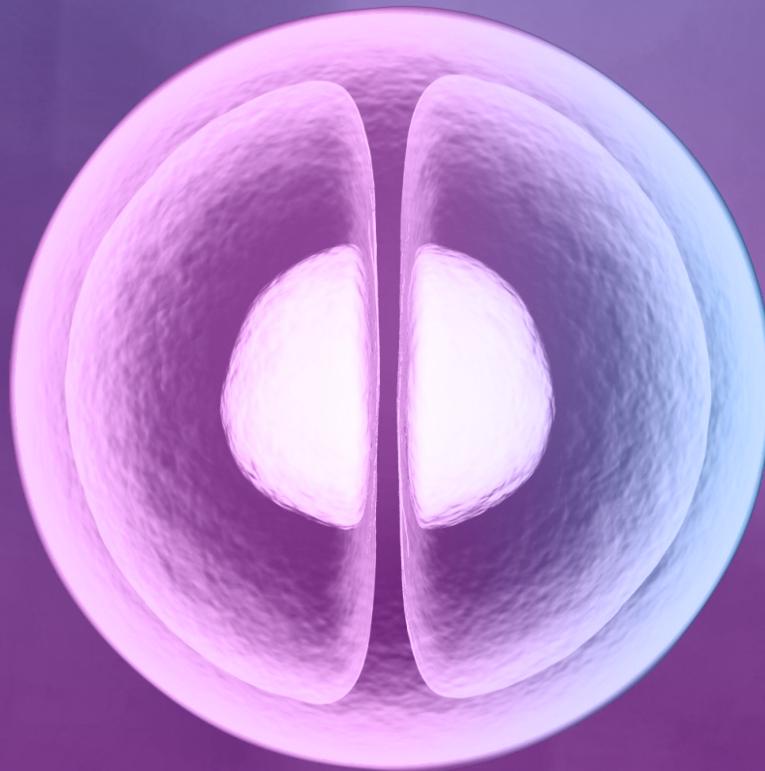


PRONÚCLEO

Associação Brasileira
de Embriologistas em
Medicina Reprodutiva



ponto
em pauta

COVID-19

genética

**COMO O LABORATÓRIO
INFLUENCIA A PLOIDIA
DO EMBRIÃO?**

assuntos
regulatórios

DOAÇÕES DE GAMETAS

BIOVIGILÂNCIA

com a
palavra

RAQUEL ALVARENGA



CONCEITO DO NOVO LOGOTIPO

"A proposta é seguir utilizando a principal simbologia do PRONÚCLEO, com elementos que remetem ao processo de união do gameta masculino e feminino. No entanto, foi adicionado um significado complementar: o símbolo do infinito. Com traços mais arredondados, fluidos e modernos, o logotipo do PRONÚCLEO agora também representa a junção dos gametas, o ciclo da vida e suas possibilidades infinitas."

Quando surgiu o convite para edição da revista, foi um misto de felicidade pelo reconhecimento, empolgação pela novidade e receio pelo desafio. Mas desafios vêm também como oportunidade para o crescimento, e eu sou extremamente grata por poder compartilhar essa experiência com a equipe que compõe o corpo editorial, bem como autores convidados.

Gostaria de agradecer especialmente a todos os membros da comissão científica por terem aceitado fazer parte desse desafio e execução conjunta dessa proposta. É uma honra poder contar com vocês! Agradeço imensamente também à equipe de criação e aconselhamento.

A Associação Brasileira de Embriologistas em Medicina Reprodutiva - PRONÚCLEO - traz a revista eletrônica bimestral como mais um dos marcos de celebração dos nossos 20 anos. Nosso objetivo é trazer informação e atualização, bem como construir uma sociedade cada vez mais forte. Quanto mais presente for nosso amor pela profissão e nossa motivação em sermos profissionais cada vez melhores, mais unidos estaremos, e maior será nossa voz e nossa representatividade.

Esperamos levar conhecimento e aproximar da melhor forma os profissionais da área e, para isso, contamos com a participação e entusiasmo de todos os leitores. Estamos sempre abertos a opiniões e sugestões!

Obrigada a todos!

Ana Clara Esteves
Editora-chefe



CORPO EDITORIAL

COMISSÃO CIENTÍFICA



Ana Paula
de Souza
Aguiar



Bia Mattos



Brummel
Rodrigues
Magalhães



Camila Pinho
Pompeu



Darlete
Matos



Mariana de
Nadai



Patrícia
França



Rita Figueira



Thais
Serzedello
de Paula



Vinícius
Bonato da
Rosa

CONSULTORIA DE EDIÇÃO



Diana Caroline Bastos



Felype Wanzeller

CONSELHO EDITORIAL



Bernardo Moura

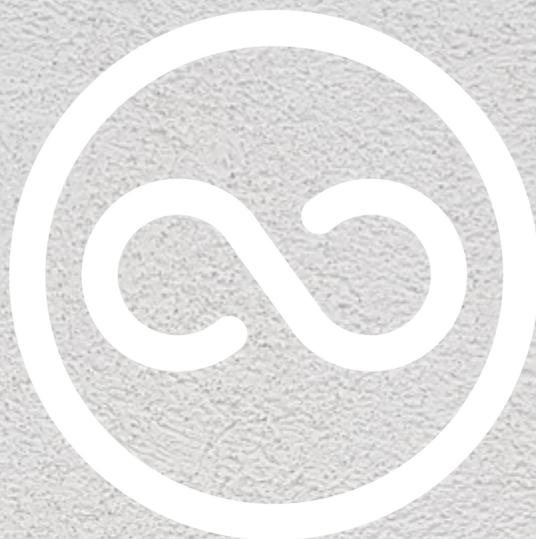
EDITORA ASSOCIADA



Ana Beatriz Zavan Marques

APOIO

Handle



PRONÚCLEO

Associação Brasileira
de Embriologistas em
Medicina Reprodutiva

Nesta edição

Palavra do Presidente	5
Assuntos Regulatórios	7
Ponto em Pauta	10
Falando em Andrologia	13
Falando em Embriologia	15
Falando em Genética	17
Com a Palavra	22
Fique de olho	26

PALAVRA DO PRESIDENTE

Caros colegas,

Esse ano completamos 20 anos da nossa sociedade! Apesar do momento delicado pelo qual estamos passando, seguimos com entusiasmo e alegria, trabalhando duro nos bastidores para que nossa sociedade se fortaleça e se consolide cada vez mais como a única Associação Brasileira de Embriologistas.

Aproveitamos a oportunidade para expressar nosso imenso respeito e gratidão a todas as diretorias que por essa sociedade passaram e que, sem o trabalho exercido por elas, hoje não teríamos a força que temos.

Iniciamos nossas comemorações de aniversário apresentando a nova identidade visual da Pronúcleo: foi adicionado ao processo de união dos gametas o símbolo do infinito, e as cores foram atualizadas. Agora nosso logotipo representa a junção dos gametas, o ciclo da vida e suas possibilidades infinitas.

Dando continuidade às mudanças, é com muito orgulho que estamos lançando esse primeiro exemplar da nossa revista eletrônica, do qual todos vocês podem fazer parte em algum momento. Esse projeto tem o objetivo de nos aproximar enquanto profissionais, bem como trazer constantes atualizações na área da Reprodução Humana Assistida.

Gostaria de agradecer pessoalmente à comissão científica por comprarem a ideia e embarcarem nessa jornada conosco. Agradecimentos especiais também à Dra. Hitomi Nakagawa, presidente da SBRA, à Dra. Maria Cecília Cardoso, pioneira na embriologia brasileira e à querida amiga e fundadora da Pronúcleo, Raquel Alvarenga.



Paralelamente, no que se refere ao momento de pandemia pelo qual estamos passando, a Pronúcleo, SBRA e Redlara estão juntas trabalhando e elaborando medidas para que possamos passar por essa situação da melhor forma possível.

Dito isso, chegou a hora de darmos mais um passo. A Pronúcleo convoca todos os seus associados para aderirem a esse movimento: renovem suas anuidades, sugestionem seus colegas a se associarem, participem ativamente com dúvidas e sugestões. Venham nos ajudar nessa transformação!

Contem sempre conosco, juntos somos mais fortes!

Continuamos trabalhando para atender quem mais importa para nós: **você**.

A saúde é e sempre foi a nossa prioridade. Por isso, neste momento, não paramos nossos atendimentos. Nossa equipe continua trabalhando, seguindo rigorosamente as medidas sanitárias e de higiene, recomendadas pela OMS.

Nossos consultores comerciais estão trabalhando remotamente para que você possa continuar seus atendimentos com nossos produtos e serviços.

Nós, em conjunto com a Cook Medical™ somos marcas fortes, que não paramos diante desta crise e que proporcionam a você produtos de alta qualidade, como já conhece.

Nossos processos logísticos possibilitam que nossos produtos cheguem até você com a máxima rapidez e eficiência, garantindo a qualidade dos produtos e suas propriedades.

Nossa **parceria** continua a mesma.
Conte com a gente sempre.



Handle
FERTILIDADE

REGULAMENTAÇÕES SOBRE DOAÇÃO DE GAMETAS

As regulamentações em saúde visam garantir qualidade e segurança dos tratamentos, incluindo aqueles de Reprodução Assistida (RA) cujo objetivo é proporcionar a constituição de famílias por meio de procriação. Para isso, o uso de gametas doados vem ganhando cada vez mais importância, tanto por insuficiência na gametogênese (fator que vem aumentando consideravelmente nos últimos anos), quanto por fatores genéticos ou demanda de casais homoafetivos.

Para receptores de gametas, a **qualidade** se garante pela limitação da idade dos doadores e pela triagem criteriosa de seus antecedentes patológicos e familiares; já a **segurança**, com o parecer psicológico e a testagem de infecções sexualmente transmissíveis. Cabe aqui a ressalva da falta de evidências para afirmar se os gametas poderiam ser vetores de doenças infecciosas.

A importação de gametas ganhou vulto por não conseguirmos doadores brasileiros suficientes para suprir a grande demanda de tratamentos que requerem gametas doados. Esta dificuldade ocorre principalmente em relação aos gametas femininos, haja visto que são células escassas que requerem grande custo para sua obtenção.

Sendo assim, foram os países que possuem leis para cessão remunerada que conseguiram estruturar bancos de doadoras para todo o mundo, de forma geral.

Diante da pandemia que nos assola atualmente, a Anvisa emitiu a Nota Técnica nº 12/2020 que estabelece as diretrizes para pacientes e doadores que irão realizar procedimentos de RA. Tais diretrizes orientam o funcionamento dos serviços, para que atuem colaborando na contenção da rápida disseminação do vírus e, principalmente, na segurança da futura gestante.

Por isso, estão contra-indicadas as transferências de embriões nesse momento e é absolutamente recomendável a criopreservação para o planejamento familiar futuro. Portanto, por ora, não existe o menor sentido em conduzir tratamentos com gametas doados. Por outro lado, é importante tranquilizar os pacientes receptores em relação à sua segurança pessoal futura, já que evidências sobre o SARS-CoV-2 e todos os demais coronavírus mostram que a transmissão não se faz por meio de gametas.

Confira [aquí](#) a Nota Técnica nº 12/2020.

Maria Cecília de Almeida Cardoso

- Médica
- Embriologista
- Gestora do laboratório de Reprodução Humana Assistida do Vida - Centro de Fertilidade - Rio de Janeiro

Nota: Em 15 de abril a SBRA e a REDLARA publicaram nova nota conjunta contendo novas diretrizes para os tratamentos de reprodução assistida. Até o momento da publicação dessa revista, a Anvisa ainda não havia publicado atualização da NT levando em consideração as novas diretrizes.

BIOVIGILÂNCIA EM RHA - DEMANDAS POR VIR

Em 20 de fevereiro foi publicada a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC)/Anvisa nº 339/2020 instituindo o Sistema Nacional de Biovigilância. O objetivo da atuação regulatória é estabelecer procedimentos de vigilância dos eventos adversos (EA) atribuídos ao uso de células, tecidos e órgãos para os profissionais e estabelecimentos de saúde que atuam em Reprodução Humana Assistida (RHA), bem como no ambiente dos transplantes. Esse é o primeiro marco regulatório relacionado ao tema na América Latina.

A biovigilância é uma ferramenta de **gerenciamento de risco** e envolve **ações de monitoramento** e **controle** do ciclo de células, tecidos e órgãos, desde a doação até a evolução clínica (*follow-up*) do paciente. Tem a finalidade de obter e disponibilizar informações acerca de riscos e ocorrências indesejadas ou inesperadas para prevenir seu aparecimento ou recorrência, melhorar a qualidade dos processos e produtos, e aumentar a segurança do doador e do paciente. Entre seus pressupostos estão a não punição e a confidencialidade.

Suas ações baseiam-se na identificação dos EA por parte dos profissionais envolvidos em cada etapa do processo. Tais eventos devem ser notificados, analisados e transformados em informações para que haja intervenção nos riscos e a tomada de ação oportuna. A norma define as diretrizes do Sistema Nacional de Biovigilância determinando a **notificação compulsória dos EA** à Anvisa. Além disso, o regramento também traz:

- Prazos de notificação: 24 horas para **EA graves* e óbito**, contadas a partir da ocorrência; para **EA moderados e leves**, até o 15º dia útil do mês subsequente à identificação do evento;

**EA graves em RHA consistem em um evento indesejado e inesperado associado a qualquer etapa do processo, desde a coleta de gametas até sua transferência, que interfira na qualidade do embrião, na perda de material biológico ou sua transferência à pessoa não destinada a este, e o nascimento de criança em virtude da implantação de gametas ou embriões de doador portador de doença genética grave ou potencialmente fatal (Art. 13 da RDC nº 339/2020).*

- Designação de um **profissional responsável para realização e monitoramento** das atividades de biovigilância no estabelecimento;
- Responsabilidade do profissional que identifica o EA em **comunicar** a sua ocorrência ao profissional responsável de biovigilância do estabelecimento;
- Monitoramento e implementação de ações de controle (bloqueio e *recall*) relativas à transmissão de agentes infecciosos inesperados e emergentes, e de neoplasias em doadores e receptores, de forma rápida e efetiva;
- Manutenção dos registros e da documentação de investigação dos EA por 20 anos.

Confira a [RDC 339 na íntegra](#).

Para conhecer mais sobre Biovigilância acesse o portal da Anvisa: <http://portal.anvisa.gov.br/biovigilancia>

Lara Alonso da Silva

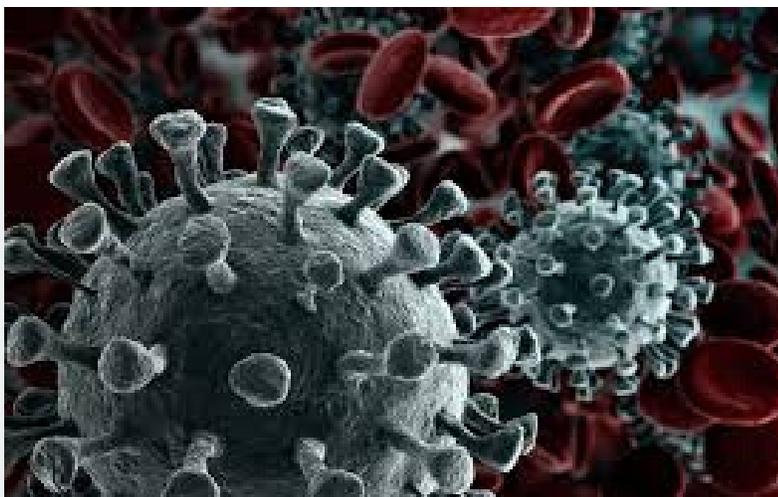
- Especialista em Regulação e Vigilância Sanitária - servidora da Gerência de Hemo e Biovigilância e Vigilância Pós-Uso de Alimentos, Cosméticos e Produtos Saneantes – GHBO
- Gerência Geral de Monitoramento de Produtos Sujeitos à Vigilância Sanitária – GGMON
- 5ª Diretoria - DIRE5
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa

PONTO EM PAUTA

COVID-19

por Patrícia França

Vírus emergentes e re-emergentes constantemente representam uma ameaça à saúde pública e o mais recente surto de pneumonia viral relembra e reforça a nossa vulnerabilidade diante destas infecções.



A pandemia de COVID-19 (**Corona Vírus Disease - 2019**) que estamos enfrentando teve início em meados de dezembro de 2019 na cidade Wuhan, na China, e se espalhou – até o momento – para 213 territórios (*dados da OMS*). No entanto, não é de hoje que os conhecemos. Os coronavírus (SARS-CoV-2) foram inicialmente descritos em 1966 como partículas pequenas (entre 65 e 125nm), esféricas ou pleomórficas, envoltas por um envelope constituído por uma bicamada lipídica que apresenta projeções de glicoproteínas virais em forma de espículas, que confere aparência semelhante à de uma coroa solar, sendo por isso denominados coronavírus (*Tyrrell e Bynoe, 1966; de Haan et al., 1998*). A estrutura seguinte ao envelope viral é o capsídeo, composto por uma matriz protéica. Os coronavírus possuem os maiores genomas (entre 26,4 e 31,7kb) dentre todos os vírus de RNA conhecidos (*Mousavizadeh e Ghasemi, 2020*).

Seu mecanismo de entrada na célula depende da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) que funciona como um receptor celular, principalmente nas células do trato respiratório inferior. Oito mutações foram encontradas nas proteínas de superfície, sugerindo que o SARS-CoV-2 pode evoluir rapidamente e escapar da resposta imunológica, adaptando-se a outros hospedeiros no futuro (*Wang et al., 2020*). Após a entrada nas células epiteliais alveolares, SARS-CoV-2 replica-se rapidamente provocando uma forte resposta imunológica que resulta em grande liberação de citocinas com danos no tecido pulmonar (*Li et al., 2020*).

Sendo assim, a COVID-19 pode se manifestar de forma leve, moderada, severa e crítica. Embora pacientes infectados possam ser assintomáticos, normalmente no início da doença, os sintomas mais frequentes são febre, fadiga, tosse seca, mialgia e dispneia, sendo congestão nasal, coriza, dor de garganta, diarreia, vômito e manifestações cutâneas sintomas menos comuns (*Wang et al., 2020; Recalcati, 2020; Joob e Wiwanitkit, 2020*). Pacientes com a virose moderada apresentam febre, sintomas respiratórios e características radiográficas. Aqueles considerados graves apresentam dispneia e/ou hipoxemia cerca de uma semana após o início da doença, e os pacientes críticos apresentam falência respiratória, choque séptico ou falência múltipla dos órgãos (*Wang et al., 2020*). Comorbidades como doença cardiovascular, diabetes, doença respiratória crônica, hipertensão e câncer são fatores de risco para a COVID-19, e pacientes sem comorbidades terão complicações dependendo da sua carga viral (*Wang et al., 2020*).



O período de incubação do SARS-CoV-2 é de 2 a 14 dias e todos os grupos de pessoas são considerados suscetíveis à doença, independentemente do sexo ou da idade. Pacientes com idade entre 30 e 79 anos correspondem a mais de 80% dos casos (*Wang et al., 2020; Kakodkar et al., 2020*). Até 11 de abril de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) relata quase 20 mil casos confirmados de COVID-19 e mais de 1.000 mortes somente no Brasil – de forma que o país ocupa décima quarta posição entre os mais afetados do mundo.

Sabe-se que complicações de doenças como SARS-CoV de 2002 e MERS-CoV são relevantes para grupos específicos da população, como as pacientes grávidas, que são mais suscetíveis à morbidade e mortalidade em casos de infecções virais de alta patogenicidade. Portanto, é altamente recomendado um monitoramento rigoroso de gestantes com suspeita de COVID-19 para que obstetras e outros profissionais de saúde reconheçam prontamente os sintomas e avaliem adequadamente a gravidade e o bem-estar materno e fetal (*Saccone et al., 2020*).

Não há evidências de que haja transmissão do vírus pelo sêmen ou secreção vaginal, porém a prática sexual constitui uma possível via adicional de contágio, uma vez que a relação sexual envolve contato próximo que, inevitavelmente, expõe os parceiros ao risco de contágio (*Patri et al., 2020*). As características clínicas e uma potencial transmissão vertical do COVID-19 em mulheres grávidas ainda é desconhecida: até o momento elas não diferem das pacientes com COVID-19 não grávidas. Apesar de alguns estudos reportarem nascimento de bebês com insuficiência respiratória, porém sem infecção por SARS-CoV-2, outros apontam que é provável que haja transmissão intrauterina (*Dong et al., 2020*). Acredita-se que complicações respiratórias em recém-nascidos possam ocorrer devido à prematuridade, às consequências da COVID-19 na própria gestante, ou ainda devido a processos biológicos ou infecções uterinas (*Chen et al., 2020; Liu et al., 2020; Khan et al., 2020*).

Nesse contexto, a Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida e a Rede Latinoamericana de Reprodução Assistida orientam que os tratamentos de fertilidade sejam feitos com precaução e bom-senso, evitando-se transferências embrionárias nesse momento (*SBRA e REDLARA*).

Patrícia Pinho de França

- Bióloga, mestre e doutora em Genética pela UFPR
- Delegada regional da PRONUCLEO (MG)
- Embriologista no Centro de Medicina Reprodutiva - Clínica Origen, Cegonha Medicina Reprodutiva e Clínica Santa Fértil (Belo Horizonte, MG)

PONTO EM PAUTA

PRONUNCIAMENTO SOBRE COVID-19

por Dra Hitomi Nakagawa



Nesses momentos que estamos passando, de verdades transitórias, em que gestores são obrigados à tomada de decisões dinâmicas e um dia ou uma posição podem definir o futuro de muitos, nós que lidamos com a perpetuação da espécie, sonhos, esperanças, produção científica, procedimentos eletivos na sua quase absoluta maioria, somos convocados a ter muito bom-senso.

Como forma de se conseguir uma pronta troca de informações e experiências frente ao período de alerta contra a pandemia do Covid-19, a Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida - SBRA e a Rede Latinoamericana de Reprodução Assistida - RedLara, juntamente com o Pronúcleo, abrimos um grupo de WhatsApp para interface dos profissionais que atuam na área.

A SBRA e a Redlara também publicaram um posicionamento conjunto baseado na realidade brasileira e em experiências internacionais refletidas nas diretrizes divulgadas pelas distintas entidades científicas. O perfil do nosso país não permite a enumeração de indicações de forma rígida e cada serviço tem a autonomia de definir os limites de sua atuação, restritos aos casos de urgência, como os oncológicos, de acordo com o seu contexto.

Acima de tudo, por mais ansiogênico que seja o período em termos de duração e perspectivas para as próximas semanas, temos a certeza de que tudo passará com reflexos indeléveis, destituídos de vaidades ou ideologias, sobre nossos valores e união.

Contem conosco!

Dra Hitomi Nakagawa

Presidente da Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida (SBRA)

Nota: Em 15 de abril a SBRA e a REDLARA publicaram nova nota conjunta contendo novas diretrizes para os tratamentos de reprodução assistida. Até o momento da publicação dessa revista, a Anvisa ainda não havia publicado atualização nda NT levando em consideração as novas diretrizes.

FALANDO EM ANDROLOGIA...

DARLETE MATOS



Detection of chlamydia infection within human testicular biopsies

Detecção de infecção por clamídia nas biópsias testiculares humanas

DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/dez169>

A infecção masculina por clamídia, embora pouco estudada, tem taxas similares às infecções femininas (*Cunningham and Beagley, 2008*), e por ser assintomática pode ser um risco à fertilidade futura pela possível associação com o aumento do dano ao DNA espermático e demais parâmetros seminais (*Gallegos et al., 2008; Moretti et al., 2009*).

Um grupo australiano, em estudo publicado na *Human Reproduction*, pesquisou se a clamídia seria encontrada nos testículos de homens inférteis. Eles investigaram a infecção em biópsias testiculares de homens com azoospermia não obstrutiva idiopática para tentar estabelecer se a infecção testicular estava associada à espermatogênese prejudicada e infertilidade masculina. Obtiveram as amostras de homens em tratamento de reprodução assistida que eram submetidos à extração de espermatozoide testicular para uso em ICSI (fresca, n=18) ou homens submetidos à biópsia testicular para diagnóstico da fertilidade (fixada, n=100).

As biópsias foram testadas para DNA específico da clamídia e proteína, utilizando PCR e abordagens imuno-histoquímicas, respectivamente, testando positivo em 16,7% das biópsias testiculares frescas e em 45,3% das biópsias testiculares fixadas, detecção considerada significativa, revelando evidências de alta prevalência de clamídia em homens inférteis assintomáticos e mostrando pela primeira vez que a *C. trachomatis* está presente no tecido testicular, podendo inclusive estar associada ao comprometimento espermatogênico.

Tais achados contribuem significativamente para o estudo da etiologia da infertilidade masculina idiopática, além de terem implicações na prática clínica em termos de detecção de infecção no testículo. Um teste específico de PCR e imunohistoquímica em homens inférteis pode ser um instrumento interessante no rastreio de clamídias em biópsias testiculares, permitindo orientação de terapias antibióticas que erradiquem a infecção, resultando em melhora da qualidade espermática e conseqüentemente dos resultados reprodutivos (*Wong et al., 1986 e Pajovic et al., 2013*). Entretanto, futuros estudos precisam ser feitos para melhor compreensão do mecanismo de dano dessa bactéria à fertilidade masculina, assim como abordagens para detecção, prevenção e tratamento de uma potencial causa evitável de infertilidade no homem.

Darlete Matos

- Bióloga especialista em Reprodução Humana e Embriologia Clínica
- Mestre em Reprodução e Sanidade Animal
- Embriologista na clínica Fertibaby, CE
- Membro do Comitê Nacional de Embriologia da SBRH
- Delegada Regional da PRONÚCLEO



Analysis of 122 triplet and one quadruplet pregnancies after single embryo transfer in Japan

Análise de 122 gravidezes triplas e uma quádrupla após transferência de embrião único no Japão

DOI: [10.1016/j.rbmo.2019.11.008](https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.11.008)

Sabemos que não é incomum a transferência única de embrião (SET) dar lugar a uma gravidez gemelar, quando ocorre divisão do embrião transferido, resultando em gêmeos monozigóticos (*Ikemoto et al., 2018*). Entretanto, no artigo aqui apresentado, o autor relata análise retrospectiva de 937.848 transferências com 274.605 gravidezes, com ocorrência de 122 gravidezes **trigemelares e uma quadrigemelar** após a realização de SET.

Infelizmente, o motivo dessas ocorrências não é evidenciado no estudo. Os autores relatam, entretanto, que embriões em estágio de blastocistos que passam por *assisted hatching* (AH), seja para biópsia ou por cultivo estendido para seleção de embriões, têm chances significativamente maiores de proporcionar uma gravidez múltipla; já blastocistos criopreservados teriam a mesma tendência, mas sem significância estatística.

De acordo com um segundo trabalho mencionado, a principal causa para a gravidez múltipla ainda é a divisão da massa celular interna (ICM) (*Mio e Moeda, 2008*). Essa divisão ocorreria durante a eclosão, no momento em que o embrião passa pela abertura na zona pelúcida (*Sutherland et al., 2019*).

A ausência de tecnologias como o *time-lapse* dificultariam a identificação de ICM múltiplas, e embriões com as células da ICM frouxas, como as de grau B ou C, podem ser mais susceptíveis a essa divisão da massa (*Otsuki et al., 2016*).

A gravidez gemelar tem inúmeros riscos para a mãe e para os bebês. Esta pergunta aparece diariamente nos consultórios: Qual a chance de ter gêmeos? Não quero uma gravidez gemelar! A resposta é: a chance é muito baixa, gira perto de 0,5% (*Derom et al., 1987; Imaizumi, 2003; MacGillivray, 1986*). Entretanto os procedimentos citados podem aumentar essa incidência.

O objetivo não é desestimular ou assustar o casal, mas sim explicar os motivos pelos quais tais procedimentos “artificiais” podem ter uma relação com o aumento dessa taxa, fazendo desse conhecimento uma ferramenta para tomada de decisão e orientação para o embriologista e para o casal respectivamente.

Vinícius Bonato da Rosa

- Biólogo especialista em Reprodução Humana
- Diretor de laboratório de Reprodução Humana da clinica Conceber - Curitiba -PR
- Membro do Comitê Nacional de Embriologia da SBRH
- Tutor do pecOnline pela REDLARA



FALANDO EM GENÉTICA...

BERNARDO MOURA

Controversies in ART: can the IVF laboratory influence preimplantation embryo aneuploidy?

Controvérsias em RHA: o laboratório de FIV poderia influenciar a aneuploidia embrionária pré-implantacional?

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.06.009>

No laboratório de fertilização *in vitro* existem cerca de 200 variáveis que podem influenciar o desenvolvimento embrionário e nós, embriologistas, as controlamos rotineiramente a fim de minimizar o estresse celular ao longo do cultivo e desenvolvimento embrionário, considerando a natureza sensível dos gametas e embriões. Essa revisão, de grande relevância, faz uma ampla análise dos principais fatores laboratoriais e os possíveis efeitos intrínsecos na qualidade e mosaicismos embrionário, baseada em publicações de modelos humanos e de animais.

ESTRESSE DO SISTEMA DE CULTIVO

É bem aceito que quanto menor o estresse celular, melhor o desenvolvimento embrionário e os resultados nos tratamentos de Reprodução Humana Assistida (RHA).

Os estressores celulares potenciais no laboratório de fertilização *in vitro* incluem vários fatores mecânicos e químicos (FIGURA 1). Alguns deles podem, por exemplo, comprometer o maquinário responsável pela separação e segregação adequada dos cromossomos durante a mitose, o que pode levar a erros mitóticos e pode se manifestar como mosaicismos no embrião pré-implantação.

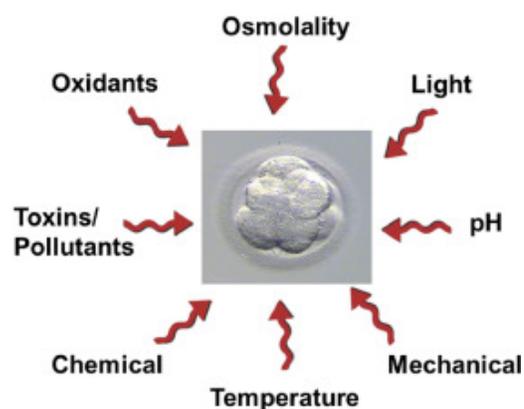


Figura 1

Meio De Cultivo

Atualmente os meios de cultivo comercializados no mercado - sequenciais ou contínuos ("single step") - oferecem consistentes taxas de desenvolvimento embrionário e resultados clínicos. Eles fornecem substratos metabólicos e antioxidantes para os embriões, mas seus componentes também podem degradar e criar estressores prejudiciais para as células.

Nessa revisão, o autor fez uma análise das publicações que compararam os meios e sistemas de cultivo. Entretanto, devido a divergências aparentes entre sistemas e meios, não foi possível concluir muito sobre a influência da composição dos meios de cultivo na taxa de aneuploidia. Apesar de uma sugestão de resultados ligeiramente melhores com cultivo contínuo, a forma que o meio parece influenciar essas taxas mais diretamente é pelo seu pH.

pH

O pH do meio de cultura (pHe), juntamente com os efeitos dos níveis de bicarbonato e/ou CO₂, pode afetar o desenvolvimento embrionário (Swain e Pool, 2009; Quinn, 2012; Swain 2012, 2015). Oócitos denudados, embriões em estágio inicial e embriões criopreservados / aquecidos têm uma capacidade reduzida de regular seu pH interno (pHi) e podem ser mais suscetíveis a flutuações no pHe.

Com pHe inadequado, o embrião pode ser estressado, em parte, pelo impacto no pHi, que pode afetar o metabolismo e outros processos intracelulares, como por exemplo a função do fuso mitótico do embrião e possivelmente a dinâmica cromossômica. Dados preliminares sugerem um possível vínculo, mas variáveis confusas impedem qualquer evidência conclusiva.

Oxigênio

Vários ensaios clínicos randomizados prospectivos demonstram um benefício no uso de oxigênio reduzido (cerca de 5%) durante todo o período de cultivo dos embriões *in vitro*, em relação aos níveis atmosféricos (cerca de 21%), incluindo impacto positivo no nascimento (Kasterstein et al., 2013; Meintjes et al., 2009; Waldenstrom et al., 2009).

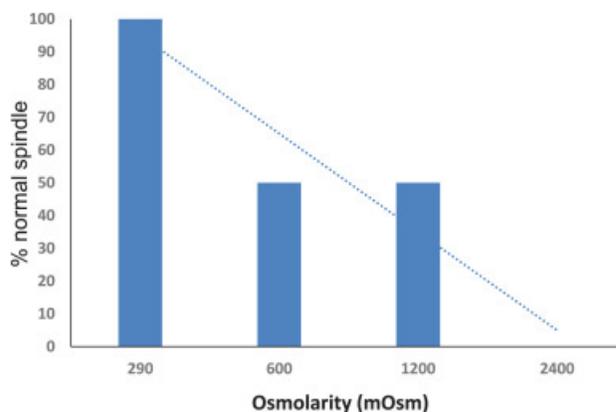
Em um modelo de camundongo, o cultivo em alta concentração de oxigênio (21%) produziu taxas significativamente mais altas de erros cromossômicos (Bean et al., 2002). Curiosamente, um número significativo de laboratórios parece ainda utilizar alta concentração de oxigênio no cultivo de embriões (Christianson et al., 2014), o que poderia ajudar a explicar as grandes variações de aneuploidia relatadas entre as clínicas.

Como o oxigênio elevado pode afetar a aneuploidia embrionária não está totalmente claro. O impacto de espécies reativas de oxigênio, metabolismo alterado ou outro estressor intracelular podem afetar a função dos principais mecanismos reguladores envolvidos na mitose. Pesquisas contínuas sobre o oxigênio ultrabaixo ou concentrações diferenciais de oxigênio durante o cultivo embrionário podem fornecer mais informações sobre o possível impacto dos níveis de oxigênio na mitose (Kaser et al., 2018; Morin, 2017; Morin et al., 2017).

Osmolaridade

A osmolaridade do meio de cultivo é um estressor que possui consequências no desenvolvimento embrionário (Baltz e Tartia, 2010; Swain et al., 2012). Visualmente, o impacto da osmolaridade é mais aparente no processo de vitrificação, no qual podemos observar que a célula "murcha" e depois se expande novamente. Quando realizada a exposição controlada, gametas e embriões podem lidar com determinadas mudanças de osmolaridade. No entanto, em condições não controladas ou por períodos prolongados, o impacto negativo se torna aparente.

A osmolaridade (assim como o pH) do meio de cultivo pode ser alterada inadvertidamente durante procedimentos que possibilitem a evaporação, como a preparação de placas e o tempo de cultivo (Swain et al., 2012). O uso de cultura ininterrupta e incubadoras não-umidificadas, incluindo sistemas de timelapse, pode aumentar a evaporação (Fawzy et al., 2017; Swain et al., 2016).



Nesse caso, o tipo de placa e o volume do meio, juntamente com o tipo e quantidade de óleo, são fatores críticos para evitar a evaporação e o aumento da osmolaridade (e do pH) prejudicial ao longo do tempo (Carpenter et al., 2018; Swain, 2018; Swain et al., 2016; Olds et al., 2015).

Quanto à influência na taxa de aneuploidia, foi demonstrado que o estresse osmótico pode afetar o fuso meiótico nos oócitos humanos (Mullen et al., 2004). Se um mecanismo semelhante estiver presente no fuso mitótico do embrião, isso poderá impactar a dinâmica cromossômica e a aneuploidia/mosaicismo. No entanto, esse mecanismo ainda não foi demonstrado durante o desenvolvimento do embrião.

Temperatura

Sabe-se que o resfriamento do oócito pode causar desestruturação do fuso meiótico (Almeida e Bolton, 1995; Bernard et al., 1992; Wang et al., 2001; Zenzes et al., 2001). No entanto, o fuso é uma estrutura dinâmica, e com bons substratos e tempo adequado sua reestruturação pode ocorrer com êxito.

Por outro lado, nenhuma correlação clara entre a temperatura e os erros mitóticos do embrião é aparente. Inúmeros fatores podem afetar a estabilidade térmica e o isolamento da temperatura como variável, e a exploração de sutis impactos na dinâmica cromossômica se torna difícil.

PLACAS DE CULTIVO E PLÁSTICOS

Os bisfenóis são um ingrediente comum nos plásticos que podem ser liberados e transmitir efeitos estrogênicos potencialmente prejudiciais - daí a importância do teste de toxicidade dos consumíveis para um bom controle de qualidade. Existem vários relatos sobre o impacto negativo do bisfenol A (BPA) na progressão meiótica de oócitos e na interrupção do fuso meiótico (*Campen et al., 2018; Can et al., 2005; Machtinger et al., 2013*).

Outros contaminantes ou estressores ambientais dos plásticos utilizados no laboratório ainda podem afetar a estrutura do fuso e a dinâmica cromossômica. Assim, o impacto de materiais de consumo comuns de laboratório deve continuar a ser rastreado quanto à toxicidade e possível impacto negativo na aneuploidia/ mosaicismo e no potencial de desenvolvimento de embriões *in vitro*.

OUTROS FATORES

Variações no método usado para obter células trofodérmicas na biópsia, número e localização das células coletadas, rigor de lavagem das células antes do carregamento, tempo e temperatura de retenção das células entre a biópsia e a análise genética podem potencialmente afetar a integridade do DNA e possivelmente a fidelidade dos resultados do teste genético pré-implantacional de aneuploidias (PGT-A).

Assim, o processo de obtenção de células para análise pode ser uma causa tão provável para as diferenças observadas entre os laboratórios quanto as condições usadas para o crescimento dos embriões. Embora a população de pacientes, os protocolos de estimulação e a influência do laboratório de genética não devam ser negligenciados, um rigoroso controle de qualidade laboratorial poderia minimizar a variabilidade na aneuploidia/ mosaicismo entre as instalações de fertilização *in vitro* (*Laoannou et al., 2018; Katz-Jaffe et al., 2017*).

CONCLUSÃO

É importante observar que, embora cenários plausíveis de causa e efeito possam ser postulados sobre como as variáveis dentro do sistema de cultura de embriões podem afetar a mitose embrionária, faltam evidências concretas. Estressores celulares como pH, osmolaridade e temperatura podem desempenhar um papel importante nas divisões mitóticas e, se não forem bem controlados, o estresse sutil de cada um pode atuar de maneira cumulativa para impactar negativamente a fidelidade da segregação cromossômica. Certamente, fatores dentro do sistema de cultura que controlam o desenvolvimento embrionário devem ser considerados e a pesquisa contínua deve se concentrar em fatores dentro do laboratório de fertilização *in vitro* que podem levar ao estresse celular e possíveis erros mitóticos. No entanto, o impacto da técnica de laboratório (abordagem de inseminação, técnica de biópsia e outros potenciais estressores de manuseio), bem como a influência do laboratório de genética de referência, não devem ser menosprezados.

Bernardo Moura

- Biomédico e Médico Veterinário
- Embriologista Especialista em Biópsia Embrionária e Gestão Laboratorial
- Sócio-Fundador e Diretor da EmbrioLógica Consultoria
- Diretor da Associação Brasileira dos Embriologistas - PRONÚCLEO (Gestão 2019 a 2021).

Nosso trabalho é garantir que você tenha os **melhores resultados sempre.**

Os meios de cultura Cook Medical™ já são reconhecidos pela sua qualidade e eficiência.

Por serem suplementados, melhoram o processo de qualidade no laboratório.



Os meios são sequenciais e reproduzem melhor o **ambiente uterino**, oferecendo aos gametas e embriões os nutrientes que eles precisam em cada estágio de desenvolvimento.



Nossos processos de qualidade e nossa rastreabilidade térmica **garantem** que os meios de cultura mantenham sua temperatura desde a fábrica até o seu laboratório.

Trabalhamos de forma transparente e nosso compromisso é assegurar a eficiência dos nossos produtos.

Obtenha os melhores resultados em seu laboratório com os meios de cultura sequenciais Cook Medical™. A segurança que você precisa com a qualidade que você já conhece.

Handle
FERTILIDADE

handle.com.br
(16) 3456-1400



"Os embriologistas (...) esperam poder prosseguir na missão para a qual se prepararam tanto: a capacidade de gerar gestações através de fertilizações in vitro!"

Com a palavra...

Raquel Alvarenga

A PANDEMIA DE COVID-19 E A REPRODUÇÃO ASSISTIDA NO BRASIL

À medida que a doença do novo Coronavírus SARS-CoV-2 (COVID-19) se espalha pelo mundo e pelo Brasil, os profissionais de saúde, os responsáveis pelas políticas de saúde e o público em geral procuram conselhos sobre como orientar pacientes que estão passando ou que planejam se submeter ao tratamento da infertilidade. O primeiro caso confirmado de Covid-19 no Brasil foi em 26/02/2020. Desde então o avanço dos casos é exponencial. Medidas de contingência da pandemia tem sido veiculadas diariamente (SBRH, 2020).

A pandemia apresenta às clínicas de Reprodução Assistida e "tentantes" uma série de desafios. Conhece-se muito pouco sobre os efeitos da Covid-19 na fertilidade, tratamentos de Reprodução Assistida e gestação. Os dados iniciais são tranquilizadores, mas o número de casos relatados ainda é pequeno. Vale aqui a observação do Princípio da Bioética Precaução - "a garantia contra os riscos potenciais que, de acordo com o estado atual do conhecimento, não podem ser ainda identificados" (Declaração do Rio/92).

A Anvisa (NOTA TÉCNICA N° 12/ 2020) ratificou o posicionamento das sociedades científicas - SBRH e SBRA - e em 31/3/2020 orientou o adiamento de qualquer tratamento de Reprodução Humana Assistida até que a situação no país esteja controlada.

Foram excetuados os casos oncológicos e outros em que o adiamento possa causar danos ao paciente. Conforme orientações da própria SBRH, os casos individuais devem ser discutidos com o médico assistente, uma vez que existem situações especiais que devem compor a análise risco-benefício da realização das técnicas de Reprodução Humana Assistida. Esta exceção vem trazendo muita dúvida, e equipes e clínicas a interpretam de diversas maneiras.

Com a determinação do isolamento social e orientações das sociedades (SBRA e SBRH) e regulamentações da Anvisa, as clínicas de reprodução estão enfrentando uma série de desafios logísticos: algumas clínicas trabalham com revezamento, outras suspenderam as atividades, deram férias aos funcionários, algumas demitiram e muitas reduziram os salários dos embriologistas e outros funcionários das equipes.

Muitas pacientes receberam mal a notícia de não poder realizar o tratamento, na maioria das vezes planejado durante anos. As ansiedades dos pacientes são compreensíveis. Surge então a questão: por quanto tempo o tratamento deve ser adiado? Se adiarmos todos os tratamentos, as clínicas de todo o Brasil terão dificuldade em lidar com os compromissos financeiros. Uma interrupção de mais de 3 meses pode, de fato, prejudicar as chances de concepção de algumas pacientes. Atrasar o tratamento, fechando as clínicas, teria muitos outros impactos, incluindo pressão financeira e impacto emocional com colapso psicológico dos pacientes mais susceptíveis.

Nenhuma clínica pode fechar completamente. O trabalho continua nos bastidores, com o controle de qualidade, manutenção dos equipamentos, em especial dos tanques de armazenamento, gestão de contratos e consentimentos, relatórios anuais e validações. É também preciso manter em funcionamento o serviço de preservação de fertilidade para pacientes com câncer, casos estes que não podem esperar.

NOTA (atualização): Em novo [posicionamento conjunto](#) (15 de abril), a SBRA e a REDLARA **recomendam que ciclos de reprodução assistida possam ser realizados sob juízo do profissional assistente**, em decisão compartilhada com os usuários do serviço, de forma personalizada, fundamentados e bem documentados, com precaução e bom-senso, evitando-se transferências embrionárias neste momento.

Para os embriologistas, um momento de grande apreensão. Dependentes da decisão dos médicos que indicam os tratamentos e das recomendações das sociedades e órgãos regulamentadores, são expectadores do quadro que se desenrola.

No momento que escrevemos, ainda não atingimos uma estabilização do número de casos de COVID-19 e os dados sofrem o viés de uma testagem muito baixa no Brasil. Os números podem ser muito maiores. Os embriologistas, em conjunto com as

equipes das clínicas de Reprodução Assistida, esperam que num futuro breve possam prosseguir na missão que escolheram, para a qual se prepararam tanto: a capacidade de gerar gestações através de fertilizações *in vitro*! E que após esta surpreendente pausa provocada pela pandemia, possamos reconstruir uma nova realidade de atitudes, ações, prioridades, justiça, que se reflitam em um atendimento de excelência técnica, mas também de grande comiseração e amor pelos casais que buscam o sonho de ter um filho.

Rotina Mínima nos Laboratórios de Reprodução Assistida (BCTG's)

Nestes tempos de quarentena, uma pergunta não quer calar: o que faz o(a) embriologista, na suspensão total ou drástica diminuição de ciclos em andamento? Considerando o novo pronunciamento da SBRA, para aqueles que ainda não retomarão por completo suas rotinas normais, listamos aqui algumas atividades que não podem ser interrompidas e outras que são executadas com preterição - já que no dia-a-dia normal nos preocupamos principalmente com a execução dos procedimentos de laboratório dos ciclos em andamento -, bem como sugerimos outras atividades que podem ser realizadas para aproveitar a ociosidade causada pela parada dos ciclos devido à pandemia.

O momento se apresenta como uma boa oportunidade para organizar o laboratório e deixar tudo pronto para o retorno das atividades.

ATIVIDADES DE MANUTENÇÃO

Estas atividades devem ser realizadas continuamente, visto que sua interrupção pode causar danos permanentes aos equipamentos, perda de meios de cultura, contaminações, entre outros prejuízos:

- Geladeira: limpeza, manutenção e controle da temperatura.
- Incubadoras: Limpeza, troca da água, esterilização das bandejas, controle dos gases e temperatura, troca de filtros, controle do pH, higienização.
- Cilindros de gás: controle diário, controle de estoque.
- Manutenção dos tanques de nitrogênio: controle 2x por semana, compra de nitrogênio e sua reposição.
- Capelas de fluxo laminar e áreas limpas: manutenção, troca de filtros.

ATIVIDADES ADMINISTRATIVAS

- Controle de estoque interno do laboratório
- Levantamento e atualização de dados laboratoriais
- Auditorias Internas, de acordo com plano de gestão de qualidade

ATIVIDADES DE CONTROLE DE QUALIDADE

- Controle diário de temperatura, umidade etc
- Validações e revalidações de processos críticos
- Revisão e elaboração de POP's

ATIVIDADES DE EDUCAÇÃO CONTINUADA

- Atividades de reciclagem por *webinar*
- Cursos *on-line*
- Elaboração de trabalhos/resumos pra congressos

Enfim, não é surpresa pra nós, embriologistas, que nossas atribuições parecem não ter fim. Estamos sempre correndo contra o tempo, para cumprir prazos dos relatórios anuais, da Anvisa, dos congressos.

Esta pausa compulsória se apresenta como uma oportunidade para colocar a casa em ordem. Voltaremos eficientes como nunca!

Boa sorte a todos!

Raquel de Lima Leite Soares Alvarenga BSc, MSc., PhD

- Doutora em Biologia Celular pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG);
- Doutorado Sanduíche pela Université de Rennes 1, França;
- Mestre em Morfologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG);
- Especialização em Embriologia pelo CRBio-4;
- Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG);
- Especialista em Embriologia Clínica e Diretora em Fertitech - Tecnologia em Reprodução Assistida;
- Embriologista Sênior e Sócia-proprietária em Cegonha Medicina Reprodutiva;
- Membro do comitê de Ética do PRONÚCLEO.

Fique de olho

Webinars e plataforma com acesso liberado:

Cooper Surgical

<https://fertility.coopersurgical.com/global-education-and-webinar-series/>

ESHRE (e-campus)

<https://www.eshre.eu/ecampus>

Fórum SBRH

<https://www.youtube.com/channel/UCZWxAw-wSRLrkonFxzDIb1A>

Igenomix Foundation

<https://igenomixfoundation.com>

IVF meeting

<http://ivfmeeting.com/schedule.html>

IVF-worldwide

<https://webinars.cme-congresses.com>

<https://www.ivfphysicianed.com>

Vitrolife Academy

<https://www.vitrolife.com/academy/educate-yourself/>

De olho no Instagram:

PRONÚCLEO

@pronucleo.com.br

Chromosome Medicina Genômica

@chromosome_medicina_genomica

Embriológica

@embriologica

Nota: devido ao momento pelo qual estamos passando, considerem que alguns eventos podem ser cancelados ou ter sua data alterada. Em tempo, observamos que o congresso anual da ESHRE esse ano será *on-line*. Fiquem ligados também no evento da PRONÚCLEO, a acontecer no dia do embriologista (25/07) - em breve, mais informações!



Associe-se!

Diretoria PRONÚCLEO

Biênio 2019-2021

PRESIDENTE

LUIZ MAURO OLIVEIRA GOMES

PRIMEIRO SECRETÁRIO

PHILIP WOLF

PRIMEIRO TESOUREIRO

BERNARDO RODRIGUES DE MOURA

CONSELHO FISCAL - TITULARES

BEATRIZ MATTOS SILVA
JACIRA RIBEIRO CAMPOS
SARAH NACHEF

VICE PRESIDENTE

RENE EDUARDO BUSO

SEGUNDA SECRETÁRIA

ANA CRISTINA ALLEMAND MANCEBO

SEGUNDA TESOUREIRA

ANA LUISA MENEZES CAMPOS

CONSELHO FISCAL - SUPLENTES

ANA CLARA ESTEVES
BRUNA CAMILLO DE BARROS
LIA PONTES MORAIS

Contato PRONÚCLEO: Diana Caroline Bastos
contato@pronucleo.com.br ou (21) 98280-7160 (WhatsApp)

*Gostou do nosso design? Entre em contato com Felype Wanzeller através do e-mail
felypewanzeller@gmail.com ou (61) 99579-0176 (WhatsApp).*

APOIO

Handle