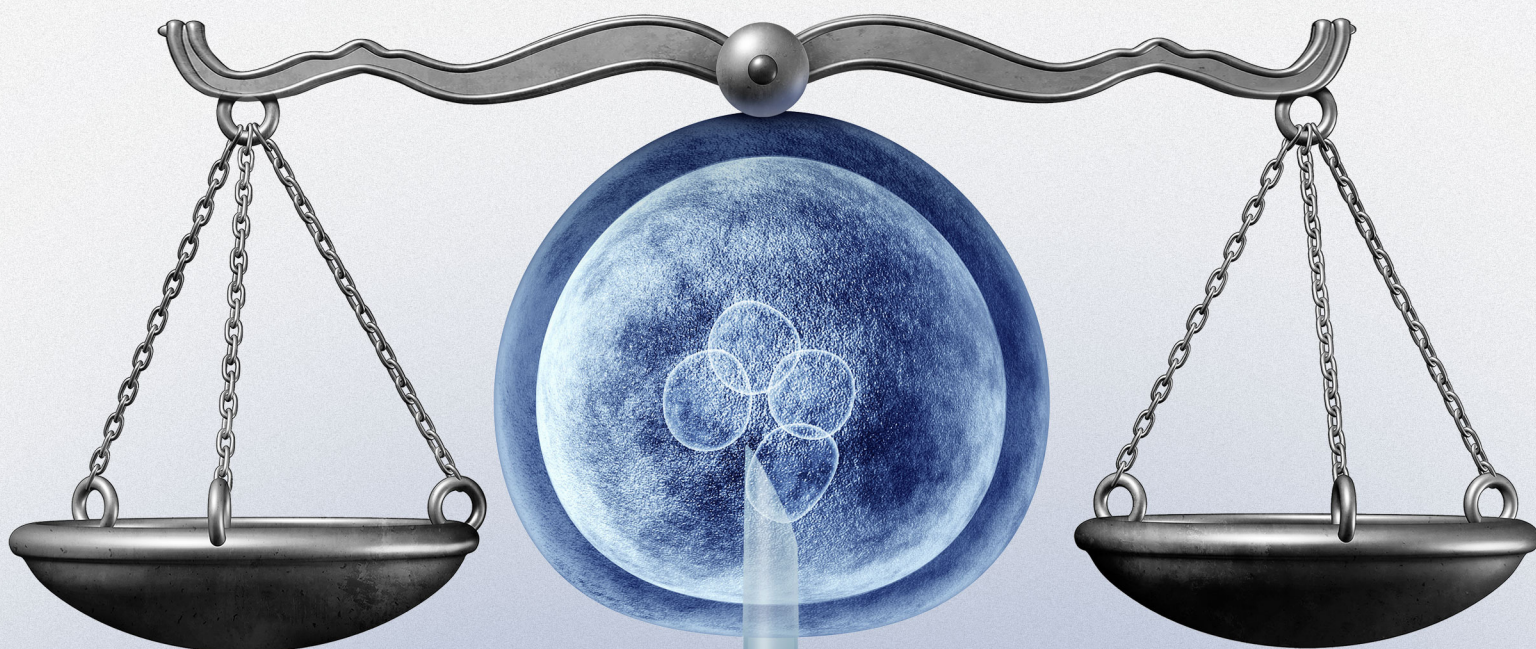


revista digital

PRONÚCLEO



Falando em...

- Influência do tempo de abstinência ejaculatória nos parâmetros seminais
- Transferência de embriões monopronucleados
- PGTs - Testes genéticos pré-implantacionais

Assuntos Regulatórios

Consulta pública - Nova RDC ANVISA

Com a Palavra

Amanda Vitorino: KPIs - Indicadores-chave de qualidade

Ponto em Pauta

Abandono de gametas e embriões

Nota da editora



Iniciamos mais um ano, já de forma desafiadora! Apesar das dificuldades, lembremos que todo desafio oferece uma oportunidade.

Reflexão feita, gostaria de ressaltar algumas novidades em relação à nossa revista. A partir desse ano, para que o projeto receba a atenção e dedicação que merece, as publicações passarão a ser trimestrais - e não mais bimestrais.

Além disso, ao tempo em que agradeço a participação da profissional Camila Pompeu ao longo do ano de 2020, dou as boas vindas às mais novas participantes do corpo editorial, duas queridas e muito admiradas colegas: Paula Fontoura na comissão científica e Fernanda Peruzzato na edição. Com certeza, suas contribuições serão de grande valor para a nossa revista!

Agradeço também à Merck, que estendeu o apoio antes dado à Associação agora também à nossa revista. Muito obrigada!

Também gostaria de reforçar o convite para se associarem e/ou renovarem suas associações no nosso site, bem como convidarem os colegas de profissão a fazerem o mesmo. Vale lembrar que uma das vantagens da associação é o acesso e possível convite a compor conteúdo para nossa revista.

Permaneço à disposição para receber críticas e sugestões no e-mail anaclaracestes@gmail.com. Vamos crescer sempre juntos, pois juntos somos mais fortes!

CORPO EDITORIAL

EDITORA-CHEFE



Ana Clara Esteves

CONSELHO EDITORIAL



Bernardo Moura



Patrícia
França



Fernanda
Peruzzato



Ana Beatriz
Zavan Marques

EDITORAS ASSOCIADAS

COMISSÃO CIENTÍFICA



Ana Paula
de Souza
Aguiar



Bia Mattos



Brummel
Rodrigues
Magalhães



Paula
Fontoura



Darlete
Matos



Mariana de
Nadai



Patrícia
França



Rita Figueira

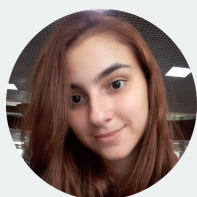


Thais
Serzedello
de Paula



Vinícius
Bonato da
Rosa

ASSESSORIA DE ARTE, EDIÇÃO E DIAGRAMAÇÃO



Diana Caroline
Bastos



Juliana
França



Ana Beatriz
Zavan Marques

APOIO





PRONÚCLEO

Associação Brasileira
de Embriologistas em
Medicina Reprodutiva

Nesta edição

Palavra da Presidência	7
Assuntos Regulatórios	8
Ponto em Pauta	11
Falando em Andrologia	14
Falando em Embriologia	20
Falando em Genética	27
Com a Palavra	33
Referências	37

COLABORADORES

AMANDA BEGATTI VICTORINO MONTEIRO

- Biomédica com habilitação em Reprodução Humana pela UNIFESP;
- PhD em Ciências pela UNIFESP;
- Coordenadora de Embriologista do Fleury Fertilidade - Centro de Medicina Reprodutiva, Grupo Fleury - SP.

JOÃO PEDRO JUNQUEIRA CAETANO

- Diretor Médico do Grupo Huntington/Pró-Criar, Belo Horizonte;
- Professor Convidado da Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais;
- Mestrado e Doutorado pela UFMG;
- Ex-Presidente da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana - SBRH.

JULIANE FERNANDES QUEIROZ

- PhD em Direito Privado com ênfase em Direito Biomédico pela Università degli Studi di Torino - Itália;
- Doutora em Direito Civil pela UERJ;
- Mestrado e Especialização em Direito Civil pela UFMG;
- Bacharelado em Direito pela PUC Minas;
- Professora de Graduação e Pós Graduação da PUC Minas;
- Coordenadora de curso de Especialização no IEC PUC Minas;
- Consultora jurídica em Reprodução Humana Assistida;
- Autora de livros na área de Direito Civil, Bioética, Aspectos jurídicos da Reprodução Humana Assistida e Direito dos idosos.

NURIA SOLER BALAGUER

- Bacharelado em Biologia na Universidade de Alicante (2014);
- Especialização em Biotecnologia da Reprodução Humana Assistida na Universidade de Valencia (2017);
- Estágio de pesquisa na FISABIO (Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunitat Valenciana), Elche (Espanha), 2014; CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique), Marselha (França), 2015; IIS La Fe (Instituto de Investigación Sanitaria La Fe), Valencia (Espanha), 2016; Oxford University, Nutfield Department of Women's & Reproductive Health, Reproductive Medicine & Genetics, Oxford (Reino Unido), 2020;
- Doutoranda em Medicina na Universidade de Valencia;
- Bolsa de pesquisa pré-doutorado no Generalitat Valenciana;
- Embriologista no IVIRMA Valencia;
- Membro da ASEBIR (Asociación Española de Biología de la Reproducción) e SEF (Sociedad Española de Fertilidad).

COLABORADORES

PAULA FONTOURA

- Graduação em Ciências Biológicas (UERJ);
- Especialização em Reprodução Humana Assistida (Instituto Sapientiae/SP);
- Especialização em Embriologia Clínica (REDLARA/Montevidéo) - em andamento;
- Mestrado em Ciências (UERJ);
- Doutorado em Ciências (UERJ);
- Consultora de Produtos na empresa Intermedical (RJ);
- Professora do curso de Técnicas em Reprodução Assistida (Banco de Sêmen do Rio de Janeiro - RJ);
- Bióloga Diretora do Banco de Sêmen do Rio de Janeiro (RJ).

SIDNEY VERZA JR

- Biólogo pela PUC-CAMPINAS;
- Pós-graduado pelo Instituto Sapientiae;
- Certificado de Embriologista Clínico pela RED-LARA;
- Embriologista sênior da Clínica ANDROFERT, Campinas, SP.



PALAVRA DA PRESIDÊNCIA

Contamos com a presença da andrologista Paula Fontoura para falar sobre tempo de abstinência antes da coleta de espermatozoides; para falar em genética, contaremos com o embriologista Sidney Verza Jr discutindo os tipos de testes genéticos pré-implantacionais. Além disso, a embriologista Amanda Vitorino expõe seu ponto de vista sobre a importância dos KPIs. Na seção Falando em Embriologia teremos a participação internacional da Dra Nuria Soler discutindo sobre a transferência de embriões provenientes de zigotos monopronucleados.

Olá, colegas embriologistas.

Chegamos a 2021, e nossa primeira edição da revista Pronúcleo já está aqui. Após um ano conturbado, seguimos em estado de alerta, esperando ansiosos pela volta da nossa realidade (se é que voltará). Enquanto isso, continuaremos nossos esforços para trazer conteúdo de qualidade aos embriologistas e trabalhando firme para o crescimento da nossa sociedade.

Nesta edição, o Dr João Pedro Junqueira irá falar sobre um assunto que já está nos *trending topics* da reprodução assistida neste ano: a nova RDC da ANVISA. Abordaremos também um tema importantíssimo e pouco discutido entre nós que é o abandono de embriões criopreservados, com a palavra da Dra. Juliane Fernandes.

E continuando com as atividades do Pronúcleo para este ano, estamos finalizando o programa de certificação de embriologistas, repetiremos o nosso encontro online dos embriologistas e estaremos presentes nos principais congressos nacionais, além de outras ações que virão por aí. Fiquem atentos às nossas redes sociais que, em breve, divulgaremos mais detalhes das nossas atividades.

Em tempo, para nossos associados é hora de renovar as anuidades, e para quem ainda não é sócio, é hora de se associar!

Esperamos que desfrutem da leitura da 6ª edição da nossa revista.

Um grande abraço a todos!

ASSUNTOS REGULATÓRIOS



João Pedro Junqueira Caetano

CONSULTA PÚBLICA - NOVA RDC ANVISA

A atual resolução RDC 23 foi publicada há 10 anos, em 30 de maio de 2011, e muita coisa evoluiu na Medicina Reprodutiva nesta década, fazendo-se necessário discutir a necessidade de atualização da mesma. Assim, propor uma atualização e colocar em consulta pública é louvável. Desta forma, todos os profissionais envolvidos podem e devem se manifestar a partir da proposta de atualização enviada pela ANVISA.

Outro ponto importante é entender que o objetivo principal da regulamentação é a preocupação da ANVISA com a segurança e a qualidade dos produtos e serviços oferecidos aos pacientes, e que a leitura da resolução deve ser feita neste sentido, e não com uma visão punitiva. Aqui faço uma crítica construtiva, pois muitas vezes ao longo destes 10 anos de RDC 23 vimos algumas vistorias das vigilâncias locais (VISAs) inadequadas ou despropositadas, algumas vezes gerando embates desnecessários entre fiscais e clínicas/médicos/embriologistas.

Esses eventos geraram reações bastante negativas em relação à aplicação da resolução. Penso que as VISAs precisam agir com mais uniformidade e equidade. Como exemplo, podemos citar algumas clínicas que são vistoriadas com um grau altíssimo de exigência pela VISA municipal, e já as clínicas situadas em municípios vizinhos são vistoriadas pela VISA Estadual em um grau de exigência muito inferior, gerando diminuição na segurança e na qualidade dos serviços oferecidos aos pacientes.

Vejo nesta atualização uma oportunidade de pacificação e de mais bom senso nas futuras vistorias. Devemos pensar no que é melhor para nossos pacientes e para nós mesmos - profissionais envolvidos -, e não simplesmente pensarmos que a resolução existe para atrapalhar ou impedir o nosso trabalho. Do outro lado, a resolução procura também proteger os pacientes da falta de segurança e qualidade de alguns eventuais serviços que não atendam aos critérios mínimos de funcionamento.

Assim, após uma leitura atenta, observamos que a primeira metade da proposta trata da gestão e garantia da qualidade e da segurança dos processos e procedimentos envolvidos, detalhando de forma muito didática não só o funcionamento, mas também orientando a implantação e manutenção de um serviço de reprodução assistida. Minha visão é de que os embriologistas têm e terão um papel cada vez mais importante na gestão dos serviços de reprodução assistida e que, ao contrário do que muitos pensam, as novas tecnologias não retirarão espaço dos embriologistas, e sim justamente o contrário.

"O objetivo principal da regulamentação é a preocupação com a segurança e a qualidade dos produtos e serviços oferecidos aos pacientes"

Entretanto, pode haver aumento final nos custos financeiros dos Serviços de Reprodução Assistida, e mesmo a inviabilidade financeira de alguns pequenos serviços funcionarem. Pela nova resolução, profissionaliza-se a gestão, aumenta-se muito a qualidade e segurança dos processos e procedimentos e ao final, diminuem-se os espaços para serviços com menor capacitação humana e estrutural. Isso se considerarmos, claro, que a resolução seja seguida nacionalmente segundo os critérios estabelecidos.

Alguns exemplos envolvidos no aumento do custo final do tratamento seriam:

- Implementação de um Sistema de Gestão da Qualidade e sua manutenção (Art. 11);
- Implantação de um sistema de Gestão de Documentos (Art. 13);
- Controle microbiológico de ambientes e equipamentos críticos (Art. 37);
- Refrigeradores, congeladores e *freezers* não podem ser equipamentos de uso doméstico (Art. 54. Parágrafo único);
- Possuir, no mínimo, duas incubadoras (Art. 56. Parágrafo único);
- Ter um responsável pelas ações de Garantia da Qualidade, com formação para tal (Art. 59. item III);
- Ter pelo menos dois profissionais atuantes no laboratório: um responsável por oócitos e embriões e outro responsável pelo sêmen (Art.59. itens V e VI);
- Aumento no número de contêineres de nitrogênio: dispor de um contêiner para cada agente infeccioso positivo (Art. 83. Inciso 3º).

Em contrapartida - e de forma sensata -, elimina-se a necessidade de um fluxo laminar exclusivo para o posto de ICSI (Art. 77. Parágrafo único), mas este item serviria para novos serviços.

"Os embriologistas têm e terão um papel cada vez mais importante na gestão dos serviços de reprodução assistida"

Gostaria de abordar alguns pontos específicos da resolução: um deles é a questão das sorologias para uso próprio e para doação. Seguindo-se como está a redação, inviabiliza a doação futura de oócitos e embriões pois os critérios sorológicos de pacientes deveriam seguir os critérios de triagem clínica e laboratorial de doadores, incluindo, além das sorologias básicas, o *Zika vírus*, *Neisseria* e *Chlamydia*, bem como cariótipo e traços falciformes. Uma alternativa, caso os serviços optem por oferecer eventuais doações futuras, seria seguir com as sorologias descritas para doação de oócitos e espermatozoides aplicadas a todos os pacientes, e realizar o cariótipo e traço falciforme no futuro somente se houver o desejo de doação.

O outro é uma questão muito delicada que se enquadra muito mais como uma recomendação legal: o descarte de embriões. Pela resolução do Conselho Federal de Medicina (CFM) poderíamos descartar os embriões após 3 anos de congelamento, caso não haja mais desejo de manutenção; já a ANVISA estipula que as células devem ser mantidas por 20 anos, mas legalmente, pelo código do consumidor, ainda não podemos fazê-lo. Juridicamente não podemos/deveríamos descartar embriões (e gametas) sem autorização, mesmo os abandonados, por mais injusto que pareça, pois corremos o risco de sofrer um “processo civil importante”. Ainda precisamos de uma chancela de uma instância jurídica superior. Fiquem atentos a esta questão!

Com relação ao SisEmbrio, temos uma revolução, um grande salto no acompanhamento nos dados de produção, saindo do simples relato de produção de embriões e taxas de fertilização para um rol muito mais completo de informações. Agora, com o novo SisEmbrio, haverá um controle muito mais real e acurado sobre o número e tipos de ciclos de reprodução assistida realizados no Brasil, e ainda um acompanhamento sobre a qualidade dos serviços prestados. Aqui se define mais um espaço de participação ativa para os embriologistas e de grande responsabilidade para todos os envolvidos em reportar os dados.

Ao final da proposta encontra-se uma seção exclusiva para a importação de gametas, embriões e tecidos germinativos. O processo deixa de ser individual: atualmente, deve ser criada uma operação de importação para cada amostra a ser importada - o que gera uma burocracia fenomenal; a partir da atualização, o processo será entre pessoas jurídicas. Isto permitirá que uma clínica importe um número maior de amostras e informe à ANVISA de sua utilização. Além disto, institui o transporte destas amostras por transportadoras autorizadas, e acaba com o transporte individual e amador das amostras (modalidade de bagagem acompanhada).

Novos espaços e nichos se abrem! É um grande avanço, que deve ser comemorado. ■

Ponto em

Pauta

Abandono de Embriões e Gametas

por Juliane Fernandes Queiroz

Abandono de Embriões e Gametas

Juliane Fernandes Queiroz

O assunto em questão diz respeito aos embriões e gametas criopreservados e deixados ao abandono nas clínicas de Reprodução Humana. Os gametas – espermatozoides e óvulos – são considerados como "coisa" no Direito e por isso podem ser objeto de apropriação e de descarte. É possível fazer uma previsão em uma cláusula contratual específica para que, no caso de descumprimento da obrigação de pagamento ou no caso de desaparecimento do seu titular, ocorra a extinção do contrato, com o descarte deste material, sem que ocorra uma possível responsabilidade jurídica contra a clínica, por causa desta conduta.

Entretanto, quando se analisa esse mesmo contrato de congelamento tendo o embrião humano ao invés de gametas, não se pode chegar à mesma conclusão do Direito, pela natureza jurídica do embrião.

A personalidade civil do ser humano começa no nascimento com vida. Isto quer dizer que a lei confere direitos e deveres à pessoa apenas após o nascimento, apesar de o Direito proteger o nascituro desde a sua concepção. Lembrando que o nascituro, para o Direito, é aquele ser que se encontra em desenvolvimento no útero da mulher, ou seja, é um embrião, mas que não se encontra paralisado na sua evolução gestacional.

Existe neste ponto um sério problema, inclusive ético, porque a sociedade brasileira ainda não definiu através da lei, o que se considera embrião: como uma coisa, ou como uma pessoa. Fato é que o embrião deve ter uma consideração especial, pela potencialidade de “vir a ser” humano.

Em matéria de Reprodução Humana Assistida (RHA) existe uma lacuna jurídica - isto quer dizer que temos no nosso sistema social um vazio legislativo: não existe uma lei federal específica para regulamentar as questões e conflitos que surgem a partir dos avanços na biotecnologia de Reprodução Humana.

Então, vem a pergunta: e a Resolução 2.168/2017 do Conselho Federal de Medicina (CFM)? Trata-se de uma norma deontológica, que são regras de conduta profissionais. E quando esta resolução, em seu item 5, trata que os embriões criopreservados e abandonados por 3 anos ou mais poderão ser descartados porque houve um descumprimento de um contrato preestabelecido, não terá muita eficácia concreta. Tal determinação da referida Resolução, que existe como norma de hierarquia inferior, não possui a autonomia e abrangência legal para resguardar as clínicas de RHA de uma possível responsabilidade jurídica pelo descarte dos embriões, sem uma devida autorização válida perante a ordem normativa.

Abandono de Embriões e Gametas

Juliane Fernandes Queiroz

Já a Lei de Biossegurança (11.105/2005), que é uma lei federal, trata da questão de modo transversal quando em seu art. 5º permite a utilização de embriões excedentários para pesquisa, desde que inviáveis ou congelados há mais de 3 anos, havendo o consentimento dos genitores. Esta autorização é feita por meio de um termo de consentimento específico, que deve ser colhido quando os titulares decidem por esta entrega para a pesquisa. Este consentimento não pode vir por interpretação - ou seja, se os genitores abandonaram os embriões, sumiram e não foram mais localizados pela clínica, não se pode chegar a uma conclusão de que eles autorizaram a entrega para a pesquisa, apenas pelo fato dos embriões estarem há mais de 3 anos criopreservados.

"Existe uma lacuna jurídica em matéria de Reprodução Humana Assistida"

Existe por trás disto tudo uma questão ética de tratamento jurídico ao embrião: é um ser que detém uma carga genética diferenciada dos seus genitores, já individualizado, ainda que não seja considerado como pessoa pela lei. Não se pode então, generalizar uma solução, mas em cada caso concreto é preciso analisar uma alternativa jurídica cabível e específica para a situação.

Estas tratativas dos embriões criopreservados têm sido muito comuns em ações de divórcios, em que o casal divorciado possui embriões congelados em clínicas, mas com a separação não existe uma unicidade na vontade de que eles nasçam.

Por vezes, a mulher quer implantá-los para a gestação mas o homem quer descartá-los, e diante do litígio judicial apresentado, o juiz deverá interpretar, naquele caso específico, qual é o mais adequado tratamento jurídico que se dará ao embrião. E assim, pode-se chegar a sentenças diferentes em casos semelhantes, pelo fato de não ter sido ainda promulgada uma lei que trate especificamente da RHA. ■



Falando em Andrologia...



The impact of ejaculatory abstinence on semen analysis parameters: a systematic review

*O impacto da abstinência ejaculatória sobre os parâmetros da análise seminal:
uma revisão sistemática*

DOI: 10.1007/s10815-017-1086-0

Por



PAULA FONTOURA

Na incansável busca pelo melhor espermatozoide, há cada vez mais técnicas de seleção espermática para tentarmos reproduzir, no laboratório de reprodução assistida, a seleção espermática que acontece no corpo da mulher (*Sakkas et al., 2015*).

O papel do espermatozoide é mais do que a contribuição com o genoma haploide: o espermatozoide é uma das células mais especializadas do nosso corpo. Além de percorrer um longo caminho em direção às tubas uterinas, o espermatozoide deve possuir um mecanismo de reconhecimento e fusão com o oócito. Ele também possui fatores

que irão afetar o desenvolvimento do embrião e suas clivagens. Com isso, a qualidade espermática pode influenciar os resultados da injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) (*Oseguera-López et al., 2019*).

Diversos fatores podem alterar a qualidade da amostra seminal: o estilo de vida, a atividade ocupacional, a exposição à radiação ou a substâncias gonadotóxicas, cirurgias e infecções (*Ayad et al., 2018*). Os fatores relacionados à coleta de sêmen também devem ser levados em consideração, tais como: o tempo que o paciente demora para coletar, a frequência ejaculatória, o local da coleta, o intervalo entre a coleta e o início da análise ou processamento, e o tempo de abstinência ejaculatória (AE) (*Elzanaty, 2008*).

As orientações para a coleta seminal começam bem antes do encaminhamento do paciente à sala de coleta. Os pacientes precisam receber orientações prévias, inclusive, sobre o tempo de AE em que devem se apresentar no dia da coleta (*WHO, 2010*).

Em seu manual publicado em 2010, a Organização Mundial da Saúde (OMS) definiu o tempo de AE para a coleta de sêmen como sendo de no mínimo 2 dias e no máximo 7 dias (*WHO, 2010*). Dentro deste período, a amostra seminal coletada pode ser avaliada em relação aos parâmetros macro e microscópicos. Caso sejam necessárias novas coletas, o tempo de AE para as coletas deve ser o mais constante possível (*WHO, 2010*). Outras instituições, como o ESHRE (*European Society of Human Reproduction and Embryology*) e a NAFA (*Nordic Association for Andrology*), defendem a padronização de um tempo de AE mais restrito, de no mínimo 3 e no máximo 4 dias, e apontam que o tempo de AE ideal seria dado em horas (*Kvist & Björndahl, 2002*).

"A OMS definiu o tempo de AE para a coleta de sêmen como sendo de no mínimo 2 e no máximo 7 dias. Outras instituições apontam que o tempo de AE ideal seria dado em horas."

A padronização do tempo de AE é imprescindível para a análise seminal diagnóstica. E, uma vez que ele possa

garantir uma melhor quantidade e qualidade dos espermatozoides (requeridas tanto para uma gravidez natural como para a reprodução assistida), ele se torna uma forma simples de melhorar os resultados nos tratamentos de infertilidade (*Comar et al., 2017*).

Não há um consenso sobre quais parâmetros seminais podem ser afetados pela AE. No entanto, parece haver uma concordância entre os trabalhos científicos de que o tempo de AE prolongado levaria ao aumento do volume seminal e do número total de espermatozoides e, por outro lado, a uma redução da motilidade e viabilidade espermáticas (*Mayorga-Torres et al., 2015; Okada et al., 2020*).

Na revisão sistemática em questão, de 2018, conduzida por Hanson e colaboradores, foram avaliados 28 estudos publicados a partir do ano de 2000. Nela, foi analisada a influência do tempo de AE sobre os seguintes parâmetros: volume seminal, número total de espermatozoides, motilidade, viabilidade, morfologia, índice de fragmentação do DNA espermático e taxa de gestação (*Hanson et al., 2018*).

Em 88.2% dos trabalhos avaliados por Hanson (2018), houve uma correlação positiva entre períodos prolongados de AE e o aumento do volume seminal - especificamente, em tempos de AE maiores que 5 dias.

Todos os estudos avaliados evidenciaram um aumento do número total de espermatozoides com o aumento da AE, particularmente no tempo de AE superior a 5 dias. Da mesma forma, a ejaculação frequente, a cada 24 horas, levou à redução do número total de espermatozoides nas amostras (*Hanson et al., 2018*).

"A padronização do tempo de AE é imprescindível para a análise seminal diagnóstica."

Há uma discordância em relação à influência do tempo de AE sobre a motilidade espermática.

Aproximadamente metade dos trabalhos não observou uma associação entre esses parâmetros. Dentre os trabalhos que encontraram uma associação, a maioria demonstrou os maiores valores de motilidade espermática em amostras coletadas com 3 dias de AE.

Por outro lado, a viabilidade espermática permaneceu estável na grande maioria dos trabalhos avaliados, mesmo em diferentes tempos de AE (*Hanson et al., 2018*).

Em relação à morfologia espermática, os trabalhos que não encontraram associação com o tempo de AE, avaliaram pacientes normozoospermicos. Dentre os trabalhos que encontraram uma relação entre a AE e a morfologia espermática, a maior parte deles avaliou pacientes oligozoospermicos. Embora não tenha sido definido o melhor período de AE para obter os maiores valores de morfologia espermática normal, parece haver um benefício de tempos menores de AE (*Hanson et al., 2018*).

"Tempos de AE mais curtos resultaram em um menor índice de fragmentação do DNA espermático."

Metade dos trabalhos observou uma relação entre o tempo de AE e o índice de fragmentação do DNA espermático. Tempos de AE mais curtos resultaram em um menor índice de fragmentação do DNA espermático, tendo este índice seus menores valores no tempo de AE de até 24 horas (*Hanson et al., 2018*).

Apenas 3 estudos avaliaram a influência do tempo de AE sobre as taxas de gestação. Foi observada uma maior taxa de gestação, pela técnica de inseminação intrauterina, quando as amostras

seminais foram coletadas com até 3 dias de AE. Na técnica de fertilização *in vitro* foram obtidos melhores resultados com pacientes que seguiram um protocolo de ejaculação diária ou com AE de 30 a 60 minutos (*Hanson et al., 2018*).

**"Há uma
discordância em
relação à influência
do tempo de AE
sobre a motilidade
espermática"**

Além de conhecer o efeito do tempo de abstinência sobre os parâmetros seminais, é interessante abordar essa questão em condições específicas de alterações seminais. Dessa forma, é possível conduzir cada caso de maneira individualizada.

Levando-se em consideração os pacientes oligozoospermicos, pode-se obter uma amostra com melhores taxas de motilidade e de morfologia espermática com AE de 40 minutos (*Bahadur et al., 2016*) ou 1 a 2 dias (*AlAwlaqi & Hammadeh, 2017*), em comparação com mais dias de AE. Embora tenhamos um aumento da concentração e número total de espermatozoides com o aumento dos dias de AE, Levitas e colaboradores (2005)

indicam que, para os pacientes oligozoospermicos, o tempo ideal de AE é de 1 dia, pois esses pacientes apresentam uma redução da qualidade seminal – redução da motilidade e morfologia normal – a partir de 2 dias de AE (*Levitas et al., 2005*).

A produção de uma segunda amostra, com 30 a 60 minutos de AE, resulta em uma melhora na motilidade espermática em pacientes astenozoospermicos (*Pasqualotto et al., 2006*) e em pacientes oligoastenozoospermicos (*Pasqualotto et al., 2006; Sugiyam et al., 2008*), comparada com amostras coletadas com dias de AE. Em contrapartida, Makkar e colaboradores (2001) observaram que amostras de pacientes oligozoospermicos, astenozoospermicos e teratozoospermicos apresentaram melhora nos parâmetros de concentração, motilidade e morfologia com 2 dias de AE, comparada com 1 dia de AE (*Makkar et al., 2001*).

Pacientes com alto índice de fragmentação do DNA espermático podem ter uma redução do índice a níveis normais, através da redução do tempo de AE. Com o tempo de 1 dia de AE, 81.3% desses pacientes atingem índices normais (*Pons et al., 2013*).

A razão pela qual os espermatozoides perdem qualidade com o aumento da AE pode estar ligada ao tempo maior de

permanência na região na cauda do epidídimo (*Mayorga-Torres et al., 2015*). Foi observado um aumento do estresse oxidativo nas amostras coletadas com 4 dias de AE, comparado com 1 dia. Como consequência disso, Okada e colaboradores (*2020*) observaram, além da redução da motilidade e aumento da taxa de fragmentação do DNA espermático, uma redução da atividade mitocondrial e da integridade do acrossoma (*Okada et al., 2020*).

Podemos concluir que o tempo de AE pode influenciar na quantidade e qualidade espermática e, mais do que isso, nas taxas de gestação, que tiveram melhores resultados com períodos de AE mais curtos. Os resultados apresentados acabam por confrontar as atuais diretrizes da OMS em relação ao tempo de AE recomendado, apontando para a indicação de períodos de AE mais curtos.

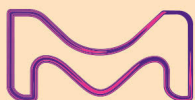
Esta indicação pode ter melhorias mais significativas nos pacientes com amostras que apresentem alguma alteração. É de grande valia o conhecimento de um tempo de AE preciso, para que se consiga obter uma amostra seminal em sua melhor condição e, assim, melhorar as taxas de gestação nos tratamentos de reprodução assistida.■

Trust matters

na hora de começar uma família.

GONAL-f[®] é o tratamento de r-hFSH mais receitado do mundo, e já ajudou a dar vida a mais de 3.3 milhões de bebês.

Inspira confiança.



Referências: 1. GONAL-f[®] EU Product Information. December 2019; 2. Schertz J, Worton H. Expert Opin Drug Deliv 2018;15(5):435–442; 3. Schertz J, Worton H. Expert Opin Drug Deliv 2017;14(4):473–481; 4. Mahony M, et al. Expert Opin Drug Deliv. 2015;12(5): 715–725; 5. Longobardi S, et al. Expert Opin Drug Deliv 2019;16(9):1003–1014; 6. Weiss N. Reprod Biomed Online 2007;15:31–37; 7. Jeannerot F, et al. Expert Opin Drug Deliv 2016;13(12):1661–1669; 8. Bühler K. Ther Clin Risk Manag 2015;11:995–1001; 9. Haar T, et al. Reprod Biol Endocrinol 2018;16:20; 10. Christen M, et al. Expert Opin Drug Deliv. 2011;8(6):833–839; 11. Popovic-Todorovic B, et al. Hum Reprod 2003;18(11):2275–2282; 12. Porter R, et al. Curr Med Res Opin 2008;24(3):727–735; 13. Huisman D, et al. Reprod Biomed Online 2009;19(Suppl 2):S–10; 14. Van den Bemt BJF, et al. Drug Delivery 2020;26(1):384–392; 15. Andersen AN, et al. Hum Reprod 2006;12:3217–3227; 16. Frydman R, et al. Hum Reprod 2000;15(3):520–525; 17. Bergh C, et al. Hum Reprod 1997;12(10):2133–2139; 18. Schats R, et al. Hum Reprod 2000;15(8):1691–1697; 19. Lunenfeld B, et al., Hum Reprod 2004;10(6):453–467; 20. Christianson MS, et al. J Assist Reprod Genet 2017;8:1059–1066 21. Data on File. Market Data Analysis, June 2018; 22. Glibreel A. et al., Biologics. 2010;4(4):5–17; 23. Velthuis E, et al. ESHRE 2019 (Abstract No. P-742); 24. EIM Consortium Report, ESHRE, 2018. Available at <https://www.focusreproduction.eu/article/ESHRE-News-GlobalIVF18> (last accessed February 2020).

GONAL-f (alfafolitropina). Hormônio foliculo estimulante recombinante (r-FSH). USO SC/ADULTO. Apresentações: 900 UI (66 µg)/1,5 mL: 1 caneta preenchida com cartucho contendo 1,5 mL de solução injetável de alfafolitropina e 20 agulhas; 450 UI (33 µg)/0,75 mL: 1 caneta preenchida com cartucho contendo 0,75 mL de solução injetável de alfafolitropina e 12 agulhas; 300 UI (22 µg)/0,5 mL: 1 caneta preenchida com cartucho contendo 0,5 mL de solução injetável de alfafolitropina e 8 agulhas; Pó liofilizado (75 UI/5,5 µg de alfafolitropina) e diluente (1 mL de água para injeção) para injeção subcutânea após reconstituição. Embalagem contendo um frasco-ampola do pó liofilizado acompanhado por uma seringa preenchida do diluente. **Indicações:** (I) Anovulação (incluindo a Síndrome do Ovário Policístico, SOP) em mulheres que não responderam ao tratamento com citrato de clomifeno. (II) GONAL-f[®] está indicado para o estímulo do desenvolvimento multifolicular em pacientes que passam por uma superovulação em técnicas de reprodução assistida (ART), como fertilização in vitro (IVF), transferência intra-falopiana de gameta (GIFT) e transferência intra-falopiana de zigoto (ZIFT). GONAL-f[®] em associação com uma preparação de hormônio luteinizante (LH) é recomendado para a estimulação do desenvolvimento folicular em mulheres com insuficiência grave de LH e FSH. (III) GONAL-f[®] está indicado para estimular a produção de espermatozoides no homem infértil devido à deficiência hormonal e deve ser utilizado em combinação com a gonadotrofina coriônica humana (hCG). **Contraindicações:** hipersensibilidade à alfafolitropina, ao FSH ou a qualquer um dos excipientes, tumores do hipotálamo ou da hipófise; na mulher: hipertrofia ou cistos ovarianos não causados pela Síndrome do Ovário Policístico, hemorragias ginecológicas de etiologia desconhecida, carcinoma do útero, ovário ou mama; GONAL-f[®] não deve ser utilizado nas situações em que não é possível a obtenção de uma resposta eficaz, tais como: Na mulher: insuficiência ovariana primária, malformações dos órgãos sexuais incompatíveis com a gravidez, tumores fibroides do útero incompatíveis com a gravidez; No homem: insuficiência testicular primária. **Advertências e precauções:** Situações como hipotireoidismo, insuficiência da suprarrenal, hiperprolactinemia deverão ser rastreadas e insituído tratamento específico, se apropriado. Nas mulheres submetidas a estimulação do crescimento folicular, quer como tratamento de infertilidade anovulatória quer como técnicas de ART, pode ocorrer um aumento do volume ovariano ou o desenvolvimento Síndrome de Hiperestimulação Ovariana (OHSS), há evidência de que a hCG desempenha um papel importante no desencadeamento de uma OHSS e que a síndrome pode ser mais grave e prolongada se ocorrer uma gravidez. Portanto, se ocorrerem sinais de hiperestimulação ovariana, recomenda-se que a hCG seja suspensa e a paciente aconselhada a abster-se de ter relações sexuais ou a utilizar métodos contraceptivos de barreira durante pelo menos 4 dias. O risco de gravidez múltipla, em mulheres submetidas a técnicas de ART, está relacionado principalmente com o número e qualidade de embriões recolocados, e com a idade da paciente. As pacientes devem ser avisadas do risco potencial de nascimentos múltiplos antes de iniciarem o tratamento. Valores elevados de FSH endógeno são indicativos de insuficiência testicular primária. Estes pacientes não respondem ao tratamento com GONAL-f[®]/hCG. **Reações adversas:** Muito comuns: cefaleias, cistos ovarianos, reações no local da injeção. Comuns: OHSS leve ou moderada, dor abdominal, distensão abdominal, náusea, vômitos, diarreia. Incomuns: OHSS grave. Raros: tromboembolia, complicação de OHSS grave. Muito raros: reações de hipersensibilidade leves a graves, incluindo reações anafiláticas e choque, exacerbação ou agravamento da asma. No homem: Muito comuns: Reações no local de injeção. Comuns: acne, ginecomastia, varicocele e ganho ponderal. Muito raros: Reações de hipersensibilidade leves a graves incluindo reações anafiláticas e choque, exacerbação ou agravamento da asma. **Interação medicamentosa:** O uso concomitante de GONAL-f[®] com outros medicamentos utilizados na estimulação da ovulação (p. ex., hCG, citrato de clomifeno), pode potencializar a resposta folicular. **Posologia:** GONAL-f[®] caneta preenchida: 900 UI (66 µg) / 1,5 mL, 450 UI (33 µg) / 0,75 mL, 300 UI (22 µg) / 0,5 mL e GONAL-f[®] pó liofilizado 75 UI / 5,5 µg devem ser aplicados por via subcutânea. Mulheres com anovulação (incluindo Síndrome do Ovário Policístico): GONAL-f[®] deve ser administrado segundo um esquema de injeções diárias. Nas mulheres menstruadas o tratamento deve ser iniciado nos primeiros sete dias do ciclo menstrual. Um regime posológico recomendado se inicia com a administração diária de 150–225 UI de FSH. O tratamento deve ser adaptado à resposta individual de cada paciente avaliada pela medição do tamanho dos folículos por ultrassom e/ou pela secreção de estrogênios. Se um aumento da dose de FSH for considerado adequado, o ajuste da dose deve ser efetuado, de preferência, após intervalos de 7–14 dias e, preferencialmente, com incrementos de 37,5–75 UI. Pode ser aceitável prolongar a estimulação em qualquer dos ciclos por até cinco semanas. Se a paciente não responder adequadamente após 4 semanas de tratamento, o ciclo deve ser abandonado e a paciente deve ser submetida à avaliação adicional após a qual pode recomençar o tratamento com uma dose inicial mais alta do que a do ciclo abandonado. Quando se obtém uma resposta ótima deve ser administrada uma única injeção de 250 microgramas de gonadotrofina coriônica alfa humana recombinante (r-hCG) ou de 5.000 UI até 10.000 UI de hCG, 24–48 horas após a última injeção de GONAL-f[®]. Caso se obtenha uma resposta excessiva, o tratamento deve ser interrompido e suspensa a hCG. O tratamento deve ser reiniciado no ciclo seguinte, com uma dose inferior àquela do ciclo anterior. Mulheres submetidas à estimulação ovariana para o desenvolvimento folicular múltiplo prévio à fertilização in vitro ou outras técnicas de reprodução assistida: O esquema posológico habitualmente usado para indução da superovulação envolve a administração diária de 150–225 UI de GONAL-f[®], com início no 2º ou 3º dia do ciclo. O tratamento prossegue até se obter um desenvolvimento folicular adequado (avaliado por monitorização das concentrações séricas de estrogênios e/ou ultrassom), sendo a dose ajustada de acordo com a resposta da paciente, não ultrapassando normalmente as 450 UI diárias. Uma única injeção de 250 microgramas de r-hCG ou de 5.000 UI até 10.000 UI de hCG é administrada 24–48 horas após a última injeção de GONAL-f[®] para a indução da maturação folicular final. A subregulação com um agonista ou um antagonista do hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) é usualmente utilizada com o fim de suprimir o aumento de LH endógeno e de controlar os níveis tóxicos de LH, a terapêutica com GONAL-f[®] é iniciada aproximadamente 2 semanas após o início do tratamento com o agonista, prosseguindo-se com ambos até se obter um desenvolvimento folicular adequado. Homens com hipogonadismo hipogonadotrófico: GONAL-f[®] deve ser administrado numa dose de 150 UI três vezes por semana, concomitantemente com hCG, durante pelo menos 4 meses. Se, após este período, o paciente não tiver respondido, deve-se continuar com o tratamento combinado. A experiência clínica atual indica que pode ser necessário um tratamento de pelo menos doze meses para atingir a espermatogênese. Mulheres com anovulação resultante de deficiência grave de LH e de FSH: GONAL-f[®] deve ser administrado segundo um esquema de injeções diárias, simultaneamente com alfafolitropina. Um regime posológico recomendado se inicia com a administração diária de 75 UI de alfafolitropina com 75–150 UI de FSH. O tratamento deve ser adaptado à resposta individual de cada paciente. Se um aumento da dose de FSH for considerado adequado, o ajuste da dose deve ser efetuado, de preferência, após intervalos de 7–14 dias e, preferencialmente, com incrementos de 37,5–75 UI. Pode ser aceitável prolongar a estimulação em qualquer dos ciclos por até cinco semanas. Quando se obtém uma resposta ótima, deve ser administrada uma única injeção de 250 microgramas de r-hCG ou de 5.000 UI até 10.000 UI de hCG, 24–48 horas após as últimas injeções de GONAL-f[®] e de alfafolitropina. Recomenda-se que a paciente tenha relações sexuais no dia da administração de hCG, bem como no dia seguinte. Como alternativa, pode ser efetuada uma inseminação intrauterina. Pode ser necessário um suporte da fase lútea. Caso seja obtida uma resposta excessiva, o tratamento deve ser interrompido e a hCG não deve ser administrada. O tratamento deve ser reiniciado no ciclo seguinte, com uma dose de FSH inferior àquela do ciclo anterior. **MS 1.0089.0363. SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE 0800 727-7293. VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA. 121218.**

Contraindicações: hipersensibilidade à folitropina, ao FSH ou a qualquer dos excipientes; tumores do hipotálamo ou da hipófise.
Interações medicamentosas: o uso concomitante com outros medicamentos utilizados na estimulação da ovulação (p. ex., hCG, citrato de clomifeno) pode potencializar a resposta folicular.

SE PERSISTIREM OS SINTOMAS, O MÉDICO DEVERÁ SER CONSULTADO.

MERCK

Falando em Embriologia...



POTENCIAL DE RESGATE DE EMBRIÕES 1PN PARA USO CLÍNICO

(texto em livre tradução)

Por



NURIA SOLER BALAGUER

No contexto da tecnologia de reprodução assistida, uma **fertilização** correta é evidenciada pela presença de dois corpúsculos polares (CP) no espaço perivitelínico e dois pronúcleos (PN) no citoplasma, 16-20 horas após a inseminação. No entanto, alguns oócitos, designados como **anormalmente fertilizados** podem exibir uma composição de PN e CP diferente das típicas e geralmente são descartados para uso clínico. Dentre eles, há um subgrupo de zigotos, caracterizado por conter apenas uma única estrutura pronuclear no citoplasma - geralmente chamados de embriões **unipronucleares**, **monopronucleares** ou apenas 1PN, que representam de 2 a 8% dos oócitos inseminados (*Staessen et al., 1993; Staessen & Van Steirteghem, 1997; Reichman et al., 2010; Azevedo et al., 2014; Itoi et al., 2015; Destouni et al., 2018; Lim & Lee, 2019*).

A origem dos embriões 1PN pode ser diversa, fato que determina sua ploidia e, portanto, sua composição parental.

Em primeiro lugar, os zigotos 1PN **haploides** poderiam ser o resultado de uma ativação oocitária artificial, sem a intervenção do genoma masculino, resultando em embriões **partenogenéticos** ou **ginogenéticos** na maioria dos casos (*Azevedo et al., 2014*). A partenogênese pode ser desencadeada espontaneamente por estímulos mecânicos, elétricos ou químicos; a ginogênese pode ocorrer devido à extrusão dos espermatozoides para o espaço perivitelino durante o procedimento ICSI ou devido à falha de descondensação do núcleo paterno (*Flaherty et al., 1995*).

Por outro lado, zigotos 1PN podem também ser de origem **androgenética**, sem participação materna, embora esse evento seja menos comum. Isso pode ser explicado pela completa extrusão do genoma materno no segundo CP (*Ottolini et al., 2015*), ou devido à manutenção do fuso meiótico no oócito (*Azevedo et al., 2014; Kai et al., 2015; Kovacic & Vlajsavljevic, 2000*).

Em segundo lugar, zigotos 1PN poderiam ter uma constituição cromossômica **diploide**, tanto de origem **uniparental** quanto **biparental**. Por um lado, embriões diploides **uniparentais** podem surgir a partir da presença de apenas um genoma parental com conteúdo duplo, presumivelmente alcançado por vários mecanismos: fertilização por um espermatozoide diploide (Azevedo et al., 2014), extrusão de um segundo CP "vazio" (Ottolini et al., 2015), ou, mais provável, auto-diploidização de embriões haploides partenogênicos ou androgenéticos (Leng et al., 2017).

"A origem dos embriões 1PN pode ser diversa"

Por outro lado, os fenômenos que levam à formação de embriões 1PN diploides e **biparentais** podem ser diversos: formação de um único PN englobando os genomas materno e paterno (Van der Heijden et al., 2009; Kai et al., 2015); fusão pronuclear precoce (Flaherty et al., 1995); assincronia pronuclear, como desaparecimento pronuclear prematuro ou aparecimento pronuclear atrasado (Staessen et al., 1993; Azevedo et al., 2014); ou falha em organizar um envelope nuclear em torno de um dos genomas parentais.

Com esses últimos cenários em mente, não podemos desconsiderar a produção de embriões 1PN com **constituição cromossômica biparental**. Assim, o debate sobre o uso reprodutivo de tais embriões anormalmente fertilizados, mas potencialmente viáveis, é reaberto.

Como indicado anteriormente, os embriões 1PN constituem **uma população heterogênea em termos de ploidia**. Na verdade, diferentes frequências no *status* de ploidia foram relatadas, dependendo do estágio de desenvolvimento do embrião avaliado. Os zigotos 1PN são principalmente haploides e, por isso, apresentam desenvolvimento *in vitro* limitado. Isso está de acordo com sua taxa de formação de blastocisto relativamente baixa, que geralmente varia entre 0% a 20% (Itoi et al., 2015; Bradley et al., 2017; Capalbo et al., 2017; Mateo et al., 2017; Destouni et al., 2018; Xie et al., 2018; Chen et al., 2020). Nesse sentido, há uma **seleção negativa de embriões haploides por meio do cultivo *in vitro***, resultando em blastocistos 1PN principalmente diploides.

Infelizmente, algumas anormalidades de **ploidia**, como haploidia ou triploidia, ainda são compatíveis com o estágio de blastocisto. Além disso, mais dois riscos cromossômicos precisam ser considerados: **aneuploidia** e **composição uniparental**. Enquanto se espera que haploides resultem em **falha de implantação**, outra concepção genética

como triploides ou embriões diploides uniparentais estão intimamente relacionados a abortos espontâneos e molas hidatiformes (Rosenbusch, 2014; Bradley et al., 2017; Capalbo et al., 2017).

Vários autores relataram nascidos vivos saudáveis após a transferência de tais blastocistos 1PN sem uma análise cromossômica prévia, mas apresentando baixas taxas de gravidez, especialmente naquelas derivadas de ICSI (Itoi et al., 2015; Hondo et al., 2019; Si et al., 2019; Chen et al., 2020; Hirata et al., 2020; Li et al., 2020; Li et al., 2021). Além disso, mesmo quando o teste de aneuploidia era realizado, o número de recém-nascidos era limitado (Mateo et al., 2017; Lim & Lee, 2019). Isso pode ser explicado porque, devido ao método de normalização, a análise de ploidia não é possível (a menos que seja aplicado um método de inferência de ploidia, como em Capalbo et al., 2017).

"Vários autores relataram nascidos vivos saudáveis após a transferência de tais blastocistos 1PN

Nesse sentido, embriões com perfil cromossômico normal podem não ter *status* diploide e, portanto, são incompatíveis com a vida.

De qualquer forma, confirmar a herança cromossômica biparental em blastocistos 1PN deve ser obrigatório para fins reprodutivos (Bradley et al., 2017; Destouni et al., 2018; Xie et al., 2018). Recentemente, desenvolvemos uma técnica a-SNP que nos informa direta e simultaneamente sobre a ploidia, euploidia e herança parental de blastocistos 1PN a partir de uma única amostra de embrião (Soler et al., 2021 *in press*).

No entanto, na ausência deste tipo de técnica, embriões 1PN derivados de ICSI com a constituição cromossômica 46, XY poderiam ser transferidos, apoiados pela probabilidade aumentada de serem biparentais na composição (Bradley et al., 2017).

"Embriões 1PN com a constituição cromossômica 46, XY poderiam ser transferidos, apoiados pela probabilidade aumentada de serem biparentais na composição."

A figura anexa (Figura 1) mostra uma proposta de manejo de zigotos 1PN para serem reprodutivamente úteis.

■ FALANDO EM EMBRIOLOGIA ■

Assim, se pudermos distinguir claramente entre os blastocistos 1PN biparentais, diploides e euploides daqueles uniparentais haploides/diploides, biparentais triploides ou

aneuploides, isso pode aumentar os embriões 1PN potencialmente recuperáveis para fins reprodutivos e pode melhorar as taxas de gravidez clínica.

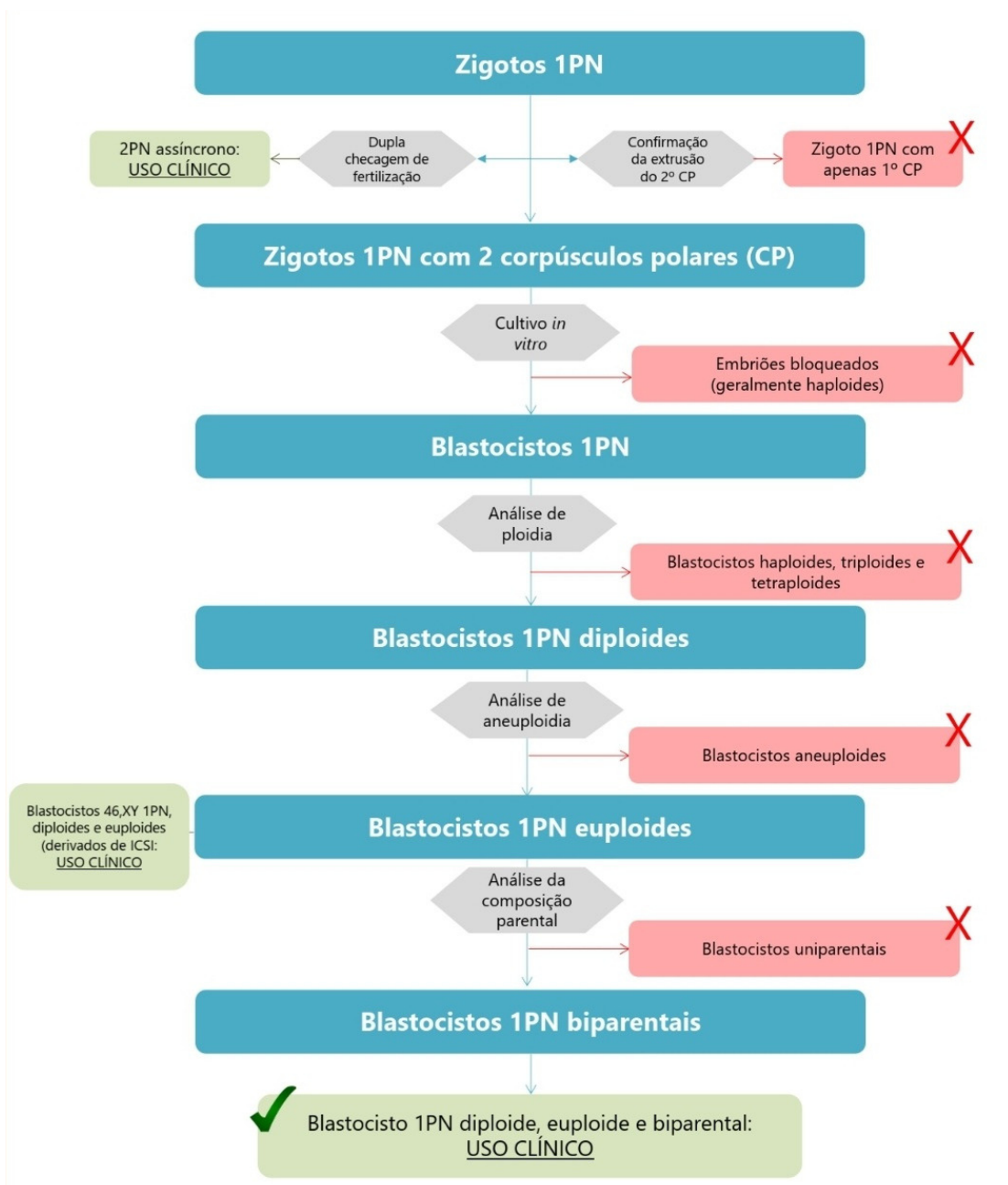


Figura 1: Manejo de zigotos 1PN para serem reprodutivamente úteis. ■

Falando em Embriologia...



POTENTIAL RESCUE OF 1PN EMBRYOS FOR CLINICAL USE

(texto original)

Por



NURIA SOLER BALAGUER

In the context of assisted reproductive technology, correct **fertilization** is evidenced by the presence of the two polar bodies (PB) in the perivitelline space and two pronuclei (PN) in the cytoplasm at 16-20 hours post-insemination. However, some oocytes, designated as **abnormally fertilized**, can exhibit a PN and PB composition other than that two typical, and are usually discarded for clinical use. Amongst them, there is a zygote subgroup, characterized by containing only one single pronuclear structure in the cytoplasm; usually named **unipronuclear, monopronuclear** or hereafter 1PN embryos, which represent 2-8% of inseminated oocytes (*Staessen et al., 1993; Staessen & Van Steirteghem, 1997; Reichman et al., 2010; Azevedo et al., 2014; Itoi et al., 2015; Destouni et al., 2018; Lim & Lee, 2019*).

The **origin** of 1PN embryos can be diverse, a fact that determines their ploidy and, therefore, their parental composition.

Firstly, **haploid 1PN** zygotes could be the result of an artificial oocyte activation, without the intervention of the male genome, resulting in parthenogenetic or gynogenetic embryos in the majority of cases (*Azevedo et al., 2014*). Parthenogenesis can be spontaneously triggered by mechanic, electric or chemical stimuli; gynogenesis could occur due to the extrusion of spermatozoa to the perivitelline space during ICSI procedure or because of the failure of decondensation of the paternal nucleus (*Flaherty et al., 1995*). On the other hand, 1PN zygotes can also be androgenetic in origin, without maternal participation, although this event is less common. It can be explained by the complete extrusion of maternal genome in the second PB (*Ottolini et al., 2015*), or due to the maintenance of the meiotic spindle in the oocyte (*Azevedo et al., 2014; Kai et al., 2015; Kovacic & Vlasisavljevic, 2000*).

Secondly, 1PN zygotes could have a **diploid** chromosome constitution, both uniparental or biparental in origin. On the one hand, **uniparental** diploid embryos can arise from the presence of only one

parental genome with double content, presumably achieved by several mechanisms: fertilization by a diploid spermatozoon (Azevedo et al., 2014); extrusion of an “empty” second PB (Ottolini et al., 2015); or, more probably, self-diploidization of parthenogenetic or androgenetic haploid embryos (Leng et al., 2017). On the other hand, the phenomena leading the formation of 1PN diploid and **biparental** embryos can be diverse: formation of a single PN enclosing both the maternal and paternal genomes (Van der Heijden et al., 2009; Kai et al., 2015); early PN fusion (Flaherty et al., 1995); PN asynchrony, such as premature pronuclear fading or delayed pronuclear appearance (Staessen et al., 1993; Azevedo et al., 2014); or failure to organize a nuclear envelope around one of the parental genomes.

With these last scenarios in mind, we cannot rule out the production of 1PN embryos with a biparental chromosomal constitution. Thus, debate on the **reproductive use** of such abnormally fertilized but potentially viable embryos, is reopened.

As previously indicated, 1PN embryos constitute a **heterogeneous population in terms of ploidy**. In fact, different frequency on ploidy status has been reported depending on the developmental embryo stage assessed. 1PN zygotes are mainly haploid and, for that reason, have a limited *in vitro* development.

This is in accordance to their relatively low blastocyst formation rate, which generally varies between 0% to 20% (Itoi et al., 2015; Bradley et al., 2017; Capalbo et al., 2017; Mateo et al., 2017; Destouni et al., 2018; Xie et al., 2018; Chen et al., 2020). In this sense, there is a **negative selection of haploid embryos through *in vitro* culture**, rendering 1PN blastocysts mostly diploid. Unfortunately, some **ploidy abnormalities** such as haploidy or triploidy are still compatible with the blastocyst stage. In addition, two more chromosomal risks need to be considered: **aneuploidy** and **uniparental composition**. Whereas haploids are expected to result in **implantation failure**, another genetic conception such as triploid or uniparental diploid embryos are closely related to **miscarriages** and **hydatidiform moles** (Rosenbusch, 2014; Bradley et al., 2017; Capalbo et al., 2017).

Several authors have reported **healthy live births** after transfer of such 1PN blastocysts **without a prior chromosomal analysis**, but rendering low pregnancy rates, especially in those derived from ICSI (Itoi et al., 2015; Hondo et al., 2019; Si et al., 2019; Chen et al., 2020; Hirata et al., 2020; Li et al., 2020; Li et al., 2021). Moreover, even when **aneuploidy testing** was performed, newborns were limited in number (Mateo et al., 2017; Lim & Lee, 2019). This can be explained because, owing to normalization method, ploidy analysis is not possible (unless applying a method of ploidy inference, like in Capalbo et al., 2017).

In this sense, embryos showing a normal chromosomal profile may not have a diploid status and, therefore, are incompatible with life. Anyway, to confirm the biparental chromosome inheritance on 1PN blastocysts must be mandatory for reproductive purposes (Bradley et al., 2017; Destouni et al., 2018; Xie et al., 2018). Recently, we have developed an a-SNP technique that informed us directly and simultaneously about the ploidy, euploidy and parental inheritance of 1PN blastocysts from a single embryo sampling (Soler et al., 2021 in press). However, in the absence of this type of technique, 1PN ICSI-derived embryos

wearing the 46, XY formula could be transferred, supported by the enhanced probability of being biparental in composition (Bradley et al., 2017). The attached figure (figure 1) shows a proposal for the management of 1PN zygotes in order to be reproductively useful.

Thus, if we can clearly distinguish between those 1PN biparental, diploid and euploid blastocysts from those uniparental haploid/diploid, biparental triploid or aneuploid blastocysts, it might increase those 1PN embryos potentially retrievable for reproductive purposes and could improve the clinical pregnancy rates.

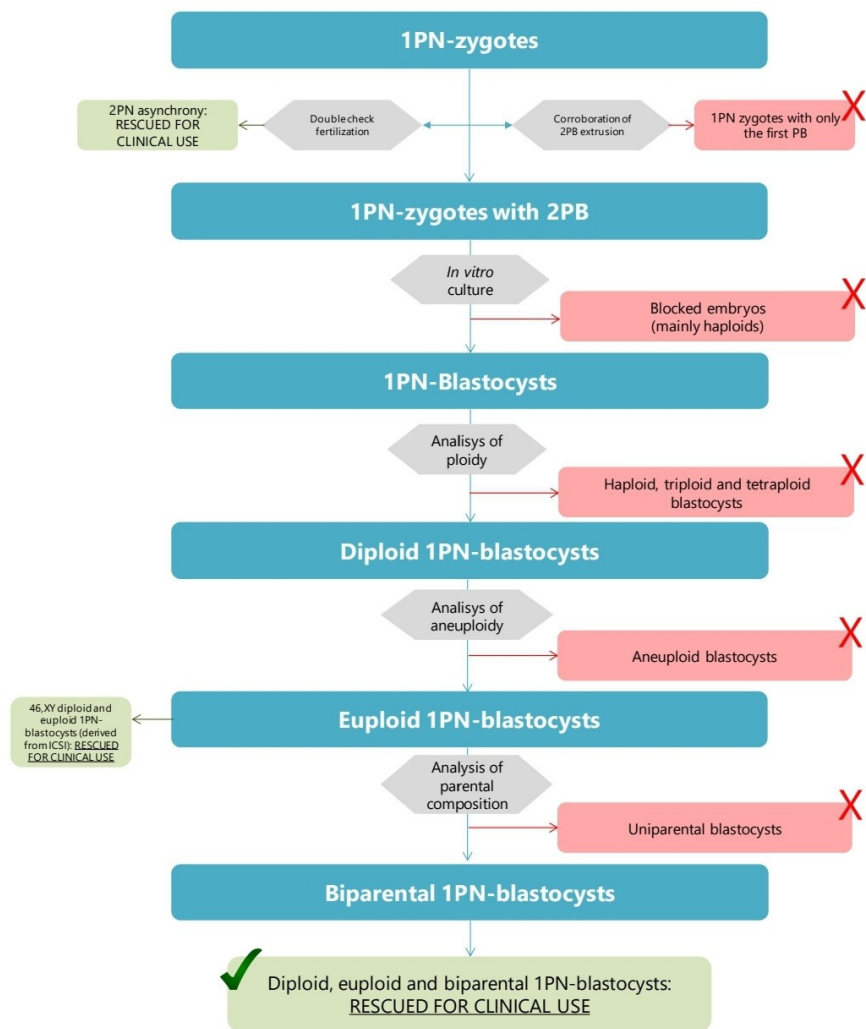


Figure 1: Management of 1PN zygotes that can be potentially retrievable for clinical use. ■

Falando em Genética...



Testes Genéticos Pré-Implantacionais

Por



SIDNEY VERZA JR

Apesar de a fertilização *in vitro* (FIV) ser uma técnica relativamente recente (o primeiro nascimento reportado data de pouco mais de 40 anos), muito se evoluiu dentro dessa área, com melhorias nas técnicas da fertilização em si, permitindo a injeção do espermatozoide diretamente dentro do oócito, melhores condições de cultivo embrionário e a possibilidade de biópsia de uma ou mais células desses pré-embriões. Paralelamente a essas evoluções, a genética da reprodução também avançou de forma extraordinária, melhorando tanto na amplificação desse material genético fornecido, como também analisando de forma cada vez mais eficiente esse material, atuando não somente como ferramenta diagnóstica, mas principalmente como uma genética

preventiva, permitindo a intervenção antes do momento da implantação. Como consequência, temos: a transferência de pré-embriões cromossomicamente normais, que evita gestações aneuploides e a transmissão de doenças hereditárias, reduzindo as chances de abortos espontâneos que, além de impactar negativamente nas taxas de sucesso dos tratamentos, geram principalmente impactos psicológicos imensuráveis nas pacientes.

Sobre as técnicas de biópsia embrionária e análise genética:

Da mesma forma que a análise genética inicialmente era realizada por FISH (*Fluorescent In Situ Hybridization*) e foi gradativamente substituída por outras técnicas de maior amplitude cromossômica e maior precisão, com o uso do a-CGH (*Array Comparative Genomic Hybridization*) e do NGS (*Next Generation Sequencing*), a parte laboratorial da biópsia também evoluiu de uma única célula no estágio de clivagem do pré-embrião para a biópsia de várias células do trofoblasto do blastocisto a partir do 5º dia de desenvolvimento, oferecendo uma amostragem bem mais ampla e rica em material genético.

Nomenclaturas atuais dos diferentes testes disponíveis:

As denominações para os testes genéticos pré-implantacionais também foram sofrendo alterações ao longo dos anos. De acordo com a classificação mais recente da Sociedade Internacional de Diagnóstico Genético Preimplantacional (*Preimplantation Genetic Diagnosis International Society-PGDIS*), as siglas utilizadas nos diferentes testes genéticos pré-implantacionais são:

PGT-A: *Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidies* é o teste mais comumente solicitado nos tratamentos de FIV e tem como objetivo realizar um *screening* genético para identificar alterações quantitativas dentre os 23 pares de cromossomos, apontando monossomias que podem ser parciais ou totais, trissomias, nulissomias, etc. Dentre as trissomias mais comuns e compatíveis com a vida estão a Síndrome de *Down*, Síndrome de *Edwards* e Síndrome de *Patau* (trissomias do cromossomos 21, 18 e 13, respectivamente). Alterações quantitativas ligadas aos cromossomos sexuais também podem ser compatíveis com a vida, podendo aparecer na forma de trissomia (XXY - Síndrome de *Klinefelter*) ou monossomia (X0 - Síndrome de *Turner*). As demais monossomias e trissomias diversas que são frequentemente encontradas nos laudos de PGT-A em nossa rotina laboratorial, são consideradas

incompatíveis com a vida, seja por não permitirem o processo de implantação, ou por desencadearem uma implantação seguida de abortamento precoce. Apesar das causas da aneuploidia ainda não serem bem compreendidas, sabemos que o mecanismo cromossômico mais comum é a não-disjunção meiótica pela falha de um par de cromossomos que não se separam corretamente, durante uma das duas divisões meióticas, geralmente durante a meiose I.

PGT-M: *Preimplantation Genetic Testing for Monogenic disorders* é o teste indicado para casais com alto risco pessoal ou familiar para doenças que afetam um único gene. Doenças monogênicas são um grupo de doenças genéticas causadas por uma mutação ou alteração na sequência de DNA de um gene específico e transmitida de forma hereditária. Para casais com risco aumentado de gerarem filhos com doenças genéticas, o PGT-M pode ser realizado para selecionar embriões que não tenham a mutação. Em geral é necessário realizar um estudo genético prévio da família, chamado de Padronização para Doença Monogênica. O PGT-M, portanto, é a técnica indicada para evitar a transmissão de doenças hereditárias pré-existentes, como a Fibrose Cística, Síndrome do X-Frágil, Distrofia Muscular, Doença de *Huntington*, Anemia Falciforme, entre outras.

PGT-HLA: *Preimplantation Genetic Testing For Human Leukocyte Antigen:*

Neste caso não se trata de evitar a transmissão de uma doença pré-existente ao futuro filho, como no PGT-M, ou evitar aneuploidias, como no PGT-A. O objetivo do PGT-HLA é gerar uma gravidez a partir da seleção de um embrião com HLA compatível ao de uma criança afetada por um distúrbio genético que necessite de transplante de células-tronco hematopoiéticas, para que tenha chance de cura ou expectativa de vida prolongada. Após a seleção por PGT-HLA e nascimento desse bebê, as células-tronco hematopoiéticas são coletadas do sangue do cordão umbilical ou da medula óssea do irmão doador compatível ou de uma combinação de ambas as fontes e utilizadas para transplante do irmão afetado. O PGT-HLA consiste na determinação indireta do HLA, que envolve a análise de ligação de marcadores polimórficos que flanqueiam os loci HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR e HLA-DQ da região do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) para identificar haplótipos compatíveis entre os embriões testados e a criança afetada.

PGT-SR: *Preimplantation Genetic Testing for Structural Chromosomal rearrangements* é o teste genético que identifica alterações cromossômicas envolvendo rearranjos estruturais desbalanceados nos pré-embriões. Nos casos em que um dos parceiros é portador de um rearranjo estrutural balanceado, como uma translocação ou

inversão, esse rearranjo resulta de uma quebra, recombinação ou troca cromossômica, seguida de reconstituição em uma combinação diferente da normalidade e geralmente não causa fenótipo no portador, porém os pré-embriões gerados por este indivíduo podem apresentar rearranjos estruturais desbalanceados (ganho ou perda de um segmento cromossômico), que podem levar à falha de implantação, aborto espontâneo ou síndromes genéticas. Como exemplo, podemos citar as translocações Robertsonianas como as mais comumente encontradas.

PGT-P: *Preimplantation Genetic Testing for Polygenic disorders* é a técnica mais recente de todas e ainda pouco difundida. As doenças poligênicas são doenças influenciadas por variantes genéticas em mais de um gene. A combinação das variantes nestes genes afeta a probabilidade de desenvolver estas condições poligênicas durante o curso da vida de um indivíduo. Durante a classificação dos pré-embriões por esta técnica, cada pré-embrião recebe uma pontuação chamada "Índice Genômico". Este índice é calculado através da combinação de pontuações poligênicas de diferentes preditores de doenças e pode ser usado para comparar o risco geral de doença entre pré-embriões para auxiliar na decisão de qual pré-embrião selecionar para transferência. Este índice obtido é utilizado para o cálculo do risco proporcional do desenvolvimento futuro da doença em comparação com o risco

■ FALANDO EM GENÉTICA ■

médio dessa mesma doença na população em geral. Diferentemente do que vemos no PGT-A, onde os pré-embriões são classificados como “normal” ou “alterado”, ou no PGT-M onde recebemos o laudo de cada pré-embrião como “portador” ou “afetado”, no PGT-P cada pré-embrião recebe uma “razão de risco” de desenvolvimento futuro de uma a uma das doenças disponíveis para teste (exemplo abaixo).

Cabe ao geneticista responsável definir junto ao casal qual pré-embrião selecionar para transferência. Exemplos de doenças poligênicas que podem ser triadas são: Diabetes tipo 1 e tipo 2, câncer de mama, câncer de testículo, câncer de próstata, melanoma maligno, carcinoma basocelular, esquizofrenia, doença arterial coronariana, hipercolesterolemia, hipertensão e risco de ataque cardíaco.

Diabetes tipo I	0,28%	0,4%	0,7x	39%
Diabetes tipo II	11%	9,8%	1,2x	71%
Câncer de testículo	0,43%	0,4%	1,1x	64%
Câncer de próstata	7,5%	11%	0,7x	34%
Melanoma maligno	2,6%	2,6%	1x	54%
Carcinoma basocelular	18%	17%	1,1x	61%
Esquizofrenia	2,2%	0,87%	2,5x	96%
Doença arterial coronariana	8,2%	6,7%	1,2x	86%
Hipercolesterolemia	11%	12%	0,9x	47%
Hipertensão	41%	46%	0,9x	35%

Neste exemplo de um laudo de PGT-P realizado em células obtidas de biópsia de trofocotoderma, podemos observar o comparativo das chances de desenvolvimento de cada uma das doenças investigadas, nas quais temos casos em que as chances para algumas doenças aparecem como menores do que a incidência na população geral, porém temos uma chance aumentada em duas vezes e meia para a ocorrência de esquizofrenia, comparada a população geral.

Limitações do teste:

Segundo dados obtidos do termo de consentimento livre e esclarecido para a realização do teste, a técnica possui algumas limitações, resumidas abaixo:

- O PGT-P é uma ferramenta de avaliação de risco. NÃO é um método de diagnóstico.
- Há um risco de descartar embriões que poderiam ter um desfecho saudável relativamente à doença poligênica testada através desta metodologia.

■ FALANDO EM GENÉTICA ■

- Inversamente, o risco de doença não é eliminado em embriões com pontuações de risco abaixo da média e embriões escolhidos para transferência podem desenvolver-se em indivíduos que apresentem a condição testada por PGT-P no futuro.
- As bases de dados atuais baseiam-se em dados de indivíduos com ancestralidade europeia caucasiana, portanto o desempenho deste teste é reduzido em indivíduos que não possuem ancestralidade europeia caucasiana.
- A maioria dessas doenças é influenciada também por fatores ambientais (estilo de vida, hábitos alimentares) e esses fatores não podem ser incluídos como parte da análise.

Como descrito acima, o teste trabalha com probabilidades que podem ser aumentadas, semelhantes ou reduzidas de ocorrência de determinadas doenças em algum momento da vida do indivíduo. Por este motivo, esse teste ainda não deveria ser indicado como um *screening* rotineiro a ser oferecido aos casais, como ocorre hoje com o PGT-A, e sim como uma ferramenta diagnóstica em casos específicos de histórico familiar de alguma das doenças poligênicas avaliadas pela técnica, de forma a tentar minimizar os riscos de incidência futura dessas doenças pré-existente nos genitores e/ou familiares.

Em outras palavras, esse teste teria as mesmas indicações do PGT-M, com a desvantagem de não oferecer o mesmo nível de redução de risco que se tem com as doenças monogênicas avaliadas no PGT-M.

Considerações finais

As técnicas de avaliação do perfil genético dos pré-embriões humanos obtidos via FIV estão em constante e rápida evolução, com acurácia cada vez maior da técnica, que quando associada a alta proficiência do embriologista responsável pela biópsia, vitrificação e desvitrificação desses pré-embriões, resultam em taxas crescentes de gestação associadas a menores taxas de abortamento. No entanto, devemos sempre levar em consideração que mesmo essa melhora nas técnicas ainda não é suficiente para “compensar” a deficiência na amostra fornecida para análise. Por mais que a biópsia de blastocisto forneça múltiplas células em comparação à biópsia de uma única célula que ocorria no estágio de clivagem, essa amostra não é “homogênea” e, portanto o conceito base das análises clínicas de que “a parte representa o todo” não é perfeitamente aplicável aqui. Diferentemente do que ocorre em um hemograma ou mesmo em um espermograma, em que temos uma amostragem homogênea e tomamos uma pequena fração para análise, no caso da biópsia do blastocisto,

■ FALANDO EM GENÉTICA ■

as células removidas pertencem a uma pequena parte do trofotoderma, que por sua vez é um agrupamento celular já diferenciado dentro do pré-embrião e pode não obrigatoriamente representar o pré-embrião como um todo e as células da massa celular interna, responsável pela formação do embrião propriamente dito. Prova disso são os conhecidos casos de mosaicismo.

Soma-se a isso o pouco conhecimento que ainda temos sobre a real capacidade de auto-correção que esses pré-embriões possam ter para corrigir essas aneuploidias observadas nesse estágio de desenvolvimento, e ainda o impacto negativo que a biópsia pode causar em blastocistos de prognóstico ruim. Por esse conjunto de fatores, é fundamental e obrigatório um correto aconselhamento genético realizado por um geneticista, bem como um perfeito esclarecimento dos prós e contras da técnica, esclarecendo com o paciente as limitações que a envolvem. Considerando todos os pontos listados acima, a genética da reprodução, quando corretamente indicada e realizada, permite resultados fantásticos evitando doenças e reduzindo significativamente os abortamentos! ■

Com a Palavra...



Importância dos KPIs em um laboratório de RHA

Por



AMANDA VITORINO



Figura 1. Esquema de gestão da qualidade

Os indicadores de desempenho (PIs) são medidas objetivas para avaliar domínios críticos de saúde, como a segurança do paciente, eficácia, equidade, oportunidade e eficiência (Kohn et al., 2000). Fazem parte do Sistema de Gestão da Qualidade - como podemos observar na figura 1 - e são elementos para quantificar atividades e ações específicas com o objetivo de melhorar constantemente os resultados e processos envolvidos (De los Santos et al., 2016; Mortimer & Mortimer, 2015). Devem ser mensuráveis, reproduzíveis, consistentes e apropriados para definir a eficácia e segurança dos procedimentos realizados. Aqueles essenciais para a avaliação de um processo são chamados de indicadores-chave de desempenho (KPIs) e geralmente se referem a três áreas principais: processos, estruturas e resultados (Mainz, 2003; Campbell et al. 2000).

Aproximando o conceito de indicadores para o contexto do laboratório de fertilização *in vitro* (FIV), entendemos que os KPIs relacionados à estrutura descrevem o tipo e a quantidade de recursos presentes no laboratório de FIV, como equipe, equipamento ou consumíveis que são necessários para entregar o serviço com eficiência (Alikani et al., 2006; Mainz, 2003). Já os relacionados ao processo avaliam como e o quão bem feito um determinado procedimento que o laboratório faz pelo paciente está sendo executado, como injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) ou biópsia embrionária. Os indicadores relacionados aos resultados avaliam o efeito do laboratório sobre os resultados atingidos e podem ser intermediários, como a taxa de fertilização e blastulação, ou finais, como a taxa de nascidos vivos (Fabozzi et al., 2020).

Agora que entendemos melhor o que são os indicadores de desempenho e como são divididos, vamos entender qual a importância de termos eles mapeados e utilizados dentro dos laboratórios de FIV.

O monitoramento sistemático dos indicadores, com utilização de limites mínimos de aceitação e seus objetivos, permite o controle e a detecção precoce de problemas e a adoção imediata de ações corretivas para prevenir qualquer impacto clínico, sempre que existir um registro de qualquer mudança nos resultados clínicos de um centro de reprodução humana em um determinado período de tempo (*Mortimer & Mortimer, 2015*).

A taxa de nascidos vivos é o principal resultado na FIV, seguido de imediato pela taxa de implantação. No entanto, existe uma infinidade de fatores que contribuem para sua realização, não dependendo apenas da prática laboratorial. Portanto, é importante distinguir indicadores de resultados laboratoriais de FIV em duas partes: uma na qual o alcance do resultado é principalmente devido à prática laboratorial, independentemente da população de pacientes ou da natureza intrínseca dos gametas ou embriões, e outra em que os resultados finais independem do desempenho do laboratório, mas são substancialmente influenciados por fatores clínicos, como por exemplo a receptividade endometrial (*Fabozzi et al., 2020*).

Por esse motivo, os indicadores de desempenho ajudam a controlar os eventos e devem permanecer dentro de limites de controle pré-estabelecidos, podendo os resultados oscilarem entre um valor de referência inferior e superior de acordo com a flutuação fisiológica relacionada à variabilidade intrínseca de cada paciente (*Mortimer & Mortimer, 2015*).

"Os indicadores de desempenho (PIs) são medidas objetivas para avaliar domínios críticos de saúde e fazem parte do Sistema de Gestão da Qualidade."

No entanto, quando os indicadores ficam abaixo dos valores esperados demonstram a necessidade de uma ação imediata para identificar e solucionar o problema, ou que é preciso determinar se realmente existe um problema. O mesmo acontece quando ultrapassam os limites superiores determinados, evidenciando que uma melhoria foi estabelecida: é necessário uma investigação para determinar se ela é real e sustentável ou ocasional (*Mortimer & Mortimer, 2015*), como podemos observar na figura 2. Em outras palavras, os limites devem ser dinâmicos, realistas e melhorar com o tempo (*Fabozzi et al., 2020*).

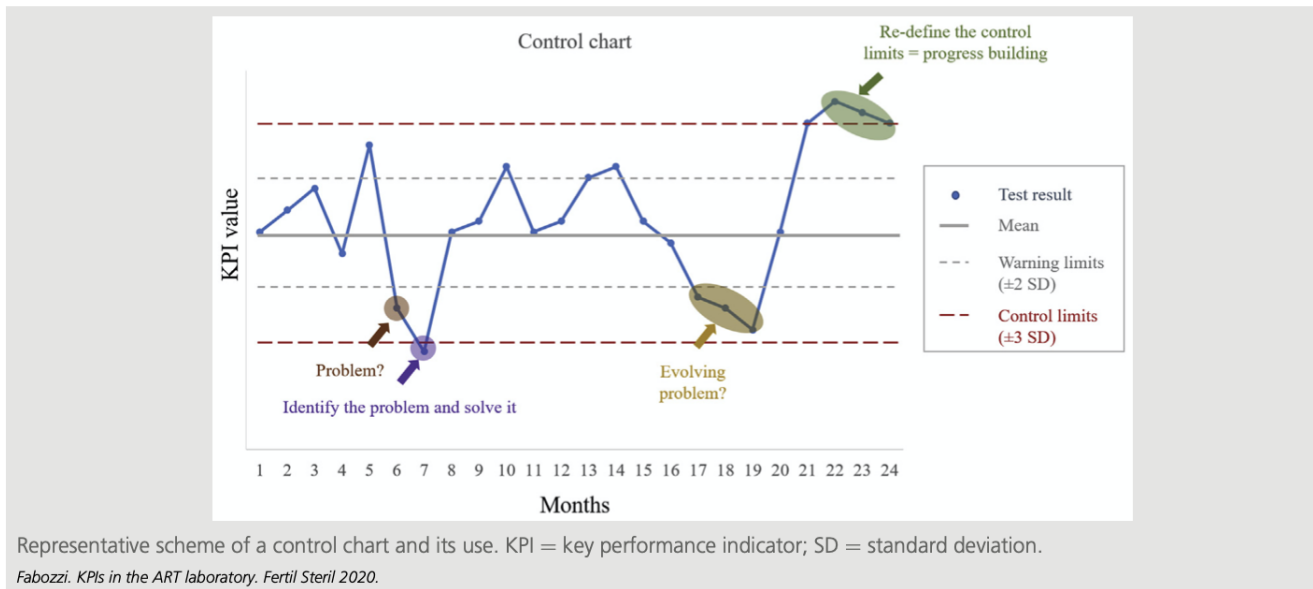


Figura 2. Esquema representativo de um gráfico controle e seu uso. (Reproduzida de Fabozzi et al., 2020).

É importante ressaltar que os KPIs podem estar relacionados a um grupo de referência específico de pacientes com bom prognóstico - como os KPIs utilizados no Consenso de Viena (*Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017*) - ou à população total de pacientes atendida no serviço (*Fabozzi et al., 2020*). Se cada processo laboratorial for constantemente monitorado por seu próprio conjunto de KPIs, e todos estiverem dentro de seus limites de controle durante o período de investigação, a resposta sobre qualquer alteração evidenciada provavelmente será obtida e muitas vezes poderá ser simplesmente relacionada à população de pacientes vindas naquele determinado período e não a variações laboratoriais (*Nelson & Lawlor, 2011*).

Obviamente, muitos indicadores podem ser usados; cada laboratório deve

desenvolver seu próprio conjunto de KPIs com base em seu ambiente e processos (*Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017*).

No entanto, é preferível usar um número menor e eficiente de indicadores para uma melhor gestão da coleta, processamento e análise eficiente dos dados, do que fazer uso de uma quantidade maior que muitas vezes fica perdida e não traz respostas adequadas (*Nelson & Lawlor, 2011*).

"É preferível usar um número menor e eficiente de indicadores do que uma quantidade maior que não traz respostas adequadas"

Claramente, a obtenção de um nascimento saudável em um tratamento de medicina reprodutiva é o resultado de um esforço multidisciplinar que envolve uma infinidade de fatores, desde a primeira consulta, passando pela escolha do estímulo e protocolos hormonais, terminando nos procedimentos do laboratório até transferência de embrião.

Em geral, os indicadores de qualidade são essenciais para estabelecer padrões mínimos de proficiência e monitorar o desempenho contínuo dentro de um programa de gestão de qualidade, fornecendo uma visão geral adequada das etapas laboratoriais mais importantes e permitindo oferecer um serviço de excelência aos pacientes em tratamento. ■

REFERÊNCIAS

Falando em Andrologia - Paula Fontoura

- Ayad BM, Van der Horst G, Du Plessis SS. Revisiting the relationship between the ejaculatory abstinence period and semen characteristics. *Int J Fertil Steril* 2018; 11(4):238-246. DOI 10.22074/ijfs.2018.5192.
- Comar VA, Petersen CG, Mauri AL, Mattila M, Vagnini LD, Renzi A, Petersen B, Nicoletti A, Dieamant F, Oliveira JBA, Baruffi LRL, Franco Jr JG. Influence of the abstinence period on human sperm quality: analysis of 2,458 semen samples. *JBRA Assisted Reproduction* 2017;21(4):306-312. DOI 10.5935/1518-0557.20170052.
- Elzanaty, S. Time-to-Ejaculation and the Quality of Semen Produced by Masturbation at a Clinic. *Urology* 2008;71:883-888. DOI 10.1016/j.urology.2007.12.009.
- Hanson BM, Aston KI, Jenkins TG, Carrell DT, Hotaling JM. The impact of ejaculatory abstinence on semen analysis parameters: a systematic review. *J Assist Reprod Genet.* 2018 Feb;35(2):213-220. DOI 10.1007/s10815-017-1086-0.
- Kvist U, Björndahl L. Semen analysis: an overview. *ESHRE Monographs.* 2002;2:1-4. DOI 10.1093/eshremonographs/2002.2.1.
- Mayorga-Torres BJM, Camargo M, Agarwal A, du Plessis SS, Cadavid AP, Maya WDC. Influence of ejaculation frequency on seminal parameters. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2015;13:47. DOI 10.1186/s12958-015-0045-9.
- Okada FK, Andretta RR, Spaine DM. One day is better than four days of ejaculatory abstinence for sperm function. *Reproduction and Fertility* 2020;1:1-10. DOI 10.1530/RAF-20-0018.
- Oseguera-López I, Ruiz-Díaz S, Ramos-Ibeas P, Pérez-Cerezales S. Novel Techniques of Sperm Selection for Improving IVF and ICSI Outcomes. *Front Cell Dev Biol* 2019;7:298. DOI 10.3389/fcell.2019.00298.
- Sakkas D, Ramalingam M, Garrido N, Barratt CLR. Sperm selection in natural conception: what can we learn from Mother Nature to improve assisted reproduction outcomes? *Hum Reprod Update* 2015 Nov-Dec;21(6):711-26. DOI 10.1093/humupd/dmv042.
- WHO. (2010) *Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen*, 5th ed. Geneva: WHO Press, World Health Organization.

REFERÊNCIAS

Falando em Embriologia- Nuria Soler Balaguer

- Azevedo AR, Pinho MJ, Silva J, Sá R, Thorsteinsdóttir S, Barros A, et al. Molecular Cytogenetics of Human Single Pronucleated Zygotes. *Reprod Sci* 2014;21(12):1472-82.
- Bradley CK, Traversa M V., Hobson N, Gee AJ, McArthur SJ. Clinical use of monopronucleated zygotes following blastocyst culture and preimplantation genetic screening, including verification of biparental chromosome inheritance. *Reprod Biomed Online* 2017;34(6):567-74.
- Capalbo A, Treff N, Cimadomo D, Tao X, Ferrero S, Vaiarelli A, et al. Abnormally fertilized oocytes can result in healthy live births: improved genetic technologies for preimplantation genetic testing can be used to rescue viable embryos in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2017;108(6):1007-15.e3.
- Chen X, Shi S, Mao J, Zou L, Yu K. Developmental Potential of Abnormally Fertilized Oocytes and the Associated Clinical Outcomes. *Front Physiol.* 2020; 11:528424.
- Destouni A, Dimitriadou E, Masset H, Debrock S, Melotte C, Van Den Bogaert K, et al. Genome-wide haplotyping embryos developing from OPN and 1PN zygotes increases transferrable embryos in PGT-M. *Hum Reprod* 2018;33(12):2302-11.
- Flaherty SP, Payne D, Swann NJ, Matthews CD. Aetiology of failed and abnormal fertilization after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1995;10(10):2623-9.
- Hirata K, Goto S, Izumi Y, Taguchi M, Hayashi A, Fujioka M, et al. Chromosome analysis of blastocysts derived from single pronuclear zygotes by array CGH and clinical outcomes by the transfer of single pronuclear zygotes. *J Assist Reprod Genet* 2020;37(7):1645-52.
- Hondo S, Arichi A, Muramatsu H, Omura N, Ito K, Komine H, et al. Clinical outcomes of transfer of frozen and thawed single blastocysts derived from nonpronuclear and monopronuclear zygotes. *Reprod Med Biol* 2019;18(3):278-83.
- Itoi F, Asano Y, Shimizu M, Honnma H, Murata Y. Birth of nine normal healthy babies following transfer of blastocysts derived from human single-pronucleate zygotes. *J Assist Reprod Genet* 2015;32(9):1401-7.
- Kai Y, Iwata K, Iba Y, Mio Y. Diagnosis of abnormal human fertilization status based on pronuclear origin and/or centrosome number. *J Assist Reprod Genet* 2015;32(11):1589-95.
- Kovacic B, Vlaisavljevic V. Configuration of maternal and paternal chromatin and pertaining microtubules in human oocytes failing to fertilize after intracytoplasmic sperm injection. *Mol Reprod Dev* 2000;55(2):197-204.
- Leng L, Ouyang Q, Kong X, Gong F, Lu C, Zhao L, et al. Self-diploidization of human haploid parthenogenetic embryos through the Rho pathway regulates endomitosis and failed cytokinesis. *Sci Rep* 2017;7(1):1-10(4242).
- Li M, Dang Y, Wang Y, Li J, Liu P. Value of transferring embryos derived from monopronucleated (1PN) zygotes at the time of fertilization assessment. *Zygote* 2020;28(3):241-6.
- Li M, Huang J, Zhuang X, Lin S, Dang Y, Wang Y, et al. Obstetric and neonatal outcomes after the transfer of vitrified-warmed blastocysts developing from nonpronuclear and monopronuclear zygotes: a retrospective cohort study. *Fertil Steril* 2021;115(1):110-17.

REFERÊNCIAS

Falando em Embriologia- Nuria Soler Balaguer - continuação

- Lim AYG, Lee CSS. Embryos arising from apronuclear (OPN) and unipronuclear (1PN) have similar euploidy rates with those from 2PN and should be considered for transfer. *Fertil Reprod* 2019;1(2):73-7.
- Mateo S, Vidal F, Parriego M, Rodríguez I, Montalvo V, Veiga A, et al. Could monopronucleated ICSI zygotes be considered for transfer? Analysis through timelapse monitoring and PGS. *J Assist Reprod Genet* 2017;34(7):905-11.
- Ottolini CS, Newnham L, Capalbo A, Natesan SA, Joshi HA, Cimadomo D, et al. Genome-wide maps of recombination and chromosome segregation in human oocytes and embryos show selection for maternal recombination rates. *Nat Genet* 2015;47(7):727-35.
- Reichman DE, Jackson KV, Racowsky C. Incidence and development of zygotes exhibiting abnormal pronuclear disposition after identification of two pronuclei at the fertilization check. *Fertil Steril* 2010;94(3):965-70.
- Rosenbusch B. The chromosomal constitution of embryos arising from monopronuclear oocytes in programmes of assisted reproduction. *Int Reprod Med* 2014:418198.
- Si J, Zhu X, Lyu Q, Kuang Y. Obstetrical and neonatal outcomes after transfer of cleavage-stage and blastocyst-stage embryos derived from monopronuclear zygotes: a retrospective cohort study. *Fertil Steril* 2019;112(3):527-33.
- Staessen C, Janssenswillen C, Devroey P, Van Steirteghem AC. Cytogenetic and morphological observations of single pronucleated human oocytes after in-vitro fertilization. *Hum Reproduction* 1993;8(2):221-3.
- Staessen C, Van Steirteghem AC. The chromosomal constitution of embryos developing from abnormally fertilized oocytes after intracytoplasmic sperm injection and conventional in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1997;12(2):321-7.
- Van der Heijden GW, van den Berg IM, Baart EB, Derijck AA, Martini E, de Boer P. Parental origin of chromatin in human monopronuclear zygotes revealed by asymmetric histone methylation patterns, differs between IVF and ICSI. *Mol Reprod Dev* 2009;76(1):101-8.
- Xie PY, Tang Y, Hu L, Ouyang Q, Gu YF, Gong F, et al. Identification of biparental and diploid blastocysts from monopronuclear zygotes with the use of a single-nucleotide polymorphism array. *Fertil Steril* 2018;110(3):545-54.

REFERÊNCIAS

Falando em Genética - Sidney Verza Jr

- Coprerski B, Moraes CE et al, Hibridação genômica comparativa por array (aCGH). In: Azambuja R, Mancebo AC et al (Org). Reprodução Assistida – Técnicas de laboratório. 1ª Ed, Porto Alegre, RS: AGE, 2017. Pag-217-26.
- Martinhago CD, Martinhago ACN. Análise embrionária por microarray (SNP array + marcadores não polimórficos). In: Azambuja R, Mancebo AC et al (Org). Reprodução Assistida – Técnicas de laboratório. 1ª Ed, Porto Alegre, RS: AGE, 2017. Pag-227-41.
- Cuzzi JF, Barquero PHL, Hanssun Fº PAH. Sequenciamento de última geração (NGS). In: Azambuja R, Mancebo AC et al (Org). Reprodução Assistida – Técnicas de laboratório. 1ª Ed, Porto Alegre, RS: AGE, 2017. Pag-242-48.
- Treff NR, Eccles J, Marin D, Messick E, et al. Preimplantation Genetic Testing for Polygenic Disease Relative Risk Reduction: Evaluation of Genomic Index Performance in 11,883 Adult Sibling Pairs. Genes 2020, 11, 648.

REFERÊNCIAS

Com a Palavra - Amanda Begatti Victorino Monteiro

1. Kohn LT, Corrigan JM, Donaldson MS. To Err is Human: Building a Safer Health System. Washington, DC: National Academies Press, 2000.
2. De los Santos MJ, Apter S, Coticchio G, Debrock S, Lundin K, Plancha CE, et al. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories (2015). Hum Reprod 2016;31:685-6.
3. Mortimer S, Mortimer D. Quality and risk management in the IVF laboratory. Cambridge: Cambridge University Press; 2015.
4. Mainz J. Defining and classifying clinical indicators for quality improvement. Int J Qual Health Care 2003;15:523-30.
5. Campbell SM, Cantrill JA, Roberts D. Prescribing indicators for UK general practice: Delphi Consultation Study. BMJ 2000;321:425-8.
6. Alikani M, Go KJ, McCaffrey C, McCulloh DH. Comprehensive evaluation of contemporary assisted reproduction technology laboratory operations to determine staffing levels that promote patient safety and quality care. Fertil Steril 2014;102:1350
7. Gemma Fabozzi, M.Sc., Danilo Cimadomo, M.Sc., Ph.D., Roberta Maggiulli, M.Sc., Alberto Vaiarelli, M.D., Ph.D., Filippo Maria Ubaldi, M.D., Ph.D., and Laura Rienzi, M.Sc. Which key performance indicators are most effective in evaluating and managing an in vitro fertilization laboratory?
8. ESHRE Special Interest Group of Embryology, Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. Reprod Biomed Online 2017;35:494-510.
9. Nelson SM, Lawlor DA. Predicting live birth, preterm delivery, and low birth weight in infants born from in vitro fertilisation: a prospective study of 144,018 treatment cycles. PLoS Med 2011; 8:e1000386.



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)

APOIO