Fatores prognósticos

O que determina o resultado de um ciclo de FIV é um conjunto de fatores relacionados ao casal ou ao centro onde o tratamento será desenvolvido.

1.4.1- O laboratório

O centro de reprodução deve contar com profissionais treinados e dispor de um laboratório de FIV com rígido controle de qualidade. Uma adequada manipulação dos gametas, meios de cultura bem preparados e controle das condições do ambiente, contribuem para um bom desenvolvimento embrionário (Gianaroli *et al*, 2000).

1.4.2- O casal

Os fatores relacionados ao casal que podem interferir no prognóstico do tratamento são: idade, qualidade dos gametas e dos embriões, receptividade uterina e fatores associados como tabagismo, doenças auto-imunes e obesidade.

1.4.2.1- A idade

Sabemos que a idade da mulher está diretamente relacionada com sua capacidade reprodutiva. Mesmo mulheres com ciclos menstruais regulares podem apresentar diminuição da fecundidade, que costuma chegar ao fim cerca de 10 anos antes da menopausa (ESRHE Capri Workshop group, 2005). Esta variação da fecundidade pode ser explicada pela diminuição do número de células germinativas, que ocorre ininterruptamente na mulher desde a vida intra-uterina, e pelo aumento do risco de aneuploidia, o que interfere no desenvolvimento embrionário impedindo sua implantação (te Velde & Pearson, 2002; ESRHE Capri Workshop Group, 2005).

A idade da mulher também interfere nos resultados de reprodução assistida. As taxas de gravidez em FIV são variáveis com a idade, diminuindo

após os 35 anos e mais acentuadamente após os 40 anos. Esta diminuição está diretamente relacionada à quantidade e qualidade oocitárias (Jansen, 2003), pois se sabe que mulheres submetidas à FIV-DO (doadoras abaixo de 35 anos) têm um bom prognóstico para o tratamento independente da idade (Navot *et al*, 1994).

A resposta ao estímulo ovariano também parece variar de acordo com a idade. Esta análise está relacionada não apenas ao número de folículos recrutados, como também ao número de oócitos aspirados (Popovic-Todorovic *et al*, 2003).

A idade do homem, embora não tenha um grande impacto sobre sua fecundidade, pode levar a algumas alterações no sêmen. Após os 50 anos parece aumentar a incidência de subfertilidade masculina. O papel da idade masculina no resultado de ciclos de reprodução assistida ainda não está bem estabelecido (ESRHE Capri Workshop group, 2005).

1.4.2.2- Os gametas e os embriões

A causa da infertilidade, isoladamente, não parece interferir diretamente nos resultados da FIV (Templeton *et al*, 1996; Crosignani *et al*, 2000). A qualidade dos gametas, por sua vez, pode ser reflexo da causa da infertilidade ou constituir a própria causa, o que tem grande importância em ciclos artificiais, pois tem interferência direta na qualidade do embrião, determinando seu potencial de implantação (Veeck, 1992).

Pacientes com astenozoospermia e teratozoospermia, definidas como alteração na motilidade e na morfologia dos espermatozoides, respectivamente,

produzem embriões de pior qualidade (Tucker *et al*, 1993), talvez por sua associação com alterações genéticas (Sharlip, 2002).

Gametas femininos de má qualidade também interferem na qualidade embrionária (Veeck, 1992; Ebner *et al*, 2006). Falência ovariana e endometriose são fatores que podem levar a oócitos de má qualidade (Pellicer *et al*, 2001; Jansen, 2003), assim como um estímulo ovariano mal conduzido (Margalioth, 2006).

A qualidade embrionária é, portanto, reflexo direto da qualidade dos gametas e das condições do laboratório de FIV, e tem relação direta com as taxas de implantação e gravidez. Portanto, embriões de boa qualidade têm maior potencial de implantação e maior probabilidade de resultar em gestação (Hoozemans, 2004).

1.4.2.3- A receptividade uterina

Um embrião de boa qualidade precisa encontrar um ambiente favorável para sua implantação, ou seja, o endométrio precisa estar receptivo, caso contrário, o embrião não mantém seu desenvolvimento. Alguns fatores podem influenciar na receptividade uterina: como a presença de patologias endometriais e a presença de fluidos na cavidade uterina (Strandell *et al*, 2000).

A presença de endometrite, assim como a presença de septos, pólipos, miomas submucosos ou hiperplasias na cavidade endometrial podem interferir na receptividade uterina e, portanto, nos ciclos de FIV. (Surrey, 2003).

A presença de fluidos de origem tubária na cavidade uterina pode alterar a receptividade uterina, pois estes fluidos geralmente são ricos em substâncias tóxicas que interferem na janela de implantação (Edi-Osagie *et al*, 2004).

A interferência da endometriose na receptividade uterina ainda não está estabelecida. Embora o endométrio de pacientes com endometriose apresente uma disfunção quando comparado com pacientes sem a doença (Lessey, 2002; Lornage, 2003), não podemos afirmar que esta alteração diminua as taxas de implantação. Por outro lado, pacientes com endometriose submetidas à FIV com doação de óvulos apresentam a mesma taxa de implantação que pacientes sem a doença. Estes dados sugerem que, talvez, essas baixas taxas de implantação de pacientes com endometriose estejam relacionadas à má qualidade embrionária (Pellicer *et al*, 2001; Garrido *et al*, 2002). A adenomiose pode afetar a implantação embrionária, mas seu papel no prognóstico de ciclos de FIV ainda não está esclarecido (Devlieger *et al*, 2003).

Os fatores mencionados acima devem, portanto, ser considerados para se obter um bom resultado em ciclos de FIV.

1.4.2.4- Fatores associados

O tabagismo parece alterar tanto a qualidade oocitária (Listen *et al*, 2005), como a receptividade uterina de forma importante (Soares *et al*, 2006). Mulheres tabagistas têm seu prognóstico reprodutivo modificado comparável ao acréscimo de 10 anos em sua idade cronológica (Lintsen *et al*, 2005), o que interfere nos resultados de tratamentos de RA.

A obesidade também parece modificar tanto a resposta ovariana a gonadotrofinas como a qualidade oocitária e, conseqüentemente, a qualidade embrionária (Pasquali *et al*, 2003; Dechaud *et al*, 2006). Pacientes obesas apresentam um maior risco de cancelamento por baixas taxas de fertilização (Van Swieten *et al*, 2005), um menor número de oócitos aspirados (Spandorfer *et al*, 2004) e uma menor taxa de nascidos vivos pós FIV (Fedorcsak *et al*, 2004). Porém não está bem estabelecido se a obesidade altera as taxas de gravidez em FIV.

Pacientes muito magras, com índice de massa corporal menor que 18, não têm seu prognóstico alterado em ciclos artificiais (Fedorcsak *et al*, 2004).

Fatores imunológicos que estão associados a abortamentos de repetição poderiam estar relacionados à falha de implantação, porém, esta associação ainda não está confirmada (Margalioth *et al*, 2006). Doenças auto-imunes que estão sob controle e sem lesões importantes de órgãos-alvo não parecem ter interferência nas taxas de gravidez em ciclos de FIV (Lockshin, 2004).

1.4.2.5 – Fertilização in vitro com doação de óvulos

Nos casos de FIV-DO, os fatores que podem interferir no resultado do tratamento também são patologias uterinas, espessura endometrial no momento da TE, qualidade embrionária e a técnica usada para a realização da transferência embrionária (Zenke & Chetkowski, 2004).

CAPÍTULO 2 - A IMPLANTAÇÃO EMBRIONÁRIA

2.1- Fisiologia da implantação

A implantação pode ser definida como o processo pelo qual o embrião adere à parede uterina e penetra no epitélio e na circulação uterinas para formar a placenta. Este processo ocorre entre o quinto e sétimo dias após a fertilização, normalmente no terço superior da parede posterior do útero, e pode ser dividido em três estágios: aposição, adesão e invasão. É difícil definir exatamente qual o papel do embrião ou do endométrio no processo de implantação, mas sabe-se que deve haver uma interação sincrônica para que ocorra a gestação (Hoozemans *et al*, 2004).

O embrião penetra na cavidade uterina em um período de três a quatro dias e atinge a fase de blastocisto cerca de cinco dias após a ovulação. Por volta do sétimo dia, ocorre um fenômeno denominado *hatching*, que constitui na expansão e extrusão do embrião a partir da zona pelúcida, garantindo sua capacidade de implantação. Nesta fase os blastocisto são capazes de sinalizar ao útero sua presença e de produzir fatores de crescimento que serão fundamentais para sua interação com o endométrio (Ferriani *et al*, 2000).

O endométrio é regulado basicamente pelos esteróides ovarianos: estrogênio e progesterona. O estrogênio produzido pelo folículo em desenvolvimento induz uma proliferação endometrial na primeira fase do ciclo. A progesterona, produzida pelo corpo lúteo, induz a transformação do endométrio, que passa a ser secretor na fase lútea. Tanto a proliferação endometrial quanto a transformação secretória são importantes para a implantação. Uma fase lútea

adequada depende de uma fase proliferativa adequada e qualquer deficiência na segunda fase do ciclo pode alterar a janela de implantação (Ferriani *et al*, 2000).

A janela de implantação é definida como período em que o endométrio permanece receptivo para o embrião. Este período tem duração de três a quatro dias e ocorre entre o 20º e 24º dias em ciclos naturais de 28 dias (Cavagna *et al*, 2006). A janela de implantação é caracterizada por uma série de alterações morfológicas e bioquímicas no endométrio que irão garantir a interação satisfatória com o embrião (Strowitzki *et al*, 2006).

A alteração morfológica no endométrio constitui-se basicamente no aparecimento dos pinopodos, que são organelas progesterona-dependentes que aparecem durante a janela de implantação. Essas estruturas têm como função promover a retirada de fluidos da cavidade uterina e evitar que o blastocisto seja “varrido” pelo epitélio ciliar (Cavagna *et al*, 2006). Nos ciclos estimulados para reprodução assistida o aparecimento dos pinopodos pode ser mais precoce e durar mais tempo que em ciclos naturais (Lessay *et al*, 2000; Bourgain & Devroey, 2003).

As citoquinas e fatores de crescimento são proteínas e polipeptídeos que têm a capacidade de se ligar a receptores celulares específicos. Podem ser produzidos pelo endométrio e pelo embrião, e interferem na receptividade endometrial, pois controlam a expressão de proteínas de adesão e anti-adesão, através de efeitos autócrinos e parácrinos (Cavagna *et al*, 2006).

As moléculas de adesão consistem em integrinas, imunoglobulinas e selectinas, e estão envolvidas no processo de implantação e placentação precoce. As integrinas, porém, parecem ser as mais importantes nesse processo. São

expressas tanto pelo endométrio em fase secretora como pelo blastocisto e podem, assim como as citocinas e fatores de crescimento, funcionar como marcadores bioquímicos da receptividade uterina (Valles & Dominguez, 2006).

A aposição do embrião no epitélio uterino ocorre cerca de 2 a 4 dias após sua entrada na cavidade uterina, seguida pela adesão. O endométrio, sob ação da progesterona, expressa componentes na matriz extracelular, especialmente lamininas e fibronectinas, que interagem com as moléculas de adesão embrionárias, as integrinas (Minas *et al*, 2005; Staun-Ram & Shalev, 2005).

Após a adesão inicia-se a invasão do endométrio pelo trofoblasto. O embrião secreta uma série de enzimas, entre elas a colagenase e o ativador de plasminogênio, capazes de digerir a matriz extracelular do epitélio endometrial. O embrião vai se desenvolvendo à medida que ocorre a invasão e, ao final de duas semanas, a placenta está formada e o embrião apresenta aspecto bilaminar (Bianchi & Martins, 2004).

Há evidências, através de observações histológicas e expressão de marcadores, de que o estímulo ovariano realizado para FIV pode alterar o desenvolvimento endometrial na fase lútea. Entretanto não está claro se estas alterações modificam a receptividade uterina a ponto de interferir nas taxas de gravidez (Bourgain & Devroey, 2003).

2.2- Fatores que interferem na implantação

Entre os fatores que determinam a implantação em ciclos artificiais temos aqueles relacionados ao embrião, à receptividade uterina e, também, aqueles relacionados ao procedimento de transferência embrionária (Rogers *et al*, 1986:

Mansour & Aboulghar). O diagnóstico e manipulação adequados desses fatores podem determinar o sucesso do tratamento.

2.2.1- O embrião

O papel do embrião na implantação embrionária é fundamental. Os aspectos do embrião que devem ser analisados em tratamentos de reprodução assistida são: a qualidade, o número a ser transferido e o momento ideal para transferência (Tucker & Jansen, 2002).

A qualidade embrionária é definida através de avaliação morfológica realizada pelo embriologista no dia da transferência embrionária (TE). Durante esta avaliação, considera-se o número e simetria dos blastômeros e a fragmentação do citoplasma. A partir destes dados estabelece-se uma classificação que traduz a qualidade embrionária (Veeck, 1999). Parece existir uma boa relação entre a classificação morfológica embrionária no segundo e terceiro dias de clivagem e o prognóstico para implantação (Alikani *et al*, 1999; Hamamah, 2005) , principalmente se a este método acrescenta-se a avaliação do número de pró-núcleos no primeiro dia de desenvolvimento (Borini *et al*, 2005). Em embriões com alto grau de fragmentação – e portanto considerados de má qualidade – existe uma maior probabilidade de haver anormalidades cromossômicas (Hamamah, 2005), o que poderia explicar em parte sua baixa capacidade de implantação. Os fatores que podem interferir na qualidade embrionária foram descritos no capítulo 1(pág. 11).

Em ciclos de fertilização *in vitro* (FIV) os embriões podem ser transferidos para a cavidade uterina no segundo, terceiro, quarto ou quinto dias de

desenvolvimento. O momento ideal para a realização do procedimento ainda é controverso. Porém apesar de alguns estudos demonstrarem uma tendência a uma maior taxa de implantação na transferência de blastocistos, ou seja, no quinto dia de desenvolvimento, não existem ainda estudos consistentes que determinem que esta prática se torne uma rotina (Blake *et al*, 2005). A transferência no 5º dia não parece ter benefício em relação ao segundo ou terceiro dias de desenvolvimento quanto à taxa de gravidez (Kolibianakis *et al*, 2004; Oatway *et al*, 2005).

O número de embriões a serem transferidos é outra questão a ser considerada. Parece existir uma menor taxa de gravidez quando há transferência de apenas um embrião, porém não há diferença nas taxas de gravidez quando realizamos a transferência de dois, três ou quatro embriões (Pandian *et al*, 2005).

2.2.2- O endométrio

O estudo da receptividade uterina ainda constitui um desafio para os especialistas de RA. A maior parte dos estudos é experimental e os métodos de avaliação em seres humanos são indiretos. A avaliação do endométrio e dos fatores que podem alterar sua receptividade pode acontecer antes ou durante o tratamento.

É fundamental uma avaliação adequada da cavidade endometrial anterior ao início do ciclo de FIV, para que se possa diagnosticar e tratar esses fatores antes de iniciar o tratamento. Esta avaliação pode ser feita através da ultrassonografia, histerossalpingografia e vídeo-histeroscopia. A ultrassonografia e a histerossalpingografia podem ser úteis no diagnóstico de miomas, pólipos e septos

uterinos. A vídeo-histeroscopia, porém, é o melhor método para uma boa avaliação da cavidade endometrial, pois, associada à histopatologia, faz o diagnóstico de infecções, inflamações, hiperplasias, além das patologias citadas (Marbaix & Brun, 2004). A identificação destas patologias é importante para evitar falhas de implantação (Oliveira *et al*, 2003)

A avaliação da receptividade uterina durante os ciclos de reprodução assistida ainda representa uma dificuldade. Alguns parâmetros podem ser considerados e serão discutidos a seguir.

A biópsia de endométrio (BE) constitui o padrão ouro para avaliar o morfologicamente o endométrio e definir as alterações estruturais hormonalmente induzidas. Porém, sua realização durante um ciclo de FIV não é aceitável pelo risco de lesão endometrial, prejudicando a implantação (Friedler *et al*, 1996). Por outro lado, mesmo um endométrio morfologicamente normal e compatível com a fase do ciclo não garante uma receptividade uterina adequada (Younis *et al*, 1996).

A pesquisa dos diversos marcadores da receptividade uterina, encontra os mesmos problemas da BE, quanto à aplicabilidade clínica. A maior parte dos marcadores está presente durante a janela de implantação (Bourgain & Devroey, 2003), período no qual a transferência embrionária já foi realizada. Qualquer manipulação uterina, nesta fase, torna-se inviável e sem benefício, pois não há mais possibilidade de mudar a conduta clínica.

As dosagens de estrogênio e progesterona séricos também não constituem um bom método, pois não refletem diretamente a receptividade endometrial. Mesmo com altos níveis de estrogênio e progesterona circulantes, a atuação

destes hormônios dependerá da quantidade e função dos receptores presentes no endométrio (Friedler *et al*, 1996).

Os exames de imagem parecem oferecer os melhores parâmetros para avaliar uma adequada função endometrial durante ciclos de FIV. A ultra-sonografia transvaginal mede a espessura endometrial e avalia seu aspecto, parâmetros com bom valor preditivo da receptividade uterina em ciclos de FIV (Serafini *et al*, 1994) e em ciclos de FIV-DO (Shapiro *et al*, 1993).

A avaliação da espessura endometrial normalmente é realizada no dia da administração da gonadotrofina Coriônica humana. Os estudos que comparam ciclos de FIV e FIV-DO, com e sem gestação, apontam como valor mínimo entre 6 e 8 mm para se obter um resultado positivo (Friedler *et al*, 1996). Ainda resta dúvida se um endométrio muito espesso poderia ser prejudicial. Weissman e colaboradores (1999) afirmam que pacientes com endométrio com espessura maior ou igual a 14 mm, apresentam menores taxas de gravidez e maiores taxas de abortamento, talvez por aumentar a chance de haver lesão endometrial durante a TE. Estes resultados, porém, não foram confirmados por Dietterich e colaboradores (2002).

O aspecto do endométrio durante a fase folicular tardia também merece atenção. Nesta fase, o endométrio, sob ação do estrogênio, apresenta aspecto trilaminar. Em ciclos artificiais, endométrios com aspecto trilaminar no dia da administração do hCG têm um bom valor preditivo para ciclos com concepção (Serafini *et al*, 1994). Nesta fase, ao contrário, a presença de endométrios hiperecogênicos, típicos da fase lútea, apontam para uma menor probabilidade de gravidez (Fanchin *et al*, 2000).

A dopplerfluxometria das artérias uterinas tem sido apontada como um bom método para avaliação da receptividade uterina. Durante o estudo destas artérias são medidos dois índices: o índice de resistência e de pulsatilidade. O índice de resistência tende a diminuir na fase folicular, uma vez que há um aumento da vascularização uterina induzida pelo estrogênio. Este mesmo índice volta a aumentar na fase peri-ovulatória e volta a diminuir na fase lútea, tornando-se mínimo no período correspondente a implantação (Porcu *et al*, 2003).

A ultra-sonografia tridimensional (USTD), embora seja um método relativamente novo, pode ter um papel importante na avaliação endometrial durante ciclos de FIV. A USTD pode dar informações sobre o volume do endométrio e sua vascularização, que parecem ser mais fidedignas que os parâmetros obtidos na ultra-sonografia convencional, como a espessura endometrial e o Doppler (Martins *et al*, 2006). Estes parâmetros entretanto merecem novos estudos que confirmem sua aplicabilidade em ciclos artificiais.

2.2.3- A transferência embrionária

A primeira descrição da importância da técnica de TE nos resultados de FIV foi feita por Edwards e colaboradores, em 1984. Desde então, embora não haja dúvida da sua influência na implantação, os estudos dedicados a ela ainda são poucos.

A transferência embrionária deve ser um procedimento delicado e preciso, evitando fatores que podem contribuir para o insucesso nos ciclos de FIV.

CAPÍTULO 3- A TRANSFERÊNCIA EMBRIONÁRIA

A transferência embrionária (TE) é uma etapa fundamental da Fertilização in vitro (FIV) e, embora seja tecnicamente simples, merece cuidados.

A TE deve ser um procedimento delicado e preciso. Os embriões devem ser colocados gentilmente na cavidade uterina em uma posição favorável à implantação e evitando eventos que podem dificultá-la. Existem diversas estratégias descritas para minimizar estes eventos, tornando a TE mais eficiente.

3.1- Eventos que podem interferir na transferência embrionária

3.1.1- A contração uterina

Um dos problemas que podem ocorrer durante a TE é a presença de contrações uterinas.

Para que a interação entre embrião e endométrio ocorra adequadamente o útero deve estar relaxado (Bulletti & Ziegler, 2005). A presença de contrações no momento da TE diminui as taxas de implantação e de gravidez em ciclos de FIV, provavelmente por expulsão dos embriões da cavidade uterina (Fanchin *et al*, 1998a).

Em ciclos estimulados a frequência das contrações uterinas tende a diminuir nos dias que seguem a administração do hCG, tornando-se mínimas cerca de sete dias após o uso desta medicação, que coincide com a época da implantação embrionária (Fanchin *et al*, 2001a). No entanto, uma TE pouco cuidadosa pode aumentar a frequência destas contrações.

São vários os mecanismos que podem levar às contrações uterinas durante a TE. A manipulação do colo uterino, principalmente do orifício interno (OI) pode levar à liberação de ocitocina e, conseqüentemente, à contração uterina (Mansour & Aboulghar, 2002).

A dilatação do colo uterino, quando necessária, não deve ser realizada no momento da transferência embrionária, pois diminui as taxas de gravidez (Schoolcraft *et al*, 2001). Por outro lado, a dilatação realizada um a três meses antes do procedimento aumenta as taxas de implantação e de gravidez, em casos de estenose cervical, pois torna a transferência menos traumática (Prapas *et al*, 2004).

O ato de pinçar o lábio anterior do colo uterino com pinça de Pozzi, seguido da tração do corpo uterino, aumenta os níveis séricos de ocitocina, podendo levar a contrações uterinas no momento da transferência (Dorn *et al*, 1999).

Uma outra região do útero que, quando estimulada, provoca a liberação de ocitocina é o fundo uterino (FU): um simples toque nesta região pode estimular contrações e provocar o deslocamento dos embriões para a cérvix, ou para as trompas, diminuindo as taxas de implantação tópica (Fanchin *et al*, 2001a) e aumentando as chances de prenhez tubária (Lesny *et al*, 1998).

3.1.2- Fluido tubário, sangue e muco na cavidade uterina

A presença de fluidos na cavidade uterina pode dificultar a implantação embrionária através de diversos mecanismos. Os fluidos normalmente presentes na cavidade são: muco, fluido de origem tubária e sangue.

A presença de muco na cavidade uterina, ou canal cervical, pode contribuir para a retenção do embrião no cateter de transferência, ou para sua expulsão da cavidade uterina (Schoolcraft *et al*, 2001). O muco pode obstruir a ponta do cateter, impedindo a saída do embrião, ou ficar colado a este, fazendo com que seja sugado para fora da cavidade no momento da retirada do cateter (Mansour et Aboulghar, 2002). Pode também propiciar a contaminação do sítio de implantação, carreando bactérias da flora vaginal para o interior da cavidade (Fanchin *et al*, 1998 b).

A presença de fluido de origem tubária na cavidade, em casos de hidrossalpinge, também s interferir na implantação embrionária. O fluido acumulado nas tubas desce através das paredes da cavidade uterina, exercendo efeito mecânico sobre o embrião e expulsando-o da cavidade. Além disso, o fluido proveniente de hidrossalpinges é rico em citocinas que podem ter efeito tóxico para os embriões, ou ainda alterar a receptividade endometrial (Strandell *et al*, 2000).

O acúmulo de sangue na cavidade uterina dificulta a aposição do embrião no tecido endometrial, além de exercer efeito tóxico sobre este, podendo diminuir as taxas de implantação (Alvero *et al*, 2003).

3.1.3- Lesão endometrial

A lesão da superfície endometrial pode ocorrer durante a transferência embrionária. Nesta fase do ciclo artificial, o endométrio encontra-se espesso e friável, podendo ser facilmente lesado durante a introdução do cateter de transferência (Marikinti & Brinsden, 2005).

A lesão do endométrio pode ocorrer no local onde os embriões foram depositados, dificultando a aposição destes e posterior implantação. Pode também causar sangramento na cavidade uterina, trazendo efeitos deletérios para o embrião.

Já existem evidências, em ciclos de teste, de que, mesmo tomando todas as precauções e realizando um procedimento aparentemente não traumático, em 46% dos casos haverá lesão endometrial pelo cateter, comprovada por histeroscopia (Murray *et al*, 2003). As lesões endometriais podem ser superficiais ou profundas, dependendo do cateter utilizado durante o procedimento (Lemgruber *et al*, 2002).

O diagnóstico da lesão endometrial durante a TE é difícil. Existem, porém, alguns indícios da sua ocorrência. A presença de sangue ou muco no interior do cateter pode estar associada à lesão endometrial (Schoolcraft *et al*, 2001) e à diminuição das taxas de implantação (Marconi *et al*, 2003).

3.1.4- Contaminação

A presença de agentes infecciosos no canal cervical ou no cateter de transferência no momento do procedimento pode diminuir a taxa de implantação embrionária e a taxa de gravidez clínica (Egbase *et al*, 1996; Fanchin *et al*, 1998 b). Este fato pode ser explicado por diversos mecanismos. A introdução do cateter de transferência pode inocular agentes infecciosos no endométrio, alterando suas características bioquímicas e estruturais necessárias para uma adequada implantação. Pode haver, também, contaminação direta do embrião, modificando sua capacidade de implantação. Por fim, a colonização da cérvix

pode indicar a presença de uma endometrite sub-clínica que, por sua vez, pode alterar a receptividade endometrial (Fanchin *et al*, 1998 b).

Apesar de a contaminação durante a TE poder interferir nas taxas de gravidez, não há evidências de que o uso da antibioticoprofilaxia deva ser realizado de forma rotineira (Levi Setti *et al*, 2003).

3.1.5- Exposição excessiva dos embriões

Sabemos que as células são bastante sensíveis a fatores ambientais, tais como: micropartículas, variações de temperatura, umidade e luz. Estes fatores podem produzir efeitos adversos nos embriões manipulados em laboratório, podendo comprometer seu desenvolvimento (Matheus *et al*, 2004) Portanto, no momento da TE devemos ser cautelosos para evitar exposições prolongadas do embrião ao ambiente externo. Teoricamente, o tempo entre a retirada dos embriões da estufa e sua colocação na cavidade uterina deve ser o menor possível, embora não existam estudos específicos que quantifiquem este tempo. (Levi Setti *et al*, 2003).

3.1.6- Posição do embrião na cavidade uterina

A posição de colocação do embrião na cavidade uterina merece atenção. Fisiologicamente, a maior parte dos embriões tem como sítio de implantação a porção superior do útero em sua parede posterior (Speroff *et al*, 1999).

Em ciclos de FIV, 80% dos embriões têm como locais de implantação aqueles onde foram depositados no momento da transferência (Baba *et al*, 2000).

Considerando estes dados, parece que o local mais apropriado para a colocação dos embriões na TE seria a parte superior da cavidade uterina, próxima ao fundo onde teriam uma maior chance de ter uma implantação adequada. Contudo, estudos específicos mostram que a colocação muito próxima ao fundo pode ser prejudicial, diminuindo as taxas de gravidez, principalmente se o procedimento não for guiado por ultra-sonografia (van de Pás *et al*, 2003; Pope *et al*, 2004). Alguns autores acreditam que a colocação na porção média ou inferior da cavidade uterina poderia contribuir para melhores resultados em FIV, (Frankfurter *et al*, 2004; Coroleu *et al*, 2002; Pope *et al*, 2004), embora não haja consenso sobre a divisão das porções da cavidade uterina. A explicação para estes resultados é a de que a proximidade do cateter de transferência do fundo uterino pode induzir contrações uterinas, influenciando negativamente a TE .

Outros autores afirmam não haver diferença nas taxas de gravidez ou abortamento relacionadas à posição de colocação dos embriões na cavidade uterina (Franco *et al*, 2004).

Há dúvida, portanto, sobre se a distância em que os embriões são colocados interfere nas taxas de implantação e gravidez , independentemente de outros fatores, como o toque no fundo uterino.

3.1.7- A experiência do profissional

A técnica usada na transferência embrionária é de extrema importância para o sucesso da FIV. A partir desta afirmação, pode-se supor que a experiência do profissional que realiza o procedimento também interfere no sucesso do procedimento e do tratamento, o que é confirmado por alguns autores (Karande *et*

al, 1999; Hearn-Stokes *et al*, 2000). Acredita-se que após em média 50 transferências o profissional já esteja treinado (Levi Setti *et al*, 2003). No entanto, alguns trabalhos da literatura específica mostram que, quando existe um treinamento adequado dos profissionais e quando a técnica utilizada é uniforme, não há diferença nas taxas de gestação entre os diversos profissionais (Pasqualini & Quintans, 2001).

Por outro lado, parece que a experiência prévia do médico que realiza a TE pode interferir nos resultados de FIV, quando se utiliza a técnica de tocar o fundo uterino para definir o local ideal de transferência. Quando esta técnica não é utilizada, a experiência do médico não tem interferência (Levi Setti *et al*, 2003).

3.2- Estratégias para tornar a transferência embrionária mais eficaz

Levando em consideração os eventos apresentados, encontram-se na literatura específica algumas estratégias que podem ser usadas para minimizá-los. Entre elas há o uso da ultra-sonografia como guia para o procedimento, a realização de uma prova de transferência, escolha e montagem adequadas do cateter de transferência e cuidados específicos no momento e após o procedimento.

3.2.1- Ultra-sonografia

A técnica utilizada para transferência embrionária por via transcervical, nos primeiros anos após desenvolvimento da técnica de FIV, era baseada no toque do cateter no FU. Esta técnica consistia em introduzir o cateter até tocar o fundo, recuar cerca de 10 mm e, então, depositar os embriões.

Em 1985, Strickler e colaboradores descreveram pela primeira vez o uso da ultra-sonografia (USG) como guia na TE, com o objetivo de acompanhar o trajeto do cateter na cavidade uterina durante o procedimento.

Utilizando a USG como guia durante a TE, a ponta do cateter de transferência é visualizada durante sua introdução e, com isso, garante-se a colocação dos embriões no local mais adequado, que parece ser o fundo uterino. Ainda durante a introdução do cateter, a USG auxilia na visualização do ângulo cervico-uterino, tornando a TE mais fácil e, portanto, menos traumática. A saída de gotas de meio de cultura e ar do cateter pode ser documentada pelo uso da USG (Strickler *et al*, 1985), evitando a retenção dos embriões no cateter e a necessidade de nova transferência. Por fim, a USG pode evitar o toque do cateter no FU, diminuindo o estímulo as contrações uterinas durante o procedimento (Buckett *et al*, 2003).

Por todos estes motivos, o uso da USG contribui para o aumento das taxas de gravidez, se comparado à realização da TE sem esse acompanhamento (Kan *et al*, 1999; Buckett *et al*, 2003). Pode ainda ser útil, diminuindo as taxas de gestação ectópica, evitando que o cateter fique direcionado para os óstios tubários (Buckett *et al*, 2003).

No futuro, talvez a USG tridimensional seja ainda mais útil para guiar a TE, principalmente para determinar o local mais apropriado para a colocação dos embriões (Baba *et al*, 2000).

3.2.2- Avaliação prévia da cavidade uterina

Quando a cavidade uterina é avaliada previamente, podemos obter informações importantes para o momento da TE. A vídeo-histeroscopia,

especialmente, é útil na identificação de estenoses ou tortuosidades de canal cervical, que podem dificultar a introdução do cateter. A vantagem da avaliação ser realizada antes do início do ciclo de RA é a possibilidade de realizar a correção da alteração cervical sem risco de lesão endometrial (Rama Raju *et al*, 2006).

3.2.3- Prova de transferência

Evitar a lesão endometrial pode ser uma tarefa difícil durante a TE. Um conhecimento prévio da anatomia uterina de cada paciente certamente é útil.

A realização de uma boa avaliação da cavidade uterina é indispensável para qualquer paciente que será submetida à FIV. Uma forma de avaliação é realizar um teste de transferência (Kably *et al*, 2003). Este teste pode ser realizado antes ou durante o ciclo de FIV, e tem como objetivo a avaliação do trajeto do cateter de TE (angulação do colo e comprimento da cavidade) e o tipo de cateter ideal para cada paciente, já que há uma boa relação entre o cateter utilizado na prova de transferência e aquele da transferência propriamente dita (Kably *et al*, 2003). A prova de transferência, mesmo realizada imediatamente antes do procedimento, ajuda a detectar eventuais dificuldades, permitindo correções e ajustes. Estes ajustes propiciam um procedimento mais fácil, logo, com menor chance de trauma e, portanto, melhoram as taxas de gravidez. (Sharif *et al*, 1995).

3.2.4- Tipo de cateter

A escolha do cateter é de extrema importância para o sucesso da TE. Deve ser ao mesmo tempo eficiente para ultrapassar as tortuosidades do canal cervical e delicado para evitar o traumatismo do endométrio (van Weering *et al*, 2002).

Existem hoje no mercado diversos tipos de cateter de transferência com variações de modelo e material. Para efeito de estudo, podemos dividi-los em dois grupos: maleáveis e rígidos. Os cateteres maleáveis têm como vantagem uma menor incidência de lesão endometrial (Lemgruber *et al*, 2002) e de contração uterina (About-Setta *et al*, 2005; Buckett *et al*, 2006) durante o procedimento, pois são capazes de seguir mais facilmente a curvatura natural da cavidade uterina (Schoolcraft *et al*, 2001). Por outro lado, estes cateteres parecem estar associados a complicações no momento do procedimento, como dificuldade em ultrapassar o colo uterino e retenção do embrião no cateter (Wisanto *et al*, 1989; About-Setta, 2005). Os cateteres rígidos, ao contrário, apresentam uma maior chance de causarem lesão endometrial e contração uterina (About-Setta, 2005).

Apesar de eventuais dificuldades que possam surgir, parece claro que o uso de cateteres maleáveis durante a TE aumenta as taxas de gestação em ciclos de FIV (Wisanto *et al*, 1989; van Weering *et al*, 2002; Sallam *et al*, 2003; About-Setta *et al*, 2005; Buckett *et al*, 2006), principalmente em associação com a USG (Wood *et al*, 2000). Não parece haver diferença nas taxas de gravidez entre os diferentes tipos de cateteres maleáveis (Karande *et al*, 2002; Buckett *et al*, 2006).

3.2.5- Montagem do cateter

A forma como é realizada a montagem do cateter de transferência pode interferir no sucesso do procedimento.

O embrião deve ser colocado no cateter de transferência envolto por meio de cultura enriquecido com piruvato e substituto de soro sintético (Geber *et al*, 2002). Um fator que deve ser considerado é o volume do meio de cultura a ser usado. Observou-se que volumes muito pequenos ($< 10 \mu\text{l}$) podem se misturar mais facilmente com bolhas de ar, o que deixaria os embriões sem contato suficiente com o meio de cultura (Ebner *et al*, 2001 b). Por outro lado, a utilização de grandes volumes de meio parece oferecer um maior risco de gestação ectópica (Hearns-Stokes *et al*, 2000). O cateter deve ser carregado com três bolhas de meio de cultura, de cerca de $10 \mu\text{l}$, separadas por bolhas de ar contendo também $10 \mu\text{l}$. A bolha central contém os embriões e as bolhas laterais funcionam como proteção para evitar sua saída do cateter (Pasqualini & Quintans, 2001).

A montagem do cateter deve ser feita de forma rápida, imediatamente antes da realização do procedimento, para evitar exposição excessiva dos embriões, sob pena de comprometer seu desenvolvimento (Levi Setti *et al*, 2003).

3.2.6- Colocação do cateter na cavidade uterina

Alguns cuidados são necessários durante a introdução do cateter na cavidade uterina.

Antes de iniciar a transferência, deve ser feita uma limpeza cuidadosa da cavidade vaginal e da cérvix. A limpeza pode ser feita com soluções anti-sépticas ou com soro em grandes quantidades, visando a retirada de resíduos de

medicação, muco e secreção vaginal, potencialmente contaminada (Schoolcraft *et al*, 2001; Levi Setti *et al*, 2003). O uso de soluções anti-sépticas à base de iodo deve ser evitado, por elas serem potencialmente tóxicas para os embriões, podendo diminuir as taxas de gravidez (Van Os, *et al*, 1992). Quando existe muco em grande quantidade no canal cervical, pode ser feita uma aspiração com seringa ou com um cateter de transferência (Mansour & Aboulghar, 2002).

Após a introdução do cateter e injeção dos embriões na cavidade uterina, deve-se manter a pressão no êmbolo por alguns segundos e retirar o cateter com o êmbolo ainda pressionado. Este procedimento parece evitar que a pressão negativa “sugue” os embriões para fora durante a saída do cateter (Martinez *et al*, 2001).

3.2.7- Repouso após o procedimento

O repouso imediato após a TE e a restrição das atividades físicas nos dias que se seguem ao procedimento ainda são motivo de controvérsia.

Os estudos específicos sobre o tema não evidenciaram benefício no repouso após a transferência (Sharif *et al*, 1998; Levi Setti *et al*, 2003; Amarin *et al*, 2004), mostrando que a deambulação imediatamente após o procedimento não interfere nos resultados (Bar-Hava *et al*, 2005).

A restrição das atividades físicas nos primeiros 15 dias após a TE, da mesma maneira, não parece trazer benefícios (Su *et al*, 2001), assim como das atividades sexuais (Tremellen *et al*, 2000).

Apesar das evidências, grande parte dos centros de medicina reprodutiva mantém como rotina um período de repouso imediatamente após o procedimento.

3.2.8- Repleção vesical

A bexiga repleta durante o procedimento é fundamental. É útil como janela para a USG pélvica supra-púbica e, também, promove a retificação do corpo uterino, facilitando a introdução do cateter e, portanto, tornando a TE menos traumática (Schoolcraft *et al*, 2001).

3.2.9- Medicação

O uso de medicação previamente à transferência embrionária pode contribuir para diminuir as contrações uterinas durante o procedimento.

3.2.9.1- Progesterona

Uma forma de evitar ou diminuir as contrações uterinas é a administração de progesterona previamente a TE.

Sabe-se que a frequência das contrações uterinas em ciclos menstruais pode diminuir em até 50%, após 2 a 4 dias de administração de progesterona por via vaginal (Bulletti & Ziegler, 2005). Estes dados se confirmam em ciclos artificiais. O relaxamento uterino durante e após a transferência embrionária possibilita a permanência do embrião na cavidade endometrial até o momento da implantação, contribuindo para um melhor resultado em ciclos de FIV (Fanchin *et al*, 2001 b; Frydman, 2004).

Em ciclos induzidos, o ideal é iniciar a administração no dia da aspiração oocitária, o que parece ter efeito satisfatório, pois, quanto maior o tempo de

exposição a progesterona, menor a intensidade das contrações uterinas (Fanchin *et al*, 2001 b).

Em ciclos de doação de óvulos a progesterona deve ser iniciada de 3 a 4 dias antes da TE, garantindo o relaxamento uterino e uma adequada janela de implantação (Nawroth & Ludwig, 2005).

A administração de progesterona pode ser feita por via intramuscular ou por via vaginal. Ambas as vias parecem possibilitar uma adequada transformação secretória do endométrio, assim como um adequado relaxamento uterino. A via oral, por sua vez, não apresenta absorção adequada, podendo influenciar negativamente os resultados do tratamento (Tavaniotou *et al*, 2000; Daya & Gunby, 2005).

3.2.9.2- Piroxican

O Piroxican é um anti-inflamatório não hormonal que age inibindo a síntese de prostaglandinas, normalmente produzidas durante a manipulação uterina. O uso desta substância previamente a TE pode ter efeito benéfico, bloqueando a síntese de prostaglandinas durante o procedimento e, portanto, evitando a contração uterina (Moon *et al*, 2004).

Embora a maior parte das estratégias apresentadas seja utilizada pelos grandes centros de medicina reprodutiva no Brasil e no mundo, muitas delas ainda necessitam ter sua eficácia comprovada.

CAPÍTULO 4 - MATERIAIS E MÉTODOS

Os dados foram obtidos de forma retrospectiva a partir de prontuários da Clínica ORIGEN, Centro de Medicina Reprodutiva, Rio de Janeiro.

1- Avaliação das pacientes

Todos os casais foram submetidos a um protocolo mínimo de investigação diagnóstica, independente da suspeita clínica. Estes testes diagnósticos tiveram como objetivo não apenas definir a causa principal da infertilidade, mas também evidenciar outros fatores que pudessem interferir no prognóstico do tratamento.

Os exames principais foram:

Histerossalpingografia.

Videohisteroscopia - para avaliação da cavidade uterina em pacientes com alterações à Histerossalpingografia, ou naquelas em que este exame não se fazia necessário, por já terem indicação de fertilização *in vitro* antes mesmo da investigação inicial (ex: idade avançada, ligadura tubária, vasectomia etc.).

Ultra-sonografia pélvica por via transvaginal

Dosagens hormonais - Incluindo FSH, LH, Estradiol, Hormônios tireoideanos e Prolactina.

Sorologias (HIV, Hepatite B e C, VDRL, Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovirus)

Espermograma

2- Seleção de Pacientes

Foram investigados ciclos de fertilização *in vitro* (FIV) com transferência embrionária (TE) da clínica ORIGEN, Rio de Janeiro, incluindo casos de fertilização *in vitro* com doação de óvulos (FIV-DO), do período de Março de 2002 a Novembro de 2005.

2.1- Critérios de inclusão

Pacientes com no mínimo dois embriões para transferência.

Pacientes com pelo menos dois embriões tipo I e/ou II, seguindo o critério adotado neste estudo para classificação embrionária.

2.2- Critérios de exclusão

Pacientes com apenas embriões tipo III, IV e V, ou com apenas um embrião tipo I e/ou II.

Casos em que houve transferência de apenas um embrião, independente da classificação.

Casos em que houve transferência de blastocisto.

Casos em que houve transferência pós-descongelamento.

Casos em que o endométrio apresentava espessura menor que 8mm no dia do hcg.

Casos em que a imagem ultra-sonográfica não estava nítida o suficiente para avaliação das variáveis estudadas.

Casos nos quais o protocolo de estímulo foi diferente do descrito abaixo.

Pacientes com história de abortamento de repetição.

3- Estímulo ovariano e preparo endometrial

3.1- Protocolo de estímulo nas pacientes submetidas à FIV com óvulos próprios

3.1.1- Bloqueio hipofisário

As pacientes, submetidas a estímulo ovariano, iniciaram o tratamento com análogo do GnRH (GnRHa) , no 2º ou 21º dia do ciclo. A supressão hipofisária foi confirmada através de ultra-sonografia transvaginal quando o endométrio estava com espessura inferior a 3mm, e com dosagem sérica de estradiol menor que 30pg/dl.

3.1.2- Estímulo ovariano

Após a supressão hipofisária, todas as pacientes iniciaram, para superovulação, Gonadotrofina Menopáusica humana (hMG), nos 4 primeiros dias do estímulo, em doses individualizadas a partir da avaliação da reserva ovariana (Dosagem sérica de FSH no terceiro dia do ciclo), da idade e da resposta a estímulos anteriores. Nos dias posteriores, receberam FSH recombinante (rFSH), também em doses individualizadas, a partir da resposta ao estímulo que foi avaliada por ultra-sonografia transvaginal, através da contagem e mensuração dos folículos e por dosagem sérica de estradiol.

Para induzir à maturação oocitária, a Gonadotrofina Coriônica humana (hCG) foi administrada na dose de 10.000 UI, quando a maior parte dos folículos, medidos por ultra-sonografia, atingiram de 17 a 20 mm de diâmetro médio; e os níveis plasmáticos de estradiol foram de, no mínimo, 200 pg/ml por folículo.

3.2- Protocolo de preparo endometrial nas pacientes submetidas à FIV com óvulos doados

3.2.1- Bloqueio hipofisário

As pacientes submetidas à FIV-DO iniciaram o tratamento com GnRHa no 2° ou 21° dia do ciclo (quando se encontravam na pós-menopausa não se fazia necessário o uso desta medicação). O bloqueio foi confirmado através de ultrasonografia e dosagem hormonal, seguindo os mesmos critérios descritos acima.

3.2.2- Preparo endometrial

Após a confirmação da supressão hipofisária, as pacientes iniciaram valerato de estradiol por via oral. Usaram 2mg/dia durante 4 dias, 4 mg/dia (12/12h) durante mais 4 dias e, finalmente, 6mg/dia (8/8h). Esta dose foi mantida até o teste de gravidez e, quando este foi positivo, até a nona semana de gravidez. A realização da ultra-sonografia transvaginal, após 15 dias de início da medicação, confirmou o preparo endometrial adequado com espessura endometrial maior ou igual a 8 mm.

4- Coleta e preparo dos gametas

4.1- Coleta e preparo dos oócitos

A aspiração dos óvulos foi realizada, com a paciente sob analgesia, por via vaginal, guiada por ultra-sonografia transvaginal, através de agulha de aspiração

própria acoplada ao transdutor. O procedimento ocorreu cerca de 34 horas após a administração do hCG. Logo após a aspiração, os oócitos foram denudados, avaliados pelo embriologista e classificados, segundo sua maturidade, nos estágios de: vesícula germinativa, metáfase I e metáfase II.

4.2- Coleta e preparo dos espermatozóides

A coleta do sêmen foi realizada por masturbação, respeitando o tempo de abstinência de 2 a 3 dias. Nos casos de azoospermia, foram realizadas punção de epidídimo ou biópsia de testículo, dependendo da etiologia.

O preparo do sêmen foi feita pela técnica de *swim-up*, que consiste em lavagem com meio de cultura, com posterior centrifugação. O sobrenadante é desprezado e o resíduo é mantido em banho-maria por 30 a 60 minutos, com meio de cultura para que os espermatozóides migrem para a suspensão. Através desta técnica selecionam-se os espermatozóides com melhor motilidade para inseminação dos oócitos.

4.3- Fecundação dos oócitos

Foram fecundados os oócitos em metáfase II, com os espermatozóides previamente selecionados, pela técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozóides (ICSI), no mesmo dia da aspiração.

4.4- Doação de óvulos

Para as pacientes submetidas à FIV-DO foram utilizados óvulos de doadoras com idade menor ou igual a 35 anos. As doações foram realizadas de

forma voluntária e anônima, por pacientes que também estavam sendo submetidas à FIV como tratamento para infertilidade conjugal, conforme resolução do Conselho Federal de Medicina (anexo 1). No dia da coleta dos óvulos da doadora, estes também foram classificados e fecundados com o sêmen do parceiro da receptora, usando os mesmos critérios, técnicas e materiais.

5- Cultivo e Avaliação dos Embriões

Os embriões permaneceram em cultivo em meio de cultura EARLE'S, Balanced Salt Solution (Sigma) enriquecido com piruvato e substituto de soro sintético (Vitrolife) incubados a 37°C, com CO₂ a 5%, durante 2 dias.

No segundo dia após a ICSI, os embriões em cultivo foram avaliados pelo embriologista e classificados segundo o número e simetria de blastômeros e grau de fragmentação do citoplasma (quadro 1).

6- Transferência Embrionária

6.1- Seleção dos embriões

A TE foi realizada no segundo dia após a inseminação dos óvulos. O número de embriões a serem transferidos foi decidido a partir dos seguintes critérios: idade da paciente, causa da infertilidade, número de tentativas anteriores e número e qualidade dos embriões disponíveis para transferência, respeitando as determinações do Conselho Federal de Medicina. (Anexo 1)

Quadro 1: **CLASSIFICAÇÃO EMBRIONÁRIA**

GRAU	CARACTERÍSTICAS
I	Embrião com blastômeros de igual tamanho; sem fragmentos citoplasmáticos e com citoplasma claro e homogêneo.
II	Embrião com blastômeros de igual tamanho e menos de 30% de fragmentos citoplasmáticos
III	Embrião com blastômeros de tamanhos diferentes, com até 30% de fragmentos citoplasmáticos.
IV	Embrião com blastômeros de tamanhos iguais ou diferentes; e com 30 a 50% de fragmentos citoplasmáticos.
V	Embrião com mais de 50% de fragmentos citoplasmáticos

Fonte: Veeck, L. Atlas of the human oocyte & early conceptus, 1999.

6.2 – Os profissionais envolvidos

No nosso trabalho três médicos foram responsáveis por realizar as TEs. Todos já haviam realizado mais de 50 procedimentos até Março de 2002 e realizaram a TE guiada por USG, utilizando a mesma técnica. Além do clínico responsável, participaram do procedimento um biólogo e um ultra-sonografista.

6.3- Escolha e preparo do cateter de transferência

Foram usados três tipos de cateter: Frydman 5,5 cm, Frydman 4,5 cm com duplo lúmen, Frydman 4,5 cm com guia. A escolha foi realizada a partir de teste prévio, no dia da punção de óvulos. As pacientes de FIV-DO tiveram o cateter

testado antes do início do preparo endometrial. Em ambos os casos foi dada a preferência aos cateteres de Frydman 5,5 cm, seguido do Frydman 4,5 cm com duplo lúmen, e, finalmente pelo cateter de Frydman 4,5 cm com guia. Os cateteres são constituídos de material semelhante, mas diferem quanto à maleabilidade. O cateter Frydman 5,5 cm é maleável, enquanto o Frydman 4,5cm com duplo lúmen, mais rígido. O cateter Frydman 4,5 cm com guia possui um primeiro instrumento de material rígido, usado para ultrapassar o canal cervical. Quando chega ao orifício interno do canal, um outro cateter mais maleável, carregado com os embriões, é introduzido através dele, entrando na cavidade uterina.

Os cateteres foram carregados com 3 gotas de meio de cultura EARLE'S, Balanced Salt Solution (Sigma) enriquecido com piruvato e substituto de soro sintético (Vitrolife), cada uma com cerca de 30 µl, e separadas com bolha de ar de cerca de 5 µl. Na gota do meio foram colocados os embriões. Foi acoplada ao cateter uma seringa de 1 ml, com cerca de 0,1 ml de ar.

6.4- Preparo da paciente

As pacientes permaneceram em posição de litotomia, com a bexiga repleta (para retificação do corpo uterino). Em seguida, foi colocado espécuro vaginal para visualização do colo uterino e realização de limpeza vaginal (com soro fisiológico a 0,9% e gaze) para retirada de muco.

A montagem do cateter só teve início após o término do preparo da paciente. Nas transferências com cateter de FRYDMAN 4,5 cm com guia, a paciente foi preparada, o guia introduzido e, só então, o cateter maleável foi montado.

6.5- Transferência dos embriões para a cavidade uterina

O cateter carregado foi introduzido pelo orifício externo do colo uterino, com acompanhamento por ultra-sonografia pélvica (GE Logic 200 Pró-série, com transdutor de 5 MHz). Quando o cateter chegava ao terço superior do útero (até 2,0 cm do fundo uterino), o êmbolo era empurrado fazendo com que o meio de cultura com os embriões fosse depositado na cavidade uterina. O cateter era então imediatamente retirado com o êmbolo pressionado e entregue ao embriologista. As pacientes permaneceram em repouso por cerca de 20 minutos após o procedimento.

6.6- Revisão do cateter

Após a retirada do cateter, o embriologista lavava o mesmo com meio de cultura e o examinava ao microscópio para avaliar a presença de sangue ou de embriões retidos. Os embriões retidos foram imediatamente recolocados no cateter e novamente transferidos para a cavidade uterina, usando a mesma técnica descrita anteriormente.

6.7- Avaliação do procedimento

Após a transferência o clínico, o embriologista e o ultra-sonografista responsáveis pelo procedimento realizavam em conjunto a avaliação deste e

faziam anotações no prontuário. Foram escolhidas algumas variáveis para serem estudadas neste trabalho.

6.7.1- Tempo de duração do procedimento

Tempo desde o início da montagem do cateter até o término do procedimento, ou seja, retirada do cateter da cavidade uterina. Esta variável foi coletada de forma categorizada: tempo menor que 5 minutos e maior que 5 minutos.

6.7.2- Posição dos embriões na cavidade uterina

A posição dos embriões na cavidade uterina foi definida como o local onde se visualizou a gota de ar lançadas na cavidade, juntamente com o meio de cultura e os embriões. Foi medida a distancia entre o fundo uterino (incluído a parede uterina) e a bolha de ar.

Para efeito de estudo, a cavidade uterina foi dividida em terços superior, médio e inferior, utilizando os parâmetros a seguir: consideramos o terço superior da cavidade uterina a porção até 2 cm do fundo uterino; terço médio, entre 2 e 3 cm do fundo, e inferior, mais de 3 cm do fundo.

6.7.3- Troca de cateter

Quando houve necessidade de troca de cateter, devido à dificuldade de introdução do mesmo durante o procedimento.

6.7.4- Presença de sangue no cateter

Checagem feita pelo embriologista após a TE. Considerados apenas os casos onde o sangue estava presente na luz do cateter após o procedimento. A presença de sangue externamente não foi considerada.

6.7.5- Persistência de embriões no cateter

Checagem feita pelo embriologista após a TE. Considerados os casos onde um ou mais embriões persistiam no cateter após a TE, sendo necessária à repetição do procedimento. Nestes casos, as duas etapas da transferência serão analisadas como um procedimento único.

6.7.6- Toque do cateter no fundo uterino

O toque da ponta do cateter no fundo uterino é observado através da USG durante a introdução do cateter. Foram considerados apenas os casos onde houve concordância entre clínico e ultra-sonografista.

7- Suporte de fase lútea

Todas as pacientes foram mantidas com Progesterona gel via vaginal na dose de 90 mg/dia como suporte de fase lútea. A progesterona foi iniciada no dia da ICSI e mantida até o dia do teste de gravidez. Nos casos com teste positivo, a progesterona foi mantida até a nona semana de gestação. Pacientes submetidas à FIV-DO também mantiveram o uso do valerato de estradiol na dose de 6mg/dia (2mg de 8/8h) até o teste de gravidez e, quando a gravidez se confirmava, até a nona semana de gestação.

8- Avaliação da gravidez

8.1- β hcg sérico

O teste de gravidez sanguíneo (β hCG quantitativo) foi realizado 12 dias após a transferência embrionária. O teste foi considerado positivo quando maior ou igual a 25UI, e negativo quando menor que 25UI .

8.2- Ultra-sonografia

Pacientes com resultado positivo foram submetidas à ultra-sonografia cerca de 20 dias após a TE (entre a 4ª e a 5ª semana de gestação) com o objetivo de identificar o(s) saco(s) gestacional (ais), e cerca de 27 dias após a TE (entre a 5ª e a 6ª semana de gestação), para visualizar o(s) embrião(ões) com batimentos cardíacos.

8.3- Desfechos analisados

A partir destes dois exames o desfecho da gestação foi classificado da seguinte forma:

Gravidez clínica: presença de embrião com batimento cardíaco em ultra-sonografia realizada na 6ª semana de evolução.

Gravidez Bioquímica: teste de gravidez positivo, porém sem imagem ultra-sonográfica de saco gestacional nos exames ultra-sonográficos até a 6ª semana de evolução.

Abortamento: Teste de gravidez positivo, primeira ultra-sonografia apresentando saco gestacional tópico, porém, segunda ultra-sonografia não

evidenciando embrião ou presença de embrião sem batimento cardíaco 6ª semana de evolução.

Nos casos de gestação bioquímica ou abortamento, o exame de imagem foi repetido com intervalo de até 15 dias para confirmar o diagnóstico.

Taxa de implantação: relação entre o número de embriões transferidos e número de sacos gestacionais.

Casos classificados como gestações clínicas até a 6ª semana de evolução foram encaminhados para acompanhamento pré-natal após o segundo exame de ultra-sonografia, com a orientação de manter a medicação em uso até a nona semana de gestação. Os casos de gestação bioquímica e abortamento foram acompanhados pela equipe médica da clínica ORIGEN até sua completa resolução.

9- Coleta e análise dos dados

Os dados obtidos de prontuários da clínica ORIGEN, Rio de Janeiro, referentes à procedimentos realizados no período de Julho de 2002 a Dezembro de 2005, foram coletados através de questionário contemplando as variáveis estudadas (apêndice 1).

Considerando uma taxa de sucesso de 40% e um erro de 5% serão precisos pelo menos 550 ciclos de fertilização para obtermos uma estimativa com nível de confiança de 95% (nível de significância com $p < 0,05$) e um poder de 80%.

As variáveis contínuas foram analisadas usando teste T de student e ANOVA, e as categóricas através de qui-quadrado e teste exato de Fisher. Como a idade interfere diretamente nos resultados dos ciclos de FIV, para a seleção do

melhor ponto de corte para idade foi utilizada uma curva ROC. As pacientes submetidas a FIV-DO foram incluídas, para efeito de análise, na grupo de pacientes com menos de 35 anos, pois neste caso foi considerada a idade da doadora.

10- Considerações éticas

Este estudo foi submetido ao comitê de ética do Instituto Fernandes Figueira e aprovado sem restrições (anexo 2).

CAPÍTULO 5 – RESULTADOS

Foram analisados 552 ciclos de fertilização in vitro (FIV) com transferência embrionária (TE) realizados na clínica ORIGEN, Centro de Medicina Reprodutiva no Rio de Janeiro, de Março de 2002 a Novembro de 2005.

A análise dos desfechos do tratamento foi realizada segundo os resultados do teste de gravidez sanguíneo (β hCG) e do exame de ultra-sonografia (USG). A partir destas avaliações os resultados foram classificados como: presença ou ausência de gestação, gestação bioquímica, gestação clínica e abortamento, e calculadas as respectivas taxas. A distribuição destes diagnósticos neste estudo foi: 312 (56,5%) dos exames β hCG foram negativos, ou seja, ausência de gestação. Os resultados do β hCG foram positivos em 240 (43,5%) ciclos, sendo que, 168 foram classificadas como gestação clínica, com embrião viável na sexta semana de evolução, correspondendo a 30,4% do total. Foram classificadas como gestação bioquímica 58 pacientes, correspondendo a 10,5% do total e 16 como abortamento antes da sexta semana de evolução, correspondendo a 2,9% do total de ciclos (gráfico 3). No grupo estudado foram diagnosticados 6 (1,0%) casos de gestação ectópica. A taxa de gestação gemelar foi de 27,5% e trigemelar foi de 4,7%. Não houve nenhum caso de gestação quadrigemelar no grupo estudado.

Os 552 ciclos de tratamento estudados se distribuíram da seguinte forma: 455 (82,4%) foram casos de fertilização in vitro com óvulos próprios (OP) e 97 (17,6%) casos de fertilização in vitro com doação de óvulos (DO). O tipo de tratamento realizado não parece ter influenciado no resultado, uma vez que

pacientes submetidas à FIV com óvulos próprios apresentaram resultado positivo em 42,9% (195) dos casos e as submetidas à FIV com doação de óvulos apresentaram 46,4% (45) ($p = 0,52$). A taxa de implantação para cada tipo de tratamento foi de, respectivamente, 34% e 30%, diferença que também não se mostrou significativa ($p = 0,35$). As taxas de abortamento, gestação bioquímica e gestação clínica variaram de acordo com o gráfico 4, para os dois tipos de tratamento, não apresentando diferenças estatisticamente significativas.

Gráfico 3 – Frequência da evolução das gestações

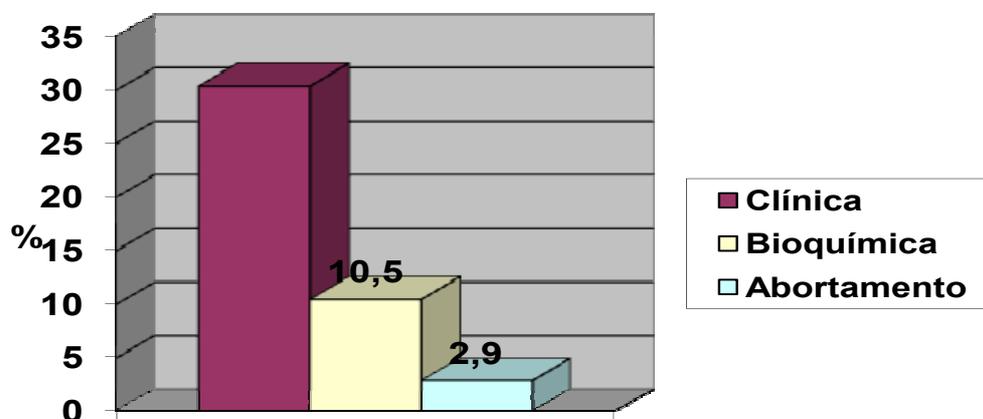
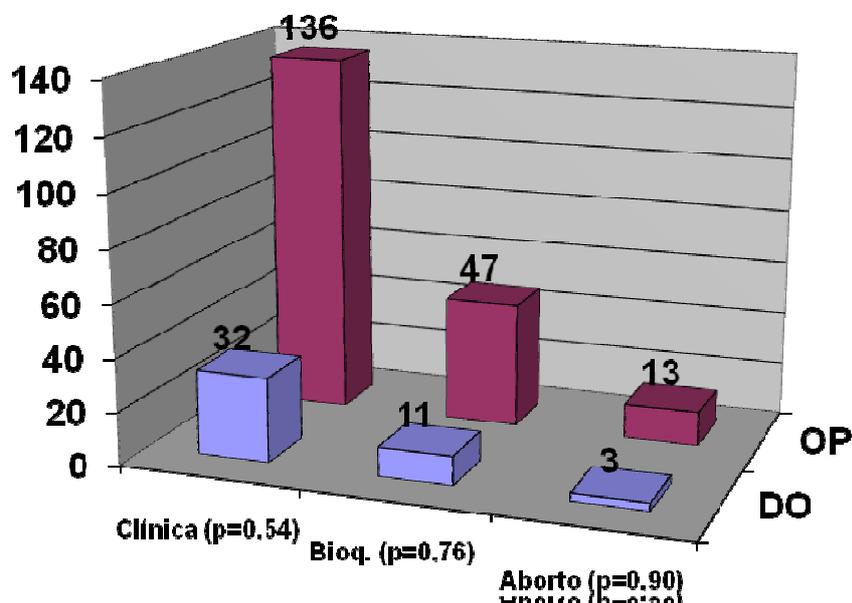


Gráfico 4 – Frequência da evolução da gestação segundo o tipo de tratamento

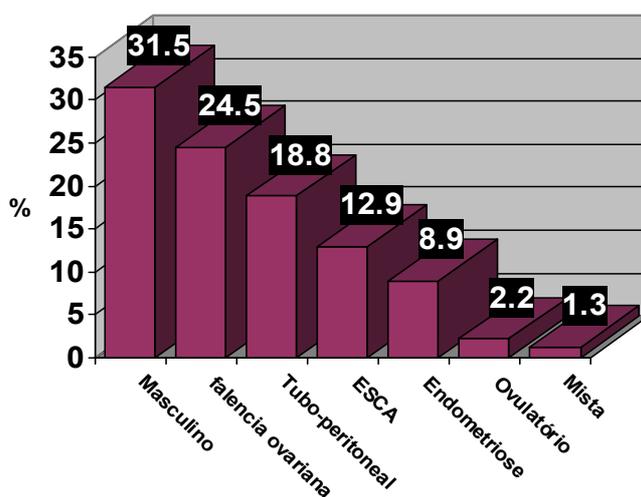


As causas de infertilidade estão distribuídas da seguinte forma na população estudada: 174 (31,5%) pacientes recorreram ao tratamento devido à infertilidade masculina (incluindo 1 caso de HIV, onde o casal apresentava soro discordância). Os casos de infertilidade de origem feminina apresentam diversos diagnósticos: 135 (24,5%) casos de falência ovariana (incluindo menopausa, menopausa precoce e baixa reserva ovariana), 104 (18,8%) de alterações tubo-peritoniais, 49 (8,9%) de endometriose e 12 (2,2) casos de fator ovulatório isolado. Em 7 (1,3%) casais foi identificada infertilidade mista, ou seja, de origem masculina e feminina, e em 71 (12,9%) casos não foi possível identificar a causa da infertilidade, classificando-a como esterilidade sem causa aparente (ESCA) (gráfico 5). Não foi evidenciada diferença estatisticamente significativa entre as diversas causas de infertilidade em relação às taxas de gravidez (tabela 1).

Tabela 1: Resultado do exame de β hCG segundo a causa da infertilidade.

CAUSA DA INFERTILIDADE	RESULTADO DO β hCG		TOTAL
	NEGATIVO	POSITIVO	
Endometriose	24 (49,0%)	25 (51,0%)	49 (100,0%)
ESCA	45 (63,4%)	26 (36,6%)	71 (100,0%)
Falência ovariana	86 (63,7%)	49 (36,3%)	135 (100,0%)
Masculino	88 (50,5%)	86 (49,4%)	174 (100,0%)
Misto	2 (28,6%)	5 (71,4%)	7 (100,0%)
Ovariano	6 (50,0%)	6 (50,0%)	12 (100,0%)
Tubo-peritonal	61 (58,7%)	43 (41,3%)	104 (100,0%)
TOTAL	312 (56,5%)	240 (43,5%)	552 (100,0%)

Gráfico 5 – Frequência das causas de infertilidade na população estudada



A idade das pacientes variou de 21 a 50 anos. Acima de 45 anos todos os casos foram de FIV com doação de óvulos. Em tratamentos com doação de

óvulos, a idade da doadora foi sempre menor de 35 anos. Portanto pacientes que foram submetidas a FIV-DO foram consideradas com idade menor de 35 anos, para efeito de cálculo. Houve associação da idade com ocorrência de gestação diagnosticada pelo exame de β hCG. No grupo onde o β hCG foi positivo a média da idade foi de $35,8 \pm 5,5$ anos e no grupo com resultado negativo foi de $36,8 \pm 5,2$ anos ($p = 0,024$). A análise da curva ROC mostrou que a idade de 37 anos é o ponto de corte a partir do qual podemos otimizar os resultados. A partir deste ponto encontramos o seguinte resultado: das pacientes com menos de 37 anos, 145 (48%) apresentaram β hCG positivo, enquanto nas pacientes com mais de 37 anos, 95 (38%) tiveram o exame positivo ($p=0,018$). Também houve diferença significativa nas taxas de gestação clínica e gestação bioquímica. Assim pacientes com mais de 37 anos tem um maior risco de ter uma gestação bioquímica, e pacientes com menos de 37 anos tem uma maior probabilidade de apresentar uma gestação clínica ou evolutiva. A taxa de abortamento não apresentou associação com a idade em nossos resultados (tabela 2).

Tabela 2: Taxa de gestação clínica, bioquímica e abortamento segundo a idade da paciente.

IDADE	GEST. CLÍNICA*	GEST. BIOQUIMICA**	ABORTAMENTO***
<37anos	113 (37,4%)	24 (7,9%)	8 (2,6%)
≥37anos	55 (22,0%)	34 (13,6%)	8 (3,2%)

* $p = < 0,001$

** $p = 0,03$

*** $p = 0,71$

A análise da qualidade embrionária foi realizada dividindo as pacientes em dois grupos. No primeiro grupo, definido como de bom prognóstico, estavam as pacientes que tiveram dois ou mais embriões de 2 a 4 células grau I para transferência. No segundo grupo, definido como de prognóstico regular, pacientes que tiveram apenas 1 embrião de 2 a 4 células grau I ou 2 embriões de 2 a 4 células grau II. Na população estudada, 427 (77,4%) das pacientes apresentavam embriões de bom prognóstico e 125 (22,6%), embriões de prognóstico regular. A média da idade das pacientes foi de $36,3 \pm 5,4$ anos para embriões de bom prognóstico e $36,6 \pm 5,3$ anos para aquelas com embriões de prognóstico regular ($p = 0,50$).

Como esperado, pacientes com embriões de bom prognóstico apresentaram β hCG positivo em 47,5% (203) dos casos, enquanto que pacientes com embriões de prognóstico regular apresentaram β hCG positivo em apenas 29,6% (37) dos casos ($p = 0,0004$). Porém a diferença entre a taxa de implantação não foi significativa, com média de 34% para embriões de bom prognóstico e 29% para embriões de prognóstico regular ($p = 0,25$) (tabela 3). A taxa de gravidez clínica apresentou associação com a qualidade embrionária ($p < 0,001$), o que não ocorreu com as taxas de gravidez bioquímica ($p = 0,29$) e abortamento ($p = 0,70$) (gráfico 6).

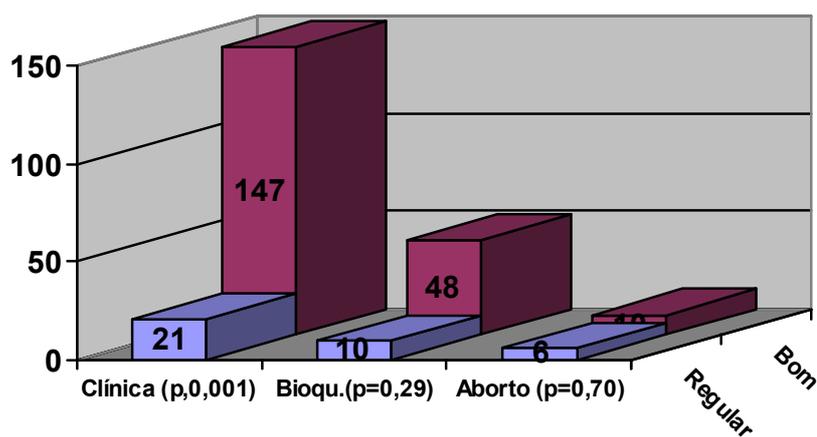
Tabela 3: Resultado do exame de β hCG e taxa de implantação segundo a qualidade embrionária

QUALIDADE EMBRIONÁRIA	BhCG POSITIVO*	TX DE IMPLANTAÇÃO** % (IC 95%)
BOM	203 (47,5%)	34 (30- 37)
REGULAR	37 (29,6%)	29 (28 -30)
TOTAL	240 (43,5%)	34 (30-37)

* $p = 0,0004$

** $p = 0,25$

Gráfico 6 – Frequência da evolução da gestação segundo a qualidade embrionária



O número de embriões transferidos em cada paciente variou de dois a quatro. Dos 552 casos analisados, 71 (12,9%) tiveram apenas dois embriões transferidos; 128 (23,4%) tiveram três embriões e 352 (63,8%) quatro embriões transferidos.

Houve associação entre o número de embriões transferidos e a taxa de implantação, mostrando que a transferência de dois embriões apresenta uma taxa de implantação maior que a transferência de 3 ou 4 embriões ($p=0,001$).

Há, também, um aumento crescente da taxa de gravidez relacionada ao aumento do número de embriões transferidos ($p<0,001$), assim como das taxas de gestação clínica ($p=0,008$). As taxas de abortamento e gestação bioquímica não apresentaram diferença estatisticamente significativa, quando relacionadas ao número de embriões transferidos (tabela 4)..

Tabela 4: Desfechos do tratamento segundo o número de embriões transferidos

Nº. EMBRIÕES	BhCG +*	GESTAÇÃO CLÍNICA**	GESTAÇÃO BIOQUÍMICA	ABORTAMENTO	TAXA DE IMPLANT. *** % (IC 95%)
2	17 (23,9%)	14 (8,3%)	3 (5,2%)	0 (0%)	56 (38 – 74)
3	46 (35,7%)	31 (18,5%)	10 (17,2%)	6 (4,7%)	37 (29 – 45)
4	177 (50,3%)	123 (73,2%)	45 (77,6%)	10 (20,8%)	31 (27 – 34)
<i>TOTAL</i>	240 (100%)	168 (100%)	58 (100%)	16 (100%)	34 (30 – 37)

* $p= <0,001$

** $p= 0,008$

*** $p= 0,001$

Para avaliar a associação das variáveis com a ocorrência ou não de gestação por β HCG: idade da paciente, número dos embriões e qualidade embrionária ajustada, utilizamos uma regressão logística múltipla. O resultado encontrado foi que todas as variáveis se mantiveram associadas com significância estatística. Na tabela 5 observa-se o *odds ratio*, seu intervalo de confiança e o valor de p de cada associação com gestação (β HCG positivo). Desta forma é possível determinar que quanto maior o número de embriões implantados maior a possibilidade de gestação, isto também se aplica à qualidade do embrião. No caso da idade, ocorre o contrário, pacientes mais jovens tem uma maior chance de obter uma gestação.

Tabela 5: Associação entre idade, número de embriões transferidos e qualidade embrionária.

VARIÁVEL	OR (IC < 95)	P valor
Idade da paciente	0,96 (0,93 – 0,99)	0,035
Número de embriões	1,6 (1,3 – 2,2)	<0,001
Qualidade embrionária	1,7 (1,2 – 2,7)	0,019

Foram usados três tipos de cateter de transferência, de acordo com teste prévio (figura 1). Em 321 pacientes (58,2%) foi usado o cateter tipo Frydman 4,5cm (F), bastante maleável, em 108 (19,6%) foi usado o cateter Frydman 5,5cm com duplo lúmen (DL), mais rígido que o anterior e em 123 (22,3%) pacientes foi usado o cateter de Frydman 5,5cm com guia (G). O guia rígido ultrapassa o canal cervical e então o cateter com os embriões, de material maleável, é introduzido na cavidade uterina.

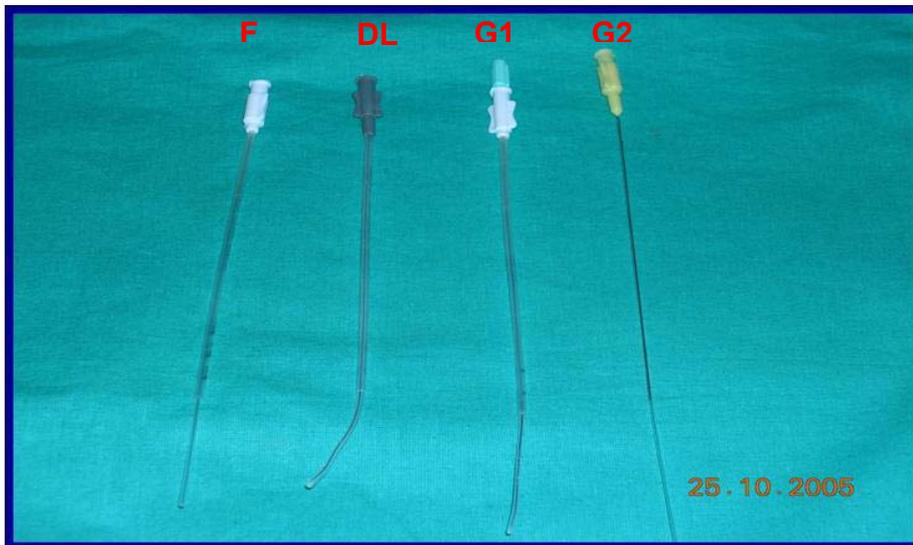


Figura 1 - Cateteres usados durante a transferência embrionária: (F) Frydman 5,5 cm; (DL) Frydman 4,5 com duplo lúmen; (G1 e G2) Frydman 4,5 cm com guia. Os embriões são carregados no cateter (G2) que passa através do guia (G1), previamente introduzido no colo uterino.

O tipo de cateter não parece interferir nas taxas de gravidez e implantação no grupo estudado (tabela 6), porém foi encontrada uma maior incidência de sangramento nos casos onde o cateter de Frydman 4,5 com guia foi utilizado (tabela 7). Também não houve diferença nas taxas de gestação bioquímica, clínica e abortamento nos três tipos de cateteres usados (gráfico 7).

Tabela 6: Resultado do exame de β hCG e taxa de implantação segundo tipo de cateter utilizado

TIPO DE CATETER	BhCG POSITIVO*	TAXA DE IMPLANTAÇÃO** % (IC95%)
Frydman	139 (43,3%)	34 (29 – 38)
Frydman com duplo lúmen	42 (38,9%)	34 (25 – 40)
Frydman com guia	59 (48,0%)	33 (26 – 41)
TOTAL	240 (43,5%)	34 (30 – 37)

*p = 0,37

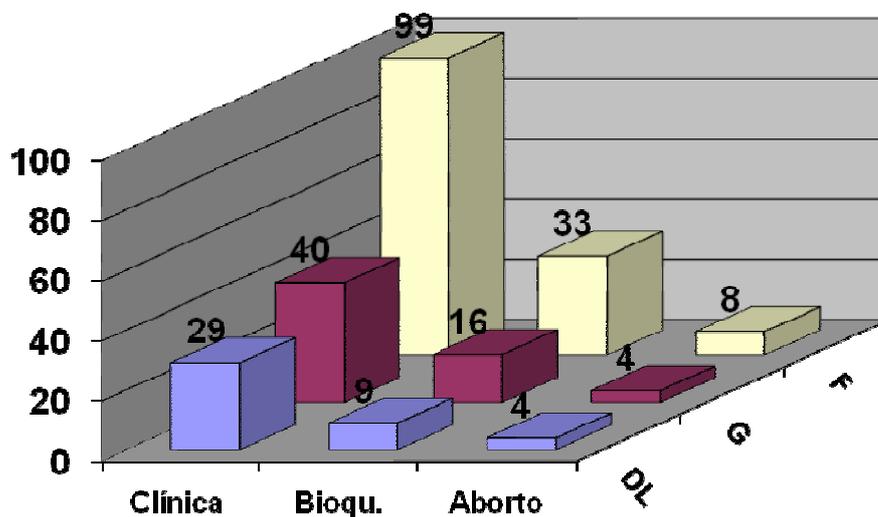
** P = 0,96

Tabela 7: Presença de sangue segundo tipo de cateter utilizado

TIPO DE CATETER	SANGUE NO CATETER*		TOTAL
	AUSENTE	PRESENTE	
Frydman	309 (96,2%)	12 (3,8%)	321 (100,0%)
Frydman com duplo lúmen	96 (88,9%)	12 (11,1%)	108 (100,0%)
Frydman com guia	100 (81,3%)	23 (18,7%)	123 (100,0%)
TOTAL	505 (91,5%)	47(8,5%)	552 (100,0%)

* p < 0,001

Gráfico 7 – Frequência da evolução da gestação segundo o tipo de cateter utilizado



A técnica de TE foi avaliada a partir de seis variáveis: O tempo de duração do procedimento, a posição do embrião na cavidade uterina, a troca de cateter durante o procedimento, o toque do cateter no fundo uterino, a persistência dos embriões e a presença de sangue no cateter ao final do procedimento.

O tempo de duração do procedimento foi dividido em duas categorias: até cinco minutos de duração e mais de cinco minutos. A maior parte dos procedimentos avaliados, em um total de 461 (83,5%), teve duração de até 5 minutos. Apenas 91 (16,5%) casos tiveram duração de mais de 5 minutos, o que não parece ter afetado as taxas de implantação ($p = 0,41$) e gravidez ($p = 0,69$) (tabela 8), assim como a evolução da gestação (gráfico 8).

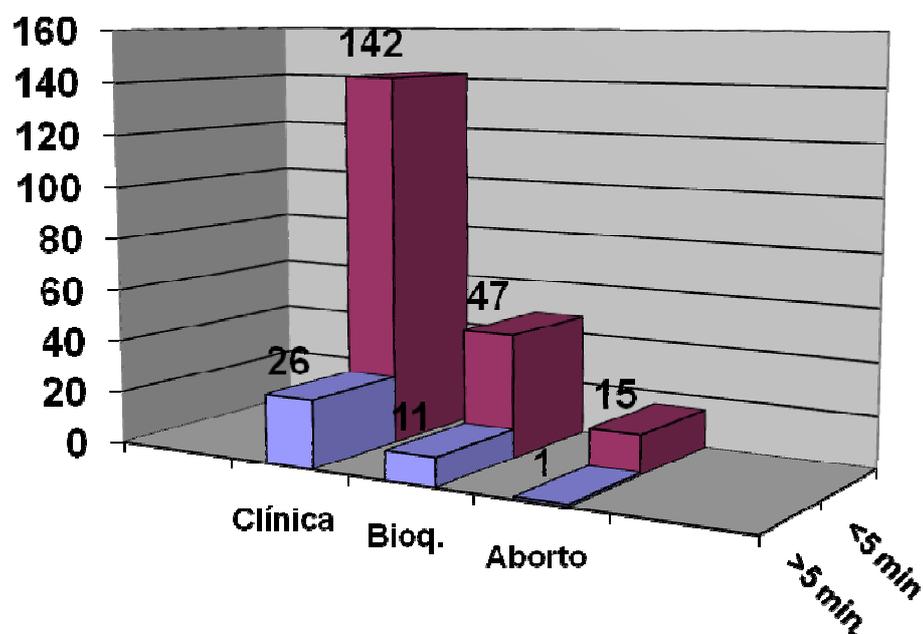
Tabela 8: Resultado do exame de β hCG segundo tempo de duração do procedimento

TEMPO	BhCG POSITIVO*	TX IMPL. ** % (IC95%)
Até 5 minutos	203 (44%)	34 (31 - 37)
Mais de 5 minutos	37 (40,7%)	30 (24 - 36)
TOTAL	240 (43,5%)	34 (31 – 37)

* p = 0,69

** p = 0,41

Gráfico 8 – Frequência da evolução da gestação segundo o tempo de duração do procedimento



Para avaliação da posição do embrião a cavidade uterina foi dividida em três porções: superior (S), média (M) e inferior (I), definidas previamente no capítulo 4, e exemplificadas nas figuras 3 e 4. O número de casos com embriões nestas localizações foi, respectivamente, 517 (93,7%), 24 (4,3%) e 11 (2,0%). A posição dos embriões na cavidade uterina, também parece não ter alterado as taxas de gestação ($p=0,29$) (tabela 9).

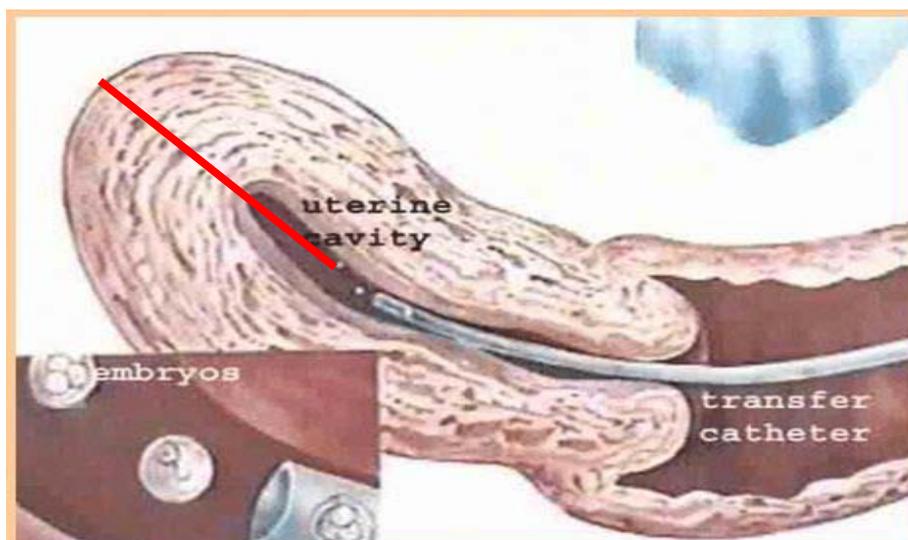


Figura 2 – Demonstração da medida para definir a posição dos embriões na cavidade uterina. (modificado de Malpani Ani, in How to have a baby: overcoming infertility.)

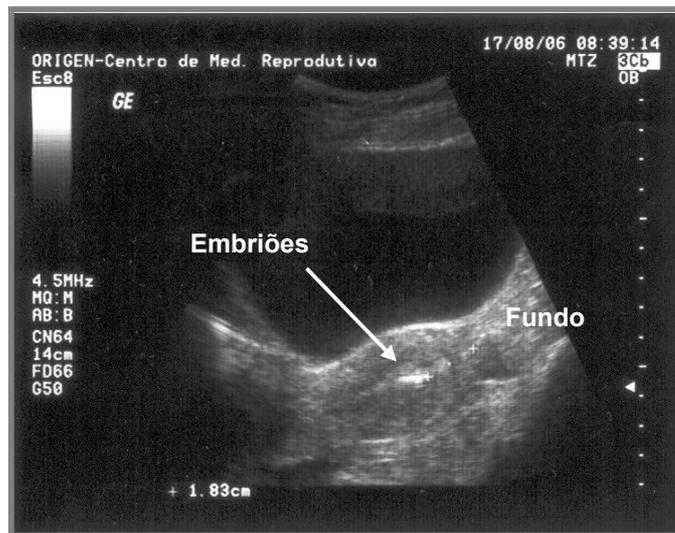


Figura 3: Embriões depositados a 1,83 cm do fundo uterino (porção superior) – Clínica ORIGEN

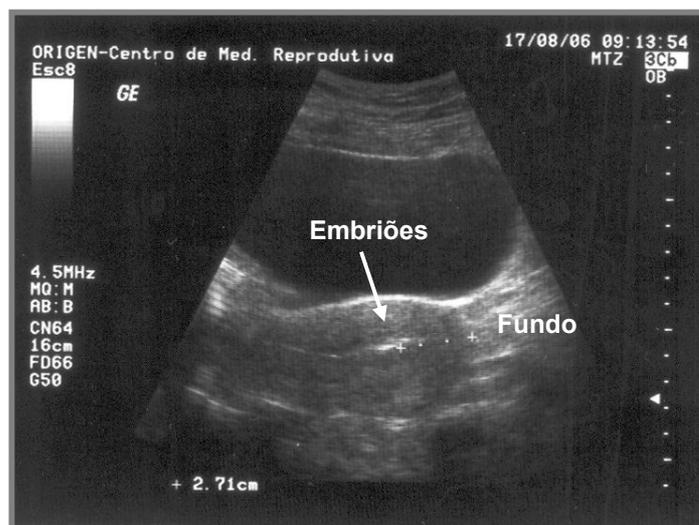


Figura 4: Embriões depositados a 2,71 cm do fundo uterino (porção média) – Clínica ORIGEN

Tabela 9: Resultado do exame de β hCG e taxa de implantação segundo posição dos embriões na cavidade uterina.

POSIÇÃO DOS EMBRIÕES	BhCG POSITIVO*	TX IMPL. ** % (IC95%)
Porção inferior	4 (36,4%)	40 (16 - 66)
Porção média	7 (29,2%)	24 (14 - 34)
Porção superior	229 (44,3%)	34 (31 – 37)
TOTAL	240 (43,5%)	34 (31 – 37)

* $p = 0,29$

** $p = 0,58$

A incidência das intercorrências está representada no gráfico 9

A troca do cateter de transferência foi necessária em 39 (7,1%) casos. Destes, 17 tiveram resultado do exame de β hCG positivo e 22, negativo.; o que não foi estatisticamente significativo ($p= 0,98$) (tabela 10). A taxa de implantação também não apresentou diferença significativa, sendo 36%, nos casos onde houve troca, contra 33% nos casos em que esta não foi necessária (tabela 12). As taxas de gestação bioquímica, clínica e de abortamento não apresentaram associação com a troca de cateter (tabela 11). Houve presença de sangue em apenas 6 (15,4%) casos de troca de cateter, o que não se mostrou uma associação importante ($p=0,11$) (tabela 13).

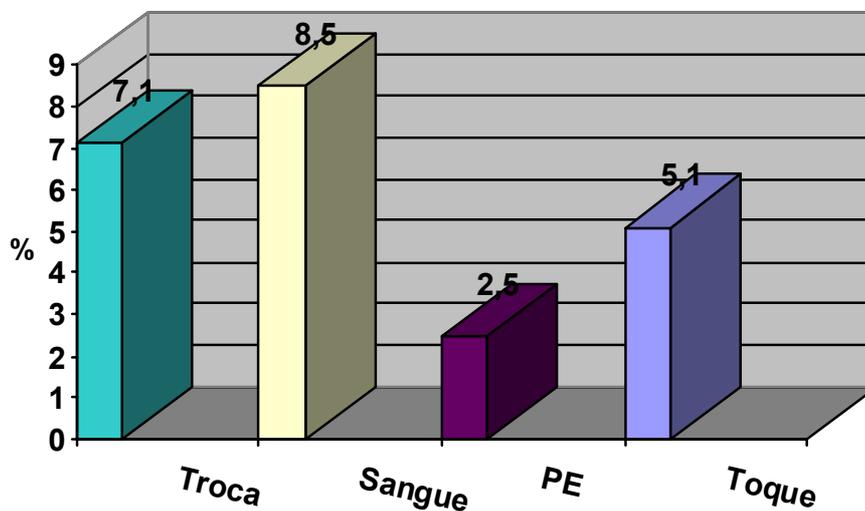
O toque no fundo uterino ocorreu em 28 (5,1%) casos, destes 4 (14,3%) apresentaram também sangue no interior do cateter (tabela 13). Do total de casos, 17 tiveram resultado negativo e 11, positivo ($p= 0,64$) (tabela 10). Quando houve

toque a taxa de implantação foi de 18% , e, nos casos onde este não ocorreu foi de 34% ($p= 0,06$) (tabela 12). Não houve associação das taxas de gestação bioquímica, abortamento ou gestação clínica com a ocorrência de toque no FU (tabela 11).

A persistência dos embriões (PE) no cateter foi verificada em 14(2,5%) pacientes, 5 com resultado positivo e 9, negativo ($p= 0,55$) (tabela 10). Nestes casos o cateter foi novamente montado e o procedimento repetido. Não houve nova persistência, com necessidade de um terceiro procedimento, em nenhum destes casos. A taxa de implantação nos ciclos com PE foi de 27% contra 34 % nos ciclos onde esta não ocorreu ($p= 0,56$) (tabela 12) e não houve diferença nas taxas de abortamento, gestação bioquímica ou gestação clínica. (tabela 11) . Em apenas 1 caso houve associação entre PE e presença de sangue no cateter, o que não se mostrou significativo ($p=0,55$) (tabela 13). Também não houve associação do número de embriões transferidos com a PE (tabela 14).

Em 47 (8,5%) casos foi encontrada a presença de sangue na luz do cateter pelo embriologista, 29 com resultado negativo e 18, positivo ($p=0,45$) (tabela 10). A presença do sangue não alterou significativamente a taxa de implantação, que foi de 35% , contra 33% quando estava ausente (tabela 12). Também não houve alteração nas taxas de gestação clínica, abortamento ou gestação bioquímica (tabela 11). A relação da presença de sangue com outras variáveis já foi descrita anteriormente.

Gráfico 9 – Frequência das intercorrências durante a TE

Tabela 10: Resultado do exame de β hCG segundo a presença de intercorrências durante a transferência embrionária

INTERCORRENCIAS		BhCG POSITIVO	<i>P</i> valor
Troca de cateter	NÃO	223 (43,5%)	0,98
	SIM	17 (43,6%)	
Toque no fundo	NÃO	229 (43,7%)	0,64
	SIM	11 (39,3%)	
Embriões persistentes	NÃO	235 (43,7%)	0,55
	SIM	5 (35,7%)	
Sangue no cateter	NÃO	222 (44,0%)	0,45
	SIM	18 (38,3%)	

Tabela 11: Taxas de gravidez bioquímica, clínica e de abortamento relacionadas às intercorrências durante a transferência embrionária.

INTERCORRENCIAS		TX BIOQ. (%)	p valor	TX CLINICA (%)	p valor	TX ABORT (%)	p valor
Troca de cateter	NÃO	10,5	1,0	30,2	0,68	2,9	1,0
	SIM	10,3		33,3		2,6	
Toque no fundo	NÃO	9,9	0,10	31,1	0,13	16	1,0
	SIM	21,4		17,9		NH	
Embriões persistentes	NÃO	10,4	0,44	30,7	0,56	3,0	1,0
	SIM	14,3		21,4		NH	
Sangue no cateter	NÃO	10,9	0,45	30,3	0,81	3,0	1,0
	SIM	6,4		31,9		2,1	
TOTAL		10,5	–	30,4	–	2,9	–

NH – Não houve

Tabela 12: Taxas de implantação da intercorrências

INTERCORRENCIAS	TAXA DE IMPLANTAÇÃO % (IC 95%)	P valor
Troca de cateter	36 (29 – 43)	0,72
Toque no fundo	18 (13 – 23)	0,06
Embriões persistentes	27 (22 – 33)	0,56
Sangue no cateter	35 (29 – 41)	0,84

Tabela 13: Presença de sangue x outras variáveis

INTERCORRENCIAS		PRESEÇA DE SANGUE	<i>P valor</i>
Troca de cateter	NÃO	41	0,11
	SIM	6	
Toque no fundo	NÃO	43	0,26
	SIM	4	
Embriões persistentes	NÃO	46	0,85
	SIM	1	

Tabela 14: Persistência dos embriões segundo o número de embriões transferidos.

NÚMERO DE EMBRIÕES TRANSFERIDOS	PERSISTENCIA DOS EMBRIÕES*		TOTAL
	NEGATIVO	POSITIVO	
2	69	2	71
3	122	7	129
4	347	5	352
TOTAL	538	14	552

* NS

CAPÍTULO 6 – DISCUSSÃO

As taxas de gestação e gestação clínica encontradas neste estudo estão de acordo com às de outros centros da América Latina (Redlara, S/D). As taxas de implantação estão aumentadas se comparadas às taxas encontradas nestes centros. Este fato provavelmente se deve ao fato de ser uma população selecionada quanto ao número de embriões transferidos e quanto à qualidade embrionária e pode também ser explicado pelas taxas elevadas de gestação múltipla.

As gestações ectópicas foram incluídas, para efeito de análise, no grupo de abortamentos, por representarem um número muito pequeno de casos.

Os casais que participaram deste estudo foram classificados, segundo a causa da infertilidade conjugal, em um dos seguintes grupos: masculina, ovariana, tubo-peritonal, endometriose, mista e esterilidade sem causa aparente. Esta classificação foi feita a partir de exames diagnósticos realizados previamente ao início do tratamento. As causas de infertilidade representadas no nosso trabalho não interferiram de forma direta no resultado do tratamento, o que está de acordo com estudos da literatura específica (Templeton *et al*, 1996; Crosignani *et al*, 2000). Provavelmente a causa da infertilidade interfere na qualidade dos gametas e conseqüentemente na qualidade embrionária. Como esta foi controlada neste estudo, não houve diferença nas taxas de implantação, gravidez, e evolução da gravidez nos diversos grupos.

O tipo de tratamento realizado, FIV com óvulos próprios ou FIV com óvulos doados, foi definido a partir da causa da infertilidade, idade da paciente e

resultado em tratamentos anteriores. As taxas de implantação e gravidez não apresentaram diferença significativa em relação ao tipo de tratamento. A evolução da gravidez, ou seja, as taxas de gravidez clínica, bioquímica ou abortamento, também não sofreram influência do tipo de tratamento, o que está de acordo com os resultados de outros centros especializados em reprodução assistida (RA) (Redlara, S/D.).

A idade da mulher interfere de forma direta na sua fecundidade e, conseqüentemente, nos resultados dos ciclos de reprodução assistida. Esta interferência ocorre por diminuição do número e qualidade dos oócitos e pelo aumento da incidência de aneuploidias (ESHRE Capri Workshop Group, 2005). Em ciclos de FIV com óvulos próprios, até 35 anos encontramos uma taxa de gravidez próxima a 50 %, esta taxa diminui progressivamente dos 35 aos 44 anos e após os 45 anos não há relatos de gravidez com óvulos próprios (Jansen *et al*, 2003). Aumenta também, com a idade, a taxa de abortamento (te Velde & Pearson, 2002). Nossos dados confirmam a associação entre idade e resultados em FIV. A idade de 37 anos mostrou-se como ponto a partir do qual as taxas de gravidez, gravidez clínica e implantação diminuem, assim como as taxas de gestação bioquímica aumentam, o que está de acordo com a literatura específica.

A qualidade embrionária também é outro fator fundamental para determinar o prognóstico em ciclos de RA. Estudos mostram que a avaliação morfológica do embrião no 2º e 3º dias (Ebner *et al*, 2001 a; Tucker & Jansen, 2002), e principalmente o grau de fragmentação do citoplasma (Alikani *et al*, 1999), estão associados com as taxas de implantação e gravidez. Em nossos resultados houve associação entre a morfologia embrionária no dia da TE e taxa de gravidez e taxa

de gravidez clínica. Ciclos onde foram transferidos no mínimo dois embriões tipo I apresentaram taxas maiores se comparados a ciclos com transferência de apenas um embrião tipo I ou mais de 2 embriões tipo II. As taxas de implantação, gestação bioquímica e abortamento, no entanto, não sofreram interferência da qualidade embrionária. Assim, embriões de melhor qualidade têm uma probabilidade 1,6 vezes maior de resultar em gravidez e uma chance maior de ter uma gravidez evolutiva, mas não interferem na taxa de implantação ou na probabilidade de perdas gestacionais precoces.

A idade não parece ter interferido na qualidade embrionária quando consideramos apenas embriões tipo I ou II. Estes dados mostram que, quando avaliamos apenas embriões tipo I e II, a interferência da idade nas taxas de gravidez pode estar relacionada à receptividade uterina ou a presença de aneuploidias e não à qualidade embrionária.

O número de embriões transferidos está associado à taxa de gravidez, gravidez clínica e gravidez bioquímica. A taxa de implantação em nosso estudo foi maior para as transferências de apenas dois embriões o que parece improvável. Percebemos a pouca precisão da estimativa para esta medida. Este resultado pode ser explicado pelo pequeno número de casos de transferência com dois embriões e provavelmente se aumentássemos o número de observações a taxa de implantação esperada seria menor que nas transferências de 3 e 4 embriões. As taxas de gravidez e de gravidez clínica, ao contrário, aumentam de acordo com o número de embriões transferidos confirmando dados da literatura específica.

Os cateteres maleáveis, em comparação com àqueles mais rígidos, parecem oferecer maiores taxas de gravidez (Wisanto *et al*, 1989; van Weering *et*

al, 2002; Abou-Setta *et al*, 2005; Buckett, 2006), principalmente se associados ao uso da ultra-sonografia (Wood *et al*, 2000), talvez por causarem traumatismos menores no endométrio (Lemgruber *et al*, 2002; Marconi *et al*, 2003). Não há diferença, nos resultados, entre os diversos tipos de cateteres maleáveis (Karande *et al*, 2002). Por outro lado, cateteres maleáveis estão mais associados a transferências consideradas difíceis, pois não ultrapassam as tortuosidades do colo uterino com a mesma facilidade que os cateteres rígidos (Wisanto *et al*, 1989). Em nosso estudo, a maior parte dos procedimentos, 58,2%, foi realizada com cateter de Frydman 4,5 cm, de material maleável. Em outros 22,3% dos casos utilizou-se o cateter com guia, no qual a parte que penetra na cavidade é de material bem maleável e o guia de material rígido, o suficiente para ultrapassar o canal cervical. Em apenas 19,3% dos casos, usou-se o cateter com duplo lúmen, mais rígido. Não encontramos, porém, diferença nas taxas de implantação e gravidez nos três tipos de cateter, apesar das transferências com cateter com guia apresentarem uma maior incidência de sangramento. Também não houve diferença na forma como a gestação evoluiu. As taxas de gestação clínica, gestação bioquímica e abortamento até a sexta semana foram semelhantes nos três tipos de cateter. Talvez, a escolha do cateter adequado para cada caso, evitando assim transferências difíceis e traumáticas seja um fator mais importante que o material do cateter.

A troca de cateter foi avaliada por Sallam e colaboradores (2003), como possível fator de redução do sucesso no tratamento. Apesar do cateter de transferência ter sido testado previamente, a troca foi necessária em 3,7% dos casos por dificuldade no momento da introdução no canal cervical ou na cavidade

uterina. A troca poderia causar lesão endometrial, uma vez que neste mesmo trabalho estava associada à presença de sangue no cateter em 69% dos casos. Devido a esta forte associação, fica a dúvida, neste trabalho, se a diminuição encontrada nas taxas de gravidez se deu por causa da presença de sangue ou simplesmente pela troca do cateter. Outro trabalho que cita a troca como intercorrência na TE, é o de Tomás e colaboradores (2002). Porém estes autores não analisaram as variáveis de forma independente. Classificaram como transferência difícil os casos onde houve troca de cateter, dilatação cervical, sangue em qualquer parte do cateter, procedimento de longa duração e dificuldade de introdução do cateter; e identificaram que houve diminuição nas taxas de gravidez. A incidência e a importância de cada variável no resultado não foram calculadas.

A incidência de troca de cateter em nosso estudo foi de 7,1%, sempre devido à dificuldade de introdução no canal cervical. Em todos os casos foi feita a troca de um instrumento mais maleável por um instrumento mais rígido. Apesar deste fato, não encontramos associação entre esta troca de cateter e a presença de sangue após a transferência. Em nosso trabalho, as trocas foram feitas assim que qualquer dificuldade na introdução do cateter foi percebida, evitando traumatizar colo e o endométrio. Talvez este fato explique a maior incidência de trocas, quando comparamos com os trabalhos anteriores, e a não associação com a presença de sangue. As taxas de implantação, gravidez e a evolução da gravidez não apresentaram associação com a troca de cateter em nosso estudo. Provavelmente, a introdução traumática do cateter e a grande manipulação do

colo, e não a troca em si, são os responsáveis pela diminuição das taxas de gravidez.

Para definir o local exato para a colocação dos embriões na TE dispomos de dois parâmetros: o toque no fundo do útero ou a visualização do FU através da USG abdominal. Alguns estudos comparando esses dois parâmetros mostram que o uso da USG aumenta as taxas de gravidez, muito provavelmente por evitar o toque no FU (Kan *et al*, 1999; Buckett *et al*, 2003). Este toque pode causar a liberação de ocitocina e, portanto a contração uterina. A contração no momento da TE pode diminuir o potencial de implantação dos embriões, ou mesmo, expulsá-los da cavidade uterina (Lesny *et al*, 1998; Bulletti & Ziegler, 2005). Embora todos os estudos sobre a TE preconizem evitar o toque no FU, não há trabalhos avaliando o toque acidental em procedimentos guiados por USG como fator prognóstico para o sucesso do tratamento.

Não encontramos diminuição nas taxas de implantação e gravidez nos casos de toque no fundo uterino e em apenas 14% dos casos havia presença de sangue no cateter, o que não foi significativo. A forma como a gravidez evoluiu também não foi alterada pelo toque no FU. Este resultado mostra que um toque acidental, visualizado à USG, talvez seja menos traumático que àquele resultante de uma transferência realizada às cegas, e por isso pode não interferir no resultado do tratamento.

A incidência de persistência de embriões (PE) na literatura específica varia de 13,4% em estudo mais antigo (Poindexter *et al*, 1986) a 3,2 – 3,9% em estudos mais recentes (Tur-Kaspa *et al*, 1998; Lee *et al*, 2004). A PE pode estar associada à presença de muco ou sangue no cateter ou ainda a dificuldade do

procedimento (Nabi *et al*, 1997). Visser e colaboradores em 1993 mostraram haver diminuição na taxa de gravidez quando havia PE, e sugerem que os embriões devem ser novamente transferidos no dia seguinte a primeira tentativa. Porém estes dados não foram confirmados por outros autores: Nabi e colaboradores (1997), Tur Kaspas e colaboradores (1998) e Lee e colaboradores (2004) não observaram alterações nas taxas de gravidez, implantação ou gravidez evolutiva nos casos de PE todos com recolocação imediata dos embriões na cavidade uterina. Nossos resultados confirmam esses dados, não mostrando diferença nas taxas de implantação, gestação, gestação bioquímica, gestação clínica ou abortamento em transferência onde houve PE no cateter com a realização de novo procedimento imediatamente após a checagem do cateter. O número de embriões e a presença de sangue no cateter não tiveram associação, em nossos resultados, com a PE.

A presença de sangue no cateter de transferência pode variar de 5,9% (Goudas *et al*, 1998) a 10% das transferências (Alvero *et al*, 2003; Sallam *et al*, 2003), e no nosso estudo esteve presente em 8,5% dos casos. O sangue pode significar lesão no canal cervical, lesão no endométrio ou toque no fundo do útero. Quando há dificuldade de introdução do cateter no canal cervical, pode haver lesão e conseqüentemente sangramento. A manipulação excessiva do colo nestes casos pode levar a liberação de ocitocina e contração uterina, que por sua vez pode expulsar os embriões da cavidade (Bulletti & Ziegler, 2005). Durante sua introdução na cavidade, o cateter pode causar um sulco no endométrio, lesando-o (Lemgruber *et al*, 2002). A lesão endometrial também pode estar associada à dificuldade de implantação. O sangue poderia ainda ser conseqüência do toque do

cateter no fundo uterino, o que também leva a contração uterina (Lesny *et al*, 1998).

Alguns autores acreditam que apenas o sangue na parte externa do cateter está associado a lesões endometriais e, portanto a diminuição das taxas de implantação e gravidez (Pasqualini & quintas, 2001; Levi-Setti *et al*, 2003). Outros acreditam que apenas o sangue na luz do cateter é significativo, podendo indicar uma diminuição das taxas de implantação (Goudas *et al*, 1998; Alvero *et al*, 2003; sallam *et al*, 2003). Há, ainda, quem não faça diferenciação, afirmando que externamente ou internamente, a presença de sangue é prejudicial para a implantação (Tomás *et al*, 2002). Avaliamos apenas a presença de sangue no interior do cateter e não encontramos associação com diminuição das taxas de implantação, gestação ou evolução desta. Como já foi discutido anteriormente, a presença de sangue apresenta associação com o tipo de cateter usado, embora este fato não tenha afetado as taxas de implantação e gravidez.

A posição ideal para colocação dos embriões na cavidade uterina ainda é controversa. Em ciclos naturais, normalmente os embriões implantam na porção superior da cavidade uterina, talvez pela proximidade das trompas onde são fecundados e onde iniciam seu desenvolvimento.

Em ciclos artificiais, 80% dos embriões implantam onde foram depositados (Baba *et al*, 2000). Portanto torna-se importante avaliar qual o local mais adequado para depositá-los no momento da TE. Apesar da porção superior da cavidade parecer o local mais fisiológico, alguns autores acreditam que a proximidade do cateter do fundo uterino, favorece o toque no fundo, estimulando contrações uterinas, e que a colocação nas porções média ou inferior do útero não

modificaria as taxas de gravidez (Pope *et al*, 2004, Franco *et al*, 2004). Alguns acreditam, inclusive, que a implantação seria favorecida com a TE para a porção inferior do útero (Frankfurter *et al*, 2004; Cavagna *et al*, 2006). Outros autores afirmam, ainda, que a colocação dos embriões muito próxima ao fundo, aumentaria as taxas de gestação ectópica (Yovich *et al* 1985).

Por outro lado, a colocação dos embriões muito distante do fundo, mais próxima do istmo, poderia ser desfavorável à implantação ou facilitar a expulsão dos embriões da cavidade uterina. Coroleu e colaboradores (2002) afirmam que quando os embriões são colocados a menos de 1,0 cm ou a mais de 2,0 cm do fundo, há uma diminuição nas taxas de implantação se compararmos com a colocação entre 1,0 e 2,0 cm do fundo. Nossos dados mostram que, embora a técnica usada seja a de preferencialmente colocar os embriões no fundo uterino, não houve alterações nas taxas de implantação, gestação ou evolução da gestação no grupo onde a colocação foi realizada na porção média ou inferior. Os embriões permaneceram nas porções média e inferior por dificuldade de introduzir o cateter até o fundo uterino ou por mobilização da gota após a colocação da mesma no fundo. A colocação, como rotina, dos embriões na porção superior do útero não levou a uma alta incidência de toques no fundo uterino, como afirmam alguns autores.

O tempo de duração da TE aparece como possível fator de interferência no sucesso da técnica em apenas um estudo. Tomás e colaboradores (2002) incluíram os procedimentos de longa duração no grupo de transferências difíceis, mas não avaliaram seu peso na diminuição das taxas de gravidez. Também não quantificaram este tempo ou mostraram sua associação com outras

intercorrências. Não fica claro, portanto se uma TE com longa duração realmente afetaria os resultados.

No nosso estudo o tempo de duração da TE foi dividido em dois grupos, até 5 minutos de duração e mais de 5 minutos de duração. Este tempo foi contado do início da montagem do cateter, quando os embriões saem da estufa, até a retirada do cateter da cavidade uterina. Procuramos avaliar, então, todo o tempo em que os embriões ficam expostos a condições desfavoráveis de ar, luz e temperatura, o que poderia interferir no seu desenvolvimento e capacidade de implantação. Em 16,5% dos nossos casos a TE durou mais de 5 minutos. Destes casos, 39 (42,9%) estavam associados à troca de cateter e 14 (15,4%) a persistência dos embriões. Os outros 38 (41,7%) foram associados a transferências difíceis. Como a longa duração do procedimento geralmente está associada a alguma outra dificuldade técnica fica difícil avaliar seu verdadeiro papel como fator prognóstico para a TE. Apesar disso, não encontramos associação do tempo de duração do procedimento com as taxas de implantação, gravidez, e evolução desta.

CONCLUSÃO

Nosso estudo demonstrou que o tempo de duração da transferência embrionária e a posição de colocação dos embriões na cavidade uterina, não apresentam interferência nas taxas de implantação, gravidez e evolução da gestação.

Intocorrências presentes durante a transferência embrionária, especificamente o toque no fundo uterino, a persistência de embriões no cateter, a troca de cateter e a presença de sangue no cateter não se mostraram de forma independente associadas aos resultados dos ciclos de FIV.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abou-Setta AM, Al-Inany HG, Mansour RT, Serour GI, Aboulghar MA. Soft versus firm embryo transfer catheters for assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2005; 20: 3114-21.

Alikani M, Cohen J, Tomkin G, Garrisi GJ, Mack C, Scott RT. Human embryo fragmentation in vitro and its implications for pregnancy and implantation. *Fertil Steril* 1999; 71: 836-42.

Alvero R, Hearn-Stokes RM, Catherino WH, Leondires MP, Segars JH. The presence of blood in the transfer catheter negatively influences outcome at embryo transfer. *Hum Reprod* 2003; 18: 1848-52.

Amarin ZO, Obeidat BR. Bed rest versus free mobilisation following embryo transfer: a prospective randomised study. *BJOG* 2004; 111: 1273-6.

Andersen AN, Gianaroli L, Felberbaum R, Mouzon J de, Nygren KG. Assisted reproductive technology in Europe, 2001. Results generated from European registers by ESHRE. *Hum. Reprod* 2005; 20:1158-76.

Baba K, Ishihara O, Hayashi N, Saltoh M, Taya J, Kinoshita K. Where does the embryo implant after embryo transfer in humans? *Fertil Steril* 2000; 73: 123-5.

Bar-Hava I, Kerner R, Yoeli R, Ashkenazi J, Shalev Y, Orvieto R. Immediate ambulation after embryo transfer: a prospective study. *Fertil Steril* 2005; 83: 594-7.

Bianchi JM, Martins APM. Fecundação e embriogênese. In: Chaves Netto, H. *Obstetrícia básica*. São Paulo: Atheneu; 2004. p.5-20.

Blake D, Proctor M, Johnson N, Olive D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception. *Cochrane Database Syst Rev* 2005 Oct 19;(4): CD002118.

Borini A, Lagalla C, Cattoli M, Sereni E, Sciajno R, Carlo Flamigni C, et al. Predictive factors for embryo implantation potential. *Reprod Biomed Online* 2005; 10: 653-8.

Bourgain C, Devroey P. The endometrium in stimulated cycles for IVF. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 515-22.

Buckett WM. A review and meta-analysis of prospective trials comparing different catheters used for embryo transfer. *Fertil Steril* 2006; 85: 728-34.

Buckett WM. A meta-analysis of ultrasound-guided versus clinical touch embryo transfer. *Fertil Steril* 2003; 80: 1037-41.

Bulletti C, Ziegler D. Uterine contractility and embryo implantation. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2005; 17: 265-76.

Burke LM, Davenport AT, Russel GB, Deaton JL. Predictors of success after embryo transfer: experience from a single provider. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 1001-4.

Callen PW. *Ultra-Sonografia em obstetrícia e ginecologia*. Tradução Cláudia Lúcia Caetano de Araújo, Revisão Técnica Jorge Rezende Filho. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996.

Cavagna M, Mendes-Pereira D, Cavagna F, Levi-Setti PE. Receptividade endometrial: o papel das citoquinas e fatores de crescimento. *J Bras Reprod Assist* 2006; 10: 29-33.

Choe JK, Nazari A, Check JH, Summers-Chase D, Swenson K. Marked improvement in clinical pregnancy rates following in vitro fertilization-embryo transfer seen when transfer technique and catheter were changed. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2001; 28:223-4.

Clarke GN. A.R.T. and history, 1678-1978. *Hum Reprod*. 2006; 21: 1645-50.

Coroleu B, Barri PN, Carreras O, Martinez F, Parriego M, Hereter L, et al. The influence of the depth of embryo replacement into the uterine cavity on implantation rates after IVF: a controlled, ultrasound-guided study. *Hum Reprod* 2002; 17: 341-6.

Crosignani PG, Rubin BL. Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. The ESHRE Capri Workshop Group. *Hum Reprod* 2000;15: 723-32.

Daya S, Gunby J. Luteal phase support in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005;(3): CD004830.

De Sutter P, Veldeman L, Kok P, Szymczak N, Van der Elst J, Dhont M. Comparison of outcome of pregnancy after intra-uterine insemination(IUI) and IVF. *Hum Reprod* 2005; 20: 1642-6.

Dechaud H, Anahory T, Reyftmann L, Loup V, Hamamah S, Hedon B. Obesity does not adversely affect results in patients who are undergoing in vitro fertilization and embryo transfer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006; 127: 88-93.

Devlieger R, D'Hooghe T, Timmerman D. Uterine adenomyosis in the infertility clinic. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 139-47.

Devroey P, Pados G. Preparation of endometrium for egg donation. *Hum Reprod* 1998; 4: 856-61.

Dietterich C, Check JH, Choe JK, Nazan A, Lurie D. Increased endometrial thickness on the day of human chorionic gonadotropin injection does not adversely affect pregnancy or implantation rates following in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2002; 77: 781-6.

Dorn C, Reinsberg J, Schlebusch H, Prietl G, van de Ven H, Krebs D. Serum oxytocin concentration during embryo transfer procedure. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999; 87: 77-80.

Ebner T, Moser M, Tews G. Is oocyte morphology prognostic of embryo development potential after ICSI? *Reprod Biomed Online* 2006; 12: 507-12.

Ebner T, Yaman C, Moser M, Sommergruber M, Poiz W, Tews G. Embryo fragmentation in vitro and its impact on treatment and pregnancy outcome. *Fertil Steril* 2001a; 76: 281-5.

Ebner T, Yaman C, Moser M, Sommergruber M, Polz W, Tews G. The ineffective loading process of the embryo transfer catheter alters implantation and pregnancy rates. *Fertil Steril* 2001b; 76: 630-2.

Edi-Osagie ECO, Seif MW, Aplin JD, Jones CJP, Wilson G, Lieberman BA. Characterizing the endometrium in unexplained and tubal factor infertility: a multiparametric investigation. *Fertil Steril* 2004; 82: 1379-89.

Edwards RG, Fishel SB, Cohen J, Fehilly CB, Purdy JM, Slater JM, et al. Factors influencing the success of in vitro fertilization for alleviating human infertility. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1984; 1: 3-23.

Egbase PE, al-Sharhan M, al-Othman S, al-Mutawa M, Udo EE, Grudzinskas JG. Incidence of microbial growth from the tip of the embryo transfer catheter after embryo transfer in relation to clinical pregnancy rate following in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod* 1996; 11: 1687-9.

ESHRE Capri Workshop Group. Fertility and ageing. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 261-76.

Fanchin R, Ayoubi JM, Righini C, Olivennes F, Schonauer LM, Frydman R. Uterine contractility decreases at the time of blastocyst transfers. *Hum Reprod* 2001a; 16: 1115-9.

Fanchin R, Righini C, de Ziegler D, Olivennes F, Ledee N, Frydman R. Effects of vaginal progesterone administration on uterine contractility at the time of embryo transfer. *Fertil Steril* 2001b; 75: 1136-40.

Fanchin R, Righini C, Ayoubi JM, Olivennes F, Ziegler D, Frydman R. New look at endometrial echogenicity: objective computer-assisted measurements predict endometrial receptivity in in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2000; 74: 274-81.

Fanchin R, Righini C, Ayoubi JM, Olivennes F, de Ziegler D, Frydman R. Uterine contractions at the time of embryo transfer: a hindrance to implantation? *Contracept Fertil Sex* 1998a; 26: 498-505.

Fanchin R, Harmas A, Benaoudia F, Lundkvist U, Olivennes F, Frydman R. Microbial flora of the cervix assessed at the time of embryo transfer adversely affects in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1998b; 70: 866-70.

Fedorcsák P, Dale PO, Storeng R, Ertzeid G, Bjercke S, Oldereid N, et al. Impact of overweight and underweight on assisted reproduction treatment. *Hum Reprod* 2004; 19: 2523-8.

Female infertility. In: Speroff L, Glass RH, Kase NG. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. 6ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 1999. p.1013-42.

Ferriani RA, Souza SS, Moura MD de, Reis RM dos, Sala MM de, Sá MFS de. Fisiopatologia da implantação embrionária. In: Oliveira HC de, Lemgruber I, editores. *Tratado de ginecologia FEBRASGO*. Rio de Janeiro: Revinter; 2000. v.1, p. 492-502.

Forti G, Krausz C. Clinical review 100: Evaluation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4177-88.

Franco Jr JG, Martins AMVC, Baruffi RLR, Mauri AL, Petersen CG, Felipe V, et al. Best site embryo transfer: the upper or lower half of endometrial cavity? *Hum Reprod* 2004; 19: 1785-90.

Frankfurter D, Trimarchi JB, Silva CP, Keefe DL. Middle to lower uterine segment embryo transfer improves implantation and pregnancy rates compared with fundal embryo transfer. *Fertil Steril* 2004; 81: 1273-7.

Friedler S, Schenker JG, Herman A, Lewin A. The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. *Hum Reprod Update* 1996; 2: 323-35.

Frydman R. Impact des techniques de transfert sur l'implantation. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2004; 33: 2S36-9.

Garrido N, Navarro J, Garcia-Velasco J, Remohi J, Pellicer A, Simon C. The endometrium versus embryonic quality in endometriosis-related infertility. *Hum Reprod Update* 2002; 8: 95-103.

Geber S, Sales L, Sampaio MAC. Laboratory techniques for human embryos. *Reprod Biomed Online* 2002; 5: 211-8.

Gianaroli L, Plachot M, van Kooij R, Al-Hasani S, Dawson K, DeVos A, et al. ESHRE guidelines for good practice in IVF laboratories. Committee of the Special Interest Group on Embryology of the European Society of Human Reproduction and Embryology. *Hum Reprod* 2000; 15: 2241-6.

Gonen Y, Dirnfeld M, Goldman S, Koifman M, Abramovici H. Does the choice of catheter for embryo transfer influence the success rate of in-vitro fertilization? *Hum Reprod.* 1991; 6:1092-4.

Goudas VT, Hammitt DG, Damario MA, Session DR, Singh AP, Dumesic DA. Blood on the embryo transfer catheter is associated with decreased rates of embryo implantation and clinical pregnancy with the use of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1998; 70: 878-82.

Hamamah S. Oocyte and embryo quality: is their morphology a good criterion? *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2005; 34: 5S38-5S41.

Hearns-Stokes RM, Miller BT, Scott L, Creuss D, Chakraborty PK, Segars JH. Pregnancy rates after embryo transfer depend on the provider at embryo transfer. *Fertil Steril* 2000; 74: 80-6.

Hoozemans DA, Schats R, Lambalk CB, Homburg R, Hompes PGA. Human embryo implantation: current knowledge and clinical implications in assisted reproductive technology. *Reprod Biomed Online* 2004; 9: 692-715.

Jakab A, Kovacs T, Zavaczki Z, Borsos A, Bray-Ward P, Ward D, et al. Efficacy of the swim-up method in eliminating sperm with diminished maturity and aneuploidy. *Hum Reprod* 2003; 18: 1481-8.

Jansen RPS. The effect of female on the likelihood of a live birth from one in-vitro fertilisation treatment. *Med J Aust* 2003; 178: 258-61.

Janssens RM, Brus L, Cahill DJ, Huirne JAF, Schoemaker J, Lambalk CB. Direct ovarian effects and safety aspects of GnRH agonists and antagonists. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 505-18.

Kably Ambe A, Ruiz Anguas J, Perez-Avella AB, Carballo Mondragon E, Karchmer Krivitzky S. Correlación estadística entre una prueba de transferencia y la transferencia embrionaria em um programa de reprodução assistida: análise de los resultados. *Ginecol Obstet Mex* 2003 Jan; 71: 44-50.

Kan AKS, Abdalla HI, Gafar AH, Nappi L, Ogunyemi BO, Thomas A, et al. Embryo transfer: ultrasound-guided versus clinical touch. *Hum Reprod* 1999; 14: 1259-61.

Karande V, Hazlett D, Vietzke M, Gleicher N. A prospective randomized comparison of the Wallace catheter and the Cook Echo-Tip catheter for ultrasound-guided embryo transfer. *Fertil Steril* 2002; 77: 826-30.

Karande VC, Morris R, Chapman C, Rinehart J, Gleicher N. Impact of the "physician factor" on pregnancy rates in a large assisted reproductive technology program: do too many cooks spoil the broth? *Fertil Steril* 1999; 71: 1001-9.

Kolibianakis EM, Zikopoulos K, Verpoest W, Camus M, Joris H, Van Steirteghem AC, et al. Should we advise patients undergoing IVF to start a cycle leading to a day 3 or a day 5 transfer? *Hum Reprod* 2004; 19: 2550-4. Epub 2004 Aug 6.

Lee HC, Seifer DB, Shelden RM. Impact of retained embryos on the outcome of assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 2004; 82: 334-7.

Lemgruber M, Sampaio MAC, Valle M, Geber S. Hysteroscopic evaluation of the effect of three different embryo transfer catheters on the endometrium. *Fertil Steril* 2002; 78 (Suppl 1): S233.

Lesny P, Killick SR, Tetlow RL, Robinson J, Maguiness SD. Embryo transfer – can we learn anything new from the observation of junctional zone contractions? *Hum Reprod* 1998; 13: 1540-6.

Lessey BA. Implantation defects in infertile women with endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 955: 265-80; discussion 293-5, 396-406.

Lessey BA. The role of the endometrium during embryo implantation. *Hum Reprod* 2000; 15 Suppl 6: 39-50.

Levi Setti PE, Albani E, Cavagna M, Bulletti C, Colombo GV, Negri L. The impact of embryo transfer on implantation : a review. *Placenta* 2003; 24 (Suppl): S20-6.

Lintsen AME, Pasker-de-Jong PCM, de Boer EJ, Burger CW, Jansen CAM, Braat DDM, et al. Effects of subfertility cause, smoking and body weight on the success rate of IVF. *Hum Reprod* 2005; 20: 1867-75.

Lockshin MD. Autoimmunity, infertility and assisted reproductive technologies. *Lupus* 2004; 13: 669-72.

Lornage J. Biological aspects of endometriosis in vitro fertilization. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2003; 32: 48-50.

Lunenfeld B. Development of gonadotrophins for clinical use. *Reprod Biomed Online* 2002; 4 Suppl 1: 11-7.

Mansour RT, Aboulghar MA. Optimizing the embryo transfer technique. *Hum Reprod* 2002; 17: 1149-53.

- Marbaix E, Brun JL. Concise survey of endometrial pathologies detected at hysteroscopy. *Gynecol Surg* 2004; 1: 151-7.
- Marconi G, Vilela M, Belló J, Diradourian M, Quintana R, Sueldo C. Endometrial lesions caused by catheters used for embryo transfers: a preliminary report. *Fertil Steril* 2003; 80: 363-7.
- Margalioth EJ, Ben-Chetrit A, Gal M, Eldar-Geva T. Investigation and treatment of repeated implantation failure following IVF-ET. *Hum Reprod* 2006; 21: 3036-43.
- Marikinti K, Brinsden PR. The presence of blood in the transfer catheter negatively influences outcome at embryo transfer. *Hum Reprod* 2005; 20: 2029-30.
- Martinez E, Coroleu B, Parriego M, Carreras O, Belil I, Parera N, et al. Ultrasound-guided embryo transfer: immediate withdrawal of the catheter versus a 30 second wait. *Hum Reprod* 2001; 16: 871-4.
- Martins WP, Mauad-Filho F, Ferriani RA, Reis RM dos. Ultra-sonografia tridimensional e reprodução assistida. *Femina* 2006; 34: 321-6.
- Matheus P, Canha A dos S, Shimabukuro L. Laboratório de fertilização in vitro: estruturação, materiais, manutenção e aparelhamento. In: Wonchockier R, coordenador, I Consenso Brasileiro de embriologia em medicina reprodutiva. São Paulo: Pronúcleo; 2004. p.131-42.
- Minas V, Loutradis D, Makrigiannakis A. Factors controlling blastocyst implantation. *Reprod Biomed Online* 2005; 10: 205-16.
- Moon HS, Park SH, Lee JO, Kim KS, Joo BS. Treatment with piroxicam before embryo transfer increases the pregnancy rate after in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 2004; 82: 816-20.
- Murray AS, Healy DL, Rombauts L. Embryo transfer: hysteroscopic assessment of transfer catheter effects on the endometrium. *Reprod Biomed Online* 2003; 7: 583-6.
- Nabi A, Awonuga A, Birch H, Barlow S, Stewart B. Multiple attempts at embryo transfer: does this affect in-vitro fertilization treatment outcome? *Hum Reprod* 1997; 12: 1188-90.
- Navot D, Drews MR, Bergh PA, Guzman I, Karstaedt A, Scott RT Jr, et al. Age-related decline in female fertility is not due to diminished capacity of the uterus to sustain embryo implantation. *Fertil Steril* 1994; 61: 97-101.

Nawroth F, Ludwig M. What is the 'ideal' duration of progesterone supplementation before the transfer of cryopreserved-thawed embryos in estrogen/progesterone replacement protocols? *Hum Reprod* 2005; 20: 1127-34. Epub 2005 Feb 3.

Oatway C, Gunby J, Daya S. Day three versus day two embryo transfer following in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005; (2): CD004378.

Oliveira FG, Abdelmassih VG, Diamond MP, Dozortsev D, Nagy ZP, Abdelmassih R. Uterine cavity findings and hysteroscopic interventions in patients undergoing in vitro fertilization: embryo transfer who repeatedly cannot conceive. *Fertil Steril* 2003; 80: 1371-75.

van Os HC, Roozenburg BJ, Janssen-Caspers HA, Leerentveld RA, Scholtes MC, Zeilmaker GH, et al. Vaginal disinfection with povidon iodine and the outcome of in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1992; 7: 349-50.

Palermo G, Joris H, Devroey P, van Streirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340: 17-8.

Pandian Z, Bhattacharya S, Ozturk O, Serour GI, Templeton A. Number of embryos for transfer following in-vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005 Oct 18; (4): CD003416

Park KS, Song HB, Chun SS. Late fertilization of unfertilized human oocytes in In vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles: conventional insemination versus ICSI. *J Assist Reprod Genet* 2000; 17:419-24.

van de Pas MMC, Weima S, Looman CWN, Broekmans FJM. The use of fixed distance embryo transfer after IVF/ICSI equalizes the success rates among physicians. *Hum Reprod* 2003; 18: 774-80.

Pasquali R, Pelusi C, Genghini S, Cacciari M, Gambineri A. Obesity and reproductive disorders in women. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 359-72.

Pasqualini RS, Quintans CJ. Clinical practice of embryo transfer. *Reprod Biomed Online* 2001; 4: 83-92.

Passos EP. Historia da reprodução assistida: lições aprendidas e desafios futuros. [http:// www.sbra.com.br](http://www.sbra.com.br) (acessado em 24/Nov/2006).

Pellicer A, Navarro J, Bosch E, Garrido N, Garcia-Velasco JA, Remohi J, et al. Endometrial quality in infertile women with endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 943: 122-30.

Poikkeus P, Hillesmaa V, Tiitinen A. Serum HCG 12 days after embryo transfer in predicting pregnancy outcome. *Hum Reprod* 2002; 17: 1901-5.

Poindexter AN, Thompson DJ, Gibbons WE, Findley WE, Dodson MG, Young RL. Residual embryos in failed embryo transfer. *Fertil Steril* 1986; 46: 262-7.

Pope CS, Cook EKD, Arny M, Novak A, Grow DR. Influence of embryo transfer depth on in vitro fertilization and embryo transfer outcomes. *Fertil Steril* 2004; 81: 51-8.

Popovic-Todorovic B, Loft A, Lindhard A, Bangsboll S, Andersson AM, Andersen AN. A prospective study of predictive factors of ovarian response in 'standard' IVF/ICSI patients treated with recombinant FSH. A suggestion for a recombinant FSH dosage nomogram. *Hum Reprod* 2003; 18: 781-7.

Porcu G, Dechaud H, Hedon B. Uterine receptivity and embryo implantation. The use of transvaginal scan and doppler study in its evaluation in ART. *Gynecol Obstet Fertil* 2003; 31: 697-705.

Prapas N, Prapas Y, Panagiotidis Y, Prapa S, Vanderzwalmen P, Makedos G. Cervical dilatation has a positive impact on the outcome of IVF in randomly assigned cases having two previous difficult embryo transfers. *Hum Reprod* 2004; 19: 1791-5. Epub 2004 Jun 3.

Rama Raju GA, Shashi Kumari G, Krishna KM, Prakash GJ, Madan K. Assessment of uterine cavity by hysteroscopy in assisted reproduction programme and its influence on pregnancy outcome. *Arch Gynecol Obstet* 2006; 274: 160-4. Epub 2006 May 10.

Red Latinoamericana de Reproducción Asistida. Glossário usado pela Red Latinoamericana de Reproducción Asistida e desenvolvido pelo International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) com a cooperação técnica do Programa Especial de Investigação e Treinamento em Reprodução Humana, Organização Mundial da Saúde. <http://www.redlara.com/glossario.asp> (acessado em 06/Nov/2005).

Rogers PA, Milne BJ, Trounson AO. A model to show human uterine receptivity and embryo viability following ovarian stimulation for in vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1986; 3: 93-8.

Rossin-Amar B. How to improve IVF results from a clinical point of view? *Gynecol Obstet Fertil* 2006; 34:774-80. Epub 2006 Sep 14.

Sallam HN, Agameya AF, Rahman AF, Ezzeldin F, Sallam AF. Impact of technical difficulties, choice of catheter, and the presence of blood on the success of embryo transfer-experience from a single provider. *J Assist Reprod Genet* 2003; 20: 135-42.

Schoolcraft WB, Surrey ES, Gardner DK, Phil D. Embryo transfer: techniques and variables affecting success. *Fertil Steril* 2001; 76: 863-70.

Serafini P, Batzofin J, Nelson J, Olive D. Sonographic uterine predictors of pregnancy in women under going ovulation induction for assisted reproductive treatments. *Fertil Steril* 1994; 62: 815-22.

Shapiro H, Cowell C, Gasper RF. The use of vaginal ultrasound for monitoring endometrial preparation in a donor oocyte program. *Fertil Steril* 1993; 59: 1055-8.

Sharif K, Afnan M, Lashen H, Elgendy M, Morgan C, Sinclair L. Is bed rest following embryo transfer necessary? *Fertil Steril* 1998; 69: 478-81.

Sharif K, Afnan M, Lenton W. Mock embryo transfer with a full bladder immediately before the real transfer for in-vitro fertilization treatment: the Birmingham experience of 113 cases. *Hum Reprod* 1995; 10:1715-8.

Sharlip ID, Jarow JP, Belker AM, Lipshultz LI, Sigman M, Thomas AJ, et al. Best practice policies for male infertility. *Fertil Steril* 2002; 77: 873-82.

Silber SJ, Nagy Z, Lui J, Tournaye H, Lissens W, Ferec C, et al. The use of epididymal and testicular spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection: the genetic implications for male infertility. *Hum Reprod* 1995; 10: 2031-43.

Smith S, Pfeifer SM, Collins JA. Diagnosis and management of female infertility. *JAMA* 2003; 290: 1767-70.

Soares SR, Simon C, Remohi J, Pellicer A. Cigarette smoking affects uterine receptiveness. *Hum Reprod* 2006 Nov 9; [Epub ahead of print].

Spandorfer SD, Kump L, Goldschlag D, Brodtkin T, Davis OK, Rosenwaks Z. Obesity and in vitro fertilization: negative influences on outcome. *J Reprod Med* 2004; 49: 973-7.

Speroff L, Glass RH, Kase NG. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. 6ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 1999.

Staun-Ram E, Shalev E. Human trophoblast function during the implantation process. *Reprod Biol Endocr* 2005; 3: 56-67.

Stephens P, Edwards R. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 2: 366.

Strandell A. The influence of hydrosalpinx on IVF and embryo transfer: a review. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 387-95.

Strickler RC, Christianson C, Crane JP, Curato A, Knight AB, Yang V. Ultrasound guidance for human embryo transfer. *Fertil Steril* 1985; 43: 54-61.

Strowitzki T, Germeyer A, Popovici R, von Wolff M. The human endometrium as a fertility-determining factor. *Hum Reprod Update* 2006; 12: 617-30.

Su TJ, Chen YC, Hung YT, Yang YS. Comparative study of daily activities of pregnant and non-pregnant women after in vitro fertilization and embryo transfer. *J Fomos Med Assoc* 2001; 100: 262-8.

Surrey ES. Impact of intramural leiomyomata on in-vitro fertilization-embryo transfer cycle outcome. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2003; 15: 239-42.

van Swieten EC, van der Leeuw-Harmsen L, Badings EA, van der Linden PJ. Obesity and clomiphene test as predictors of outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Gynecol Obstet Invest* 2005; 59: 220-4. Epub 2005 Mar 7.

Tan SL, Waterstone J, Wren M, Parsons J. A prospective randomized study comparing aspiration only with aspiration and flushing for transvaginal ultrasound-directed oocyte recovery. *Fertil Steril* 1992; 58: 356-60.

Tavaniotou A, Smitz J, Bourgain C, Devroey P. Comparison between different routes of progesterone administration as luteal phase support in infertility treatments. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 139-48.

Templeton A, Morris JK, Parslow W. Factors that affect outcome of in-vitro fertilisation treatment. *Lancet* 1996; 348: 1402-6.

Test Tube Babies-IVF & GIFT [foto]. In: Malpani Ani, Malpani Anj. How to have a baby: overcoming infertility. <http://www.infertilitybooks.com/onlinebooks/malpani/newedition.html>.(acessado em 25/Nov/2006). p.25c.

The European Recombinant Human Chorionic Gonadotrophin Study Group. Induction of final follicular maturation and early luteinization in women undergoing ovulation induction for assisted reproduction treatment--recombinant HCG versus urinary HCG. *Hum Reprod* 2000; 15: 1446-51.

The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definition of "infertility". *Fertil Steril* 2004; 82 Suppl 1: S206.

Tomas C, Tikkinen K, Tuomivaara L, Tapanainen JS, Martikainen H. The degree of difficult of embryo transfer is an independent factor for predicting pregnancy. *Hum Reprod* 2002; 17: 2632-5.

Tremellen KP, Valbuena D, Landeras J, Ballesteros A, Martinez J, Mendoza S, et al. The effect of intercourse on pregnancy rates during assisted human reproduction. *Hum Reprod* 2000; 15: 2653-8.

Trindade ZA, Enumo SRF. Triste e incompleta: uma visão feminina da mulher infértil. *Psicol.USP* 2002; v.13 n.2

Tucker KE, Jansen CAM. Why should we assess oocyte and embryo morphology? In: Basuray R, Mortimer D, editors. *Troubleshooting Activities in the ART lab. Proceedings of the 2nd International Workshop for Embryologists*; 2002 . <http://www.ivf.nt/articles> (acessado em 25/Nov/2006).

Tucker MJ, Chan SY. Origins and effects of variations in spermatozoal quality. *Int J Fertil Menopausal Stud* 1993; 38: 197-209.

Tur-Kaspa I, Yuval Y, Bider D, Levron J, Shulman A, Dor J. Difficult or repeated sequential embryo transfers do not adversely affect in-vitro fertilization pregnancy rates or outcome. *Hum Reprod*. 1998; 13: 2452-5.

Valles CS, Dominguez F. Embryo-endometrial interaction. *Chang Gung Med J* 2006; 29: 9-13.

Veeck LL. Fertilization and early embryonic development. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1992; 4: 702-11.

Veeck LL. *Atlas of de Human oocyte & early conceptus*. Lippincott Williams & Wilkins; 1991.

te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod* 2002; 8: 141-54.

Visser DS, Fourie FL, Kruger HF. Multiple attempts at embryo transfer: effect on pregnancy outcome in an in vitro fertilization and embryo transfer program. *J Assist Reprod Genet* 1993; 10: 37-43.

Weissman A, Gotlieb L, Casper RF. The detrimental effect of increased endometrial thickness on implantation and pregnancy rates and outcome in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 1999; 71:147-9.

van Weering HGI, Schats R, McDonnell J, Vink JM, Vermeiden JPW, Hompes PGA. The impact of the embryo transfer catheter on the pregnancy rate in IVF. *Hum Reprod* 2002; 17: 666-70.

Who Health Organization (WHO/OMS). <http://www.who.int/en/>. (acessado em Nov/2005).

Wisanto A, Camus M, Janssens R, Devroey P, Deschacht J, van Steirteghem AC. Performance of different embryo transfer catheters in a human in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 1989; 52: 79-84.

Wood EG, Batzer FR, Go KJ, Gutmann JN, Corson SL. Ultrasound-guided soft catheter embryo transfers will improve pregnancy rates in in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 2000; 15: 107-12.

Younis JS, Simon A, Laufer N. Endometrial preparation: lessons from oocyte donation. *Fertil Steril* 1996; 66: 873-84.

Yovich JL, Turner SR, Murphy AJ. Embryo transfer technique as a cause of ectopic pregnancies in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1985; 44:318-21.

Zenke U, Ryszard J, Chetkowski MD. Transfer and uterine factors are the major recipient-related determinants of success with donor eggs. *Fertil Steril* 2004; 82: 850-6.

APÊNDICE 1

INSTRUMENTO PARA COLETA DE DADOS

NOME: _____

IDADE: _____

CAUSA(S) DA INFERTILIDADE: _____

PATOLOGIAS ASSOCIADAS: _____

TIPO DE TRATAMENTO: () FIV
() FIV-DOPROTOCOLO DE INDUÇÃO / PREPARO ENDOMETRIAL:

Nº DE EMBRIÕES TRANSFERIDOS: _____

CLASSIFICAÇÃO DOS EMBRIÕES TRANSFERIDOS:

	Nº CÉLULAS	TIPO
1		
2		
3		
4		

DIA DA TRANSFERENCIA: _____

TIPO DE CATETER: _____

LOCALIZAÇÃO DOS EMBRIÕES NA CAVIDADE: () SUPERIOR
() MÉDIO
() INFERIOR

TROCA DE CATETER: () SIM () NÃO

TOQUE NO FUNDO: () SIM () NÃO

PERSISTENCIA DO EMBRIÃO NO CATETER: () SIM () NÃO

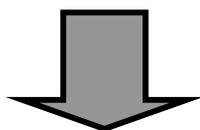
SANGUE NO CATETER: () SIM () NÃO

TEMPO DE DURAÇÃO: () < 5min () > 5min

BhCG: _____

1ª USG: _____

2ª USG: _____



() GESTAÇÃO BIOQUÍMICA

() ABORTAMENTO

() GESTAÇÃO CLÍNICA

ANEXO 1**RESOLUÇÃO CFM nº 1.358/92**

O CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA, no uso das atribuições que lhe confere a Lei nº 3.268, de 30 de setembro de 1957, regulamentada pelo Decreto 44.045, de 19 de julho de 1958, e CONSIDERANDO a importância da infertilidade humana como um problema de saúde, com implicações médicas e psicológicas, e a legitimidade do anseio de superá-la; CONSIDERANDO que o avanço do conhecimento científico já permite solucionar vários dos casos de infertilidade humana; CONSIDERANDO que as técnicas de Reprodução Assistida têm possibilitado a procriação em diversas circunstâncias em que isto não era possível pelos procedimentos tradicionais; CONSIDERANDO a necessidade de harmonizar o uso destas técnicas com os princípios da ética médica; CONSIDERANDO, finalmente, o que ficou decidido na Sessão Plenária do Conselho Federal de Medicina realizada em 11 de novembro de 1992;

RESOLVE:

Art. 1º - Adotar as **NORMAS ÉTICAS PARA A UTILIZAÇÃO DAS TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA**, anexas à presente Resolução, como dispositivo deontológico a ser seguido pelos médicos.

Art. 2º - Esta Resolução entra em vigor na data da sua publicação.

São Paulo-SP, 11 de novembro de 1992.

IVAN DE ARAÚJO MOURA FÉ
Presidente

HERCULES SIDNEI PIRES LIBERAL
Secretário-Geral

Publicada no D.O.U dia 19.11.92-Seção I Página 16053.

NORMAS ÉTICAS PARA A UTILIZAÇÃO DAS TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA**I - PRINCÍPIOS GERAIS**

1 - As técnicas de Reprodução Assistida (RA) têm o papel de auxiliar na resolução dos problemas de infertilidade humana, facilitando o processo de procriação quando outras terapêuticas tenham sido ineficazes ou ineficientes para a solução da situação atual de infertilidade.

2 - As técnicas de RA podem ser utilizadas desde que exista probabilidade efetiva de sucesso e não se incorra em risco grave de saúde para a paciente ou o possível descendente.

3 - O consentimento informado será obrigatório e extensivo aos pacientes inférteis e doadores. Os aspectos médicos envolvendo todas as circunstâncias da aplicação de uma técnica de RA serão detalhadamente expostos, assim como os resultados já obtidos naquela unidade de tratamento com a técnica proposta. As informações devem também atingir dados de caráter biológico, jurídico, ético e

econômico. O documento de consentimento informado será em formulário especial, e estará completo com a concordância, por escrito, da paciente ou do casal infértil.

4 - As técnicas de RA não devem ser aplicadas com a intenção de selecionar o sexo ou qualquer outra característica biológica do futuro filho, exceto quando se trate de evitar doenças ligadas ao sexo do filho que venha a nascer.

5 - É proibido a fecundação de oócitos humanos, com qualquer outra finalidade que não seja a procriação humana.

6 - O número ideal de oócitos e pré-embriões a serem transferidos para a receptora não deve ser superior a quatro, com o intuito de não aumentar os riscos já existentes de multiparidade.

7 - Em caso de gravidez múltipla, decorrente do uso de técnicas de RA, é proibida a utilização de procedimentos que visem a redução embrionária.

II - USUÁRIOS DAS TÉCNICAS DE RA

1 - Toda mulher, capaz nos termos da lei, que tenha solicitado e cuja indicação não se afaste dos limites desta Resolução, pode ser receptora das técnicas de RA, desde que tenha concordado de maneira livre e conciente em documento de consentimento informado.

2 - Estando casada ou em união estável, será necessária a aprovação do cônjuge ou do companheiro, após processo semelhante de consentimento informado.

III - REFERENTE ÀS CLÍNICAS, CENTROS OU SERVIÇOS QUE APLICAM TÉCNICAS DE RA

As clínicas, centros ou serviços que aplicam técnicas de RA são responsáveis pelo controle de doenças infecto-contagiosas, coleta, manuseio, conservação, distribuição e transferência de material biológico humano para a usuária de técnicas de RA, devendo apresentar como requisitos mínimos:

1 - um responsável por todos os procedimentos médicos e laboratoriais executados, que será, obrigatoriamente, um médico.

2 - um registro permanente (obtido através de informações observadas ou relatadas por fonte competente) das gestações, nascimentos e mal-formações de fetos ou recém-nascidos, provenientes das diferentes técnicas de RA aplicadas na unidade em apreço, bem como dos procedimentos laboratoriais na manipulação de gametas e pré-embriões.

3 - um registro permanente das provas diagnósticas a que é submetido o material biológico humano que será transferido aos usuários das técnicas de RA, com a finalidade precípua de evitar a transmissão de doenças.

IV - DOAÇÃO DE GAMETAS OU PRÉ-EMBRIÕES

1 - A doação nunca terá caráter lucrativa ou comercial.

2 - Os doadores não devem conhecer a identidade dos receptores e vice-versa.

3 - Obrigatoriamente será mantido o sigilo sobre a identidade dos doadores de gametas e pré-embriões, assim como dos receptores. Em situações especiais, as informações sobre doadores, por motivação médica, podem ser fornecidas exclusivamente para médicos, resguardando-se a identidade civil do doador.

4 - As clínicas, centros ou serviços que empregam a doação devem manter, de forma permanente, um registro de dados clínicos de caráter geral, características fenotípicas e uma amostra de material celular dos doadores.

5 - Na região de localização da unidade, o registro das gestações evitará que um doador tenha produzido mais que 2 (duas) gestações, de sexos diferentes, numa área de um milhão de habitantes.

6 - A escolha dos doadores é de responsabilidade da unidade. Dentro do possível deverá garantir que o doador tenha a maior semelhança fenotípica e imunológica e a máxima possibilidade de compatibilidade com a receptora.

7 - Não será permitido ao médico responsável pelas clínicas, unidades ou serviços, nem aos integrantes da equipe multidisciplinar que nelas prestam serviços, participarem como doadores nos programas de RA.

V - CRIOPRESERVAÇÃO DE GAMETAS OU PRÉ-EMBRIÕES

1 - As clínicas, centros ou serviços podem criopreservar espermatozóides, óvulos e pré-embriões.

2 - O número total de pré-embriões produzidos em laboratório será comunicado aos pacientes, para que se decida quantos pré-embriões serão transferidos a fresco, devendo o excedente ser criopreservado, não podendo ser descartado ou destruído.

3 - No momento da criopreservação, os cônjuges ou companheiros devem expressar sua vontade, por escrito, quanto ao destino que será dado aos pré-embriões criopreservados, em caso de divórcio, doenças graves ou de falecimento de um deles ou de ambos, e quando desejam doá-los.

VI - DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE PRÉ-EMBRIÕES

As técnicas de RA também podem ser utilizadas na preservação e tratamento de doenças genéticas ou hereditárias, quando perfeitamente indicadas e com suficientes garantias de diagnóstico e terapêutica.

1 - Toda intervenção sobre pré-embriões "in vitro", com fins diagnósticos, não poderá ter outra finalidade que a avaliação de sua viabilidade ou detecção de doenças hereditárias, sendo obrigatório o consentimento informado do casal.

2 - Toda intervenção com fins terapêuticos, sobre pré-embriões "in vitro", não terá outra finalidade que tratar uma doença ou impedir sua transmissão, com garantias reais de sucesso, sendo obrigatório o consentimento informado do casal.

3 - O tempo máximo de desenvolvimento de pré-embriões "in vitro" será de 14 dias.

VII - SOBRE A GESTAÇÃO DE SUBSTITUIÇÃO (DOAÇÃO TEMPORÁRIA DO ÚTERO)

As Clínicas, Centros ou Serviços de Reprodução Humana podem usar técnicas de RA para criarem a situação identificada como gestação de substituição, desde que exista um problema médico que impeça ou contra-indique a gestação na doadora genética.

1 - As doadoras temporárias do útero devem pertencer à família da doadora genética, num parentesco até o segundo grau, sendo os demais casos sujeitos à autorização do Conselho Regional de Medicina.

2 - A doação temporária do útero não poderá ter caráter lucrativo ou comercial.

ANEXO 2