

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER**

LAUDISLENA COLODETTI

**COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES INTERVALOS DE CULTIVO APÓS
DESCONGELAMENTO DE EMBRIÕES, EM ESTÁGIO DE CLIVAGEM, E SUA
INFLUÊNCIA NAS TAXAS DE SUCESSO DE TRATAMENTO COM TÉCNICAS DE
REPRODUÇÃO ASSISTIDA**

**BELO HORIZONTE
2020**

LAUDISLENA COLODETTI

**COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES INTERVALOS DE CULTIVO APÓS
DESCONGELAMENTO DE EMBRIÕES, EM ESTÁGIO DE CLIVAGEM, E SUA
INFLUÊNCIA NAS TAXAS DE SUCESSO DE TRATAMENTO COM TÉCNICAS DE
REPRODUÇÃO ASSISTIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Mulher da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Reprodução Humana e Patologia Ginecológica.

Orientador: Prof. Dr. Selmo Geber

BELO HORIZONTE
2020

C718c Colodetti, Laudislina.
Comparação entre diferentes intervalos de cultivo após descongelamento de embriões, em estágio de clivagem, e sua influência nas taxas de sucesso de tratamento com técnicas de reprodução assistida [manuscrito]. / Laudislina Colodetti. -- Belo Horizonte: 2020.

38 f.: il.

Orientador (a): Selmo Geber.

Coorientador (a): Rodrigo Hurtado.

Área de concentração: Patologia Ginecológica e Reprodução.

Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Vitrificação. 2. Técnicas de Reprodução Assistida. 3. Transferência Embrionária. 4. Desenvolvimento Embrionário. 5. Fase de Clivagem do Zigoto. 6. Dissertação Acadêmica. I. Geber, Selmo. II. Hurtado, Rodrigo. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WQ 208



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

UFMG

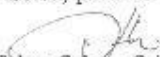
FOLHA DE APROVAÇÃO

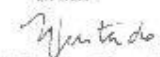
**COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES INTERVALOS DE CULTIVO APÓS
DESCONGELAMENTO DE EMBRIÕES, EM ESTÁGIO DE CLIVAGEM, E
SUA INFLUÊNCIA NAS TAXAS DE SUCESSO DE TRATAMENTO COM
TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA**

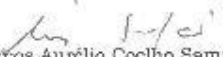
LAUDISLENA COLODETTI

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós Graduação em SAÚDE DA MULHER, como requisito para obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, área de concentração PATOLOGIA GINECOLÓGICA E REPRODUÇÃO.

Aprovada em 14 de fevereiro de 2020, pela banca constituída pelos membros:


Prof(a). Selma Geber - Orientador
UFMG


Prof(a). Rodrigo Hurtado
UFMG


Prof(a). Marcos Aurélio Coelho Sampaio
Clínica ORIGEN

Belo Horizonte, 14 de fevereiro de 2020.

Para mamãe, que sempre me ensinou o que é amor.

Te amo pra sempre!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família que sempre esteve presente, me apoiando e torcendo por mim.

Obrigada Edmundo, por consertar meus erros nesta caminhada.

Ao meu irmão do coração, Daniel Bucker, que me ajudou em toda essa caminhada, me consolou e acalmou algumas vezes e me fez sorrir sempre!! Você é parte da minha família.

Ao meu amigo, Dr. Ricardo Leão, que me recebeu tão carinhosamente na Clínica Santafertil e descortinou o mundo da Reprodução Assistida para mim. Obrigada por todos os ensinamentos.

A minha querida parceira de trabalho, Dr.^a Janice Dolabela, amiga do coração, com quem aprendo todos os dias. Obrigada por estar sempre presente.

Às colegas de trabalho na Clínica Santafertil, Rafaela, Juliana, Kellen, Jacqueline, Monalisa, Luiza e Samara, que me ajudam tanto e tornam meu dia a dia mais leve e feliz.

Ao amigo Dr. Rodrigo Hurtado, que compartilhou comigo tantos ensinamentos e me ajudou em tantos momentos de aperto.

À equipe da Clínica Origen, em especial as embriologistas, que foram tão importantes para a realização deste trabalho e que me acolheram com tanto carinho.

Ao meu querido chefe, Dr. Marcos Sampaio. Um gênio como poucos, que abriu as portas de sua clínica para mim e me ensinou tanto. Obrigada pela acolhida tão generosa. Seus ensinamentos vão seguir comigo para sempre!!

Ao meu querido orientador, Prof. Dr. Selmo Geber, que me deu este presente de poder voltar à faculdade depois de tantos anos. Obrigada por me acolher, por me ensinar e por despertar em mim o desejo pela vida acadêmica. Vou guardar com carinho tudo o que me ensinou.

Muito obrigada a todos!!

RESUMO

Introdução: O congelamento de embriões é um procedimento rotineiro nos tratamentos de Reprodução Assistida. A transferência de embriões descongelados permite utilização de todos os embriões que foram obtidos num ciclo de tratamento e pode ser realizada com embriões em estágio de clivagem (dia 2 -D2 ou dia 3-D3 de desenvolvimento) ou em blastocisto.

Objetivo: Avaliar se embriões em clivagem selecionados para transferência após cultivo prolongado após descongelamento (18-24 horas) apresentavam taxas maiores de gravidez quando comparados com embriões transferidos após intervalo curto de cultivo após descongelamento (2-5 horas).

Métodos: Realizado estudo duplo-cego, randomizado e controlado. Um total de 388 pacientes que foram submetidas a tratamento de Reprodução Assistida, tiveram seus embriões congelados em clivagem(D2) e posteriormente transferidos. Todas as pacientes tiveram o mesmo preparo endometrial com valerato de estradiol seguido por progesterona vaginal. Foram randomizadas 179 pacientes no grupo D2 (embriões em clivagem-D2 foram descongelados mantidos em cultivo por 2-5 horas e transferidos a seguir) e 209 no grupo D2/D3 (embriões em clivagem-D2 descongelados, mantidos em cultivo prolongado por 18-24 horas e transferidos a seguir).O desfecho principal foi a taxa de gravidez em evolução (20^a semana de gestação).

Resultados: Um total de 179 pacientes tiveram embriões descongelados e transferidos após 2-5 horas de cultivo (grupo D2) e 209 tiveram, embriões descongelados e transferidos após cultivo prolongado por 18-24 horas (grupo D2/D3). A idade média das pacientes do grupo D2 foi $36 \pm 4,4$ anos e $36 \pm 5,4$ anos no grupo D2/D3. A taxa de gravidez em evolução foi de 28 % e 33,5% ($p=0,2$) nos grupos D2 e D2/D3, respectivamente.

Conclusão: Os resultados sugerem que aumentar o tempo de cultivo em mais um dia para melhorar a seleção embrionária antes da transferência, não aumenta as taxas de gravidez em evolução

Palavras-chave: vitrificação, transferência de embrião descongelado, cultivo embrionário, embriões em clivagem, técnicas de reprodução assistida

ABSTRACT

Objective: evaluate whether selecting embryos for transfer after prolonged culture after thaw (18-24 hours) has better pregnancy rates than selecting embryos for transfer after short culture after thaw (2-5 hours).

Design: Double-blinded, randomized, controlled trial

Setting: Private IVF center

Patient(s): A total of 388 patients submitted to ART treatment who had embryos frozen on day-2 and subsequently transferred. All patients received the same endometrial priming with estradiol valerate followed by vaginal progesterone.

Intervention(s): Randomization for Frozen embryo transfer 2-5 hours after thaw (Group D2) or 18-24 hours after thaw (Group D2/D3).

Main Outcome Measure(s): Ongoing pregnancy rate (OPR) at 20 weeks' gestation per embryo transfer

Results: A total of 179 patients had embryos transferred 2-5 hours after thaw and 209 patients had embryos transferred 18-24 hours after thaw. The mean age in group D2 was 36 ± 4.4 and 36 ± 5.4 in group D2/D3. Ongoing pregnancy rate was 28% and 33.5% ($p=0.2$) for groups D2 and D2/D3, respectively.

Conclusions: These results suggest that increasing the culture time of embryos in one day to improve selection before transfer does not increase ongoing pregnancy rate.

Clinical Trial Registration Number: NCT03381001

Key Words: Vitrification, Frozen embryo transfer, embryo culture, Cleavage stage, ART

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma de análise das pacientes: do recrutamento até análise final do estudo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fatores de infertilidade das pacientes submetidas a transferência de embriões em clivagem descongelados após cultivo curto ou prolongado

Tabela 2: Idade, características laboratoriais e desfechos clínicos das pacientes submetidas a transferência de embriões em clivagem descongelados após cultivo curto ou prolongado.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CONEP- Comitê nacional de ética em pesquisa

D2- Estágio de desenvolvimento embrionário- embrião em dia 2

D3- Estágio de desenvolvimento embrionário- embrião em dia 3

DMSO- Dimetilsulfóxido

EG- Etilenoglicol

EOC-Estimulação ovariana controlada

FIV- Fertilização in vitro

GnRH- Hormônio liberador de gonadotrofina

hCG- Gonadotrofina coriônica humana

ICSI- Injeção intracitoplasmática de espermatozoide

IUI- Inseminação intra uterina

ISCA- Infertilidade sem causa aparente

LH- Hormônio luteinizante

MII- Óvulos em metáfase II

NICE- The national institute of health and care excellence

OMS- Organização Mundial da Saúde

PROH- Propilenoglicol

SHEO- Síndrome de hiperestimulação ovariana

TCLE- Termo de consentimento livre e esclarecido

TEC-Transferência de embrião congelado

TRA- Tratamentos de reprodução assistida

UFMG- Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Fertilização in Vitro	13
1.2. Congelamento de embriões	14
2. OBJETIVO	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1. Pacientes	21
3.2. Estimulação ovariana e punção folicular	21
3.3. Fertilização in vitro, cultivo e transferência embrionária	22
3.4. Vitrificação e desvitrificação	23
3.5. Preparo endometrial	23
3.6. Transferência de embriões e resultados	24
3.7. Randomização	25
3.8. Análise estatística	25
4. RESULTADOS	26
5. DISCUSSÃO	29
6. CONCLUSÃO	32
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
8. ANEXOS	37
8.1. Termo de consentimento livre e esclarecido	37
8.2. Parecer da CONEP	39

1. INTRODUÇÃO

A infertilidade é uma condição comum com importantes repercussões psicológicas, econômicas, demográficas e médicas. A demanda por serviços de infertilidade tem crescido substancialmente e este fenômeno é provavelmente explicado pela publicidade que se tem dado para os problemas de infertilidade atualmente (1).

Trata-se de uma situação médica única porque envolve um casal, em vez de uma única pessoa. É definida, pela Organização Mundial da Saúde, como a incapacidade de um casal conceber após 12 meses de relações sexuais regulares, sem contracepção (2). Estima-se que a infertilidade conjugal atinja entre 10 e 15% da população mundial, isto é, aproximadamente 50 a 80 milhões de pessoas.

Tem-se observado um aumento em sua incidência em função de questões como idade das mulheres com desejo de gravidez, adiamento da maternidade, aumento da prevalência de infecções de transmissão sexual, sedentarismo, obesidade, uso de álcool, tabaco, além da exposição à poluição (3).

Aproximadamente 50% das causas de infertilidade são de origem feminina, 20-30% por fatores masculinos, 20-30% são associação de fatores masculinos e femininos e em 10% não se identifica a causa (infertilidade sem causa aparente) (4,5). Dentre as principais causas de infertilidade masculina pode-se citar disfunção testicular, que leva à alteração na espermatogênese, e, ainda, razões congênitas, como na Síndrome de Klinefelter e na microdeleção do cromossomo Y. Há também causas adquiridas que podem ser resultado de trauma, torções, varicocele, infecções e cirurgias ou, também, idiopáticas. Finalmente, observam-se fatores pós testiculares, relacionados a disfunções ejaculatórias ou obstrutivas (4). As causas mais comuns de infertilidade feminina são disfunções ovulatórias, incluindo insuficiência ovariana primária, hipogonadismo hipogonatrófico, síndrome dos ovários policísticos, hiperprolactinemia, que respondem por 40% das causas femininas e, também,

obstrução tubária, endometriose, alterações uterinas e infertilidade sem causa aparente (ISCA) (5).

As alternativas terapêuticas para a infertilidade conjugal podem envolver uso de medicamentos, cirurgias e técnicas de reprodução assistida. Estas podem ser divididas em baixa e alta complexidade. As técnicas de reprodução assistida de baixa complexidade são a estimulação ovariana com coito programado e a inseminação intrauterina.

A estimulação ovariana para correção da disfunção ovulatória pode ser feita com uso de medicamentos cujo objetivo é estimular a ovulação. O ciclo é monitorizado por ultrassonografia seriada e quando, a paciente apresenta de um a três folículos com espessura maior que 18 mm, recebe uma injeção de hCG que simulará o pico de LH e promoverá a ovulação. O casal, então, é orientado ao coito (6).

Existe ainda a possibilidade de realização da Inseminação Intra-Uterina (IIU), que consiste em injetar o sêmen previamente preparado no laboratório, diretamente na cavidade endometrial. A IIU está indicada para os casos de infertilidade sem causa aparente (ISCA), endometriose leve, impossibilidade de ejaculação durante o coito, fator masculino leve, casais homoafetivos femininos utilizando sêmen de banco. Nestes casos, os resultados são melhores quando existe uma associação com estimulação ovariana (6).

Enquanto uma parcela dos casais com dificuldade para engravidar vai atingir seu objetivo com técnicas de baixa complexidade, outra parte tem indicação para uso de técnicas de alta complexidade, como a Fertilização in Vitro (FIV) e a Injeção Intracitoplasmática dos espermatozoides (ICSI).

1.1. Fertilização in Vitro

A técnica de FIV foi desenvolvida inicialmente para o tratamento da infertilidade por fator tubário e teve seu primeiro nascimento descrito em 1978 (Stephoe e Edwards) (7). Em seguida, observou-se um desenvolvimento expressivo das técnicas de laboratório e dos métodos

de estimulação ovariana, o que permitiu melhora significativa das taxas de gravidez e maior facilidade na realização dos tratamentos, levando a uma expansão nas indicações terapêuticas.

A técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) foi descrita em 1992 e permitiu tratamento dos casais com fator masculino grave (concentração total de espermatozoides móveis < 1 milhão) e ampliou ainda mais as indicações para tratamentos de Reprodução Assistida (8).

O tratamento consiste em estimulação ovariana controlada com gonadotrofinas associadas ao análogo agonista ou antagonista do hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH), a fim de impedir o pico endógeno do hormônio luteinizante (LH) e a consequente ovulação. Com isso, é possível se aspirar os folículos, identificar os oócitos em laboratório, fazer a inseminação pela técnica de FIV convencional ou por ICSI e acompanhar o cultivo embrionário in vitro. Os embriões que apresentarem maior potencial para implantação são então transferidos ao útero. Os embriões excedentes podem ser armazenados para posterior transferência em casos em que não houve implantação ou mesmo quando existe o desejo de nova gravidez, sem que haja necessidade de nova estimulação ovariana seguida de punção folicular.

Assim, o desenvolvimento das técnicas de RA permitiu a formação de vários embriões em um mesmo ciclo, levando à necessidade do desenvolvimento das técnicas de criopreservação. Para que tal estratégia possa ser adotada, é necessário que o procedimento apresente uma elevada taxa de sobrevivência e que os embriões descongelados mantenham seu potencial de desenvolvimento e implantação após o descongelamento.

1.2. Congelamento de embriões

Em 1983, foi descrita a primeira gravidez proveniente de embrião descongelado com um protocolo envolvendo o uso de agentes crioprotetores permeáveis que já tinham sido

utilizados previamente em modelos animais com resultados satisfatórios (9). Neste estudo, 16 embriões provenientes de tratamentos de FIV foram transferidos para 15 pacientes após congelamento e descongelamento. Embriões de quatro e oito células (34-60 horas de cultivo) foram criopreservados utilizando glicerol ou dimetilsulfóxido (DMSO) como agentes crioprotetores e, posteriormente, foram descongelados e transferidos após ovulação espontânea das pacientes. Houve transferência apenas de embriões que apresentavam pelo menos 50% dos blastômeros iniciais morfológicamente normais após 4-12 horas de cultivo após o descongelamento. Das 15 pacientes, uma apresentou gravidez (9). Em 1984, foram descritas mais duas gestações provenientes de embriões descongelados utilizando o mesmo protocolo acima, sendo que uma das gestações terminou em nascimento de gêmeos monozigóticos com 35 semanas e perfeitamente normais (10).

Desde que essas gestações foram descritas, vários protocolos de congelamento têm sido apresentados com diferenças no tipo e concentração dos crioprotetores, tempo para equilíbrio osmótico das soluções usadas, taxas de congelamento e equipamentos utilizados (11). Os dois principais métodos de congelamento em uso até o momento são congelamento lento e vitrificação. O primeiro deles utiliza baixas concentrações de crioprotetores permeáveis e impermeáveis que promovem uma desidratação progressiva juntamente com a redução lenta da temperatura. Os crioprotetores permeáveis têm capacidade de transpor a membrana celular. Sua principal função é diminuir o ponto de congelamento da água. São utilizados também crioprotetores impermeáveis que possuem a finalidade de promover a saída da água das células, por desidratação osmótica (12). Devido ao resfriamento de forma lenta, ocorre formação de gelo extracelular e desidratação incompleta da célula, com subsequente formação de gelo intracelular (13). Para evitar cristalização excessiva, que é a maior causa de injúria celular, faz-se necessário um descongelamento rápido. Durante tal descongelamento, a retirada dos crioprotetores é realizada por múltiplas diluições progressivas na presença de sacarose, que é

um crioprotetor impermeável. Após a retirada completa, o material é mantido em cultivo para se restabelecer (14). O congelamento lento requer equipamento específico, programável e, por isso mesmo, sua execução é mais dispendiosa e demorada (15).

Apesar de ter sido usado dimetilsulfóxido (DMSO) como crioprotetor, nas primeiras gestações descritas esta substância foi rapidamente substituída por outras menos prejudiciais aos embriões. A combinação de propileno-glicol (PROH) com sacarose, associada a curvas de congelamento mais acuradas, tem sido amplamente utilizadas(16).

A vitrificação foi realizada pela primeira vez em 1985, por Rall e Fahy (19), e após demonstrar sua eficácia e praticidade, esse método vem sendo amplamente utilizado. Contrastando com o congelamento lento, a vitrificação é um método que permite a solidificação das células em um estado vítreo, sem formação de gelo. O procedimento mais utilizado de vitrificação em mamíferos requer altas concentrações de crioprotetores em pequenos volumes, a fim de promover a desidratação em um curto período de tempo. Em seguida, o material é colocado em um suporte e imerso diretamente em nitrogênio líquido, com velocidade rápida de resfriamento, para diminuir danos advindos de altas concentrações de crioprotetores, impedir a cristalização e promover a vitrificação (17). Nos últimos 15 anos, vários protocolos foram descritos com diferentes crioprotetores em diferentes concentrações. Hoje, o mais comumente utilizado é uma combinação de DMSO + etileno-glicol (EG) + sacarose em um volume mínimo ($\leq 1\mu\text{l}$) (18).

A vitrificação parece ser o método de escolha para congelamento de embriões, por ser mais rápida, mais simples, com maior custo benefício e apresentar taxas mais elevadas de sobrevivência após o descongelamento (16). Segundo Edgar & Gook em 2012 (11), a vitrificação parece ser o método de escolha para embriões em blastocistos, enquanto que, para embriões em clivagem, tanto a vitrificação como o congelamento lento podem ser utilizados com resultados similares. Também Fasano, em 2014 (20), em outro estudo randomizado

comparando vitrificação e congelamento lento, observa que a taxa de sobrevivência após descongelamento é maior na vitrificação de embriões em clivagem, mas não houve diferença na taxa de implantação. Em 2015, Debrock, em um outro estudo randomizado, observa que a vitrificação de embriões em clivagem resultava em maior taxa de nascidos vivos por embrião descongelado (21). Finalmente, Rienzi, em uma metanálise de 2016, afirma que a vitrificação é o melhor método para criopreservação de gametas e embriões em qualquer estágio de desenvolvimento, propiciando maiores taxas de sobrevivência após o descongelamento e melhores resultados clínicos, quando comparados com congelamento lento (16).

Com o advento da criopreservação e a melhoria progressiva das técnicas disponíveis, seu uso se tornou rotineiro nos laboratórios de Reprodução Humana, sendo utilizado nos casos em que se tem embriões excedentes. Outras situações em que se demanda o congelamento dos embriões referem-se a casos nos quais a transferência a fresco não pode ser utilizada devido ao risco de síndrome de hiperestimulação ovariana (SHEO), na presença de endométrio inadequado ou quando os níveis de progesterona no dia da indução da retomada da meiose estão elevados (22). Tal estratégia é chamada de *Freeze all* (congelar todos) ou congelamento de embriões eletivo.

Recentemente, essa estratégia foi proposta com uma alternativa rotineira. Roque *et al.*, em 2013, e Shapiro *et al.*, em 2014, (23, 24) mostraram que as taxas de implantação e gravidez aumentaram significativamente em ciclos de TEC (transferência de embriões congelados) quando comparadas com ciclos a fresco. Os autores aventaram a possibilidade de uma melhor sincronia do endométrio com os embriões, já que o mesmo não está submetido às alterações do ciclo de estimulação ovariana (23, 24). Esses resultados, entretanto, não foram posteriormente confirmados, sendo a TEC indicada em casos específicos (25).

Nesse sentido, a criopreservação de embriões é indicada nas seguintes situações: ciclos em que há embriões excedentes; casos em que o risco de síndrome de hiperestimulação

ovariana é real; quando os níveis hormonais não são adequados para transferência a fresco; para mulheres submetidas a tratamentos com quimioterapia e radioterapia que desejam preservar sua fertilidade; e em situações com indicação de diagnóstico genético preimplantacional, já que os embriões são submetidos a biópsia embrionária preferencialmente no dia 5 de desenvolvimento (em estágio de blastocisto) e os resultados das mesmas podem levar até 15 dias para ficarem prontos.(26)

Tradicionalmente, os embriões eram transferidos em estágio de clivagem, porém, nos últimos anos, existe uma tendência à transferência de embriões em estágio de blastocistos. A transferência neste estágio parece ser mais fisiológica por apresentar melhor sincronia entre endométrio e embrião. As mulheres submetidas à transferência de blastocistos a fresco apresentam maiores taxas de nascidos vivos comparadas com aquelas em que são transferidos embriões em clivagem a fresco (27). Entretanto, não se observou diferença na taxa cumulativa de gravidez entre transferências em blastocistos e embriões em clivagem quando comparadas com transferências apenas em blastocistos. Além disso, a Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva e o *guideline* de infertilidade publicado pela NICE em 2013 manifestaram preocupação com o uso da transferência em blastocisto para reprodução assistida (28, 29), já que o número de embriões diminui com o aumento do tempo em cultivo. Nesse sentido, prolongar o cultivo até blastocisto pode reduzir o número de embriões viáveis para criopreservação e posterior transferência após descongelamento e aumentar o número de ciclos sem transferência, o que leva a repercussões financeiras e emocionais importantes. Portanto, até o momento, não está estabelecido qual o melhor estágio do desenvolvimento embrionário para criopreservação, uma vez que boas taxas de sobrevivência, implantação, gestação e nascidos vivos foram reportadas em todos os estágios, e por diversos grupos (30).

As condições laboratoriais de cultivo, congelamento e descongelamento embrionário são fundamentais para o sucesso da técnica de criopreservação. Em relação aos embriões

congelados em estágio de clivagem, a seleção para transferência é baseada na morfologia e avaliação da sobrevivência das células após o descongelamento, realizada de duas a cinco horas após o procedimento (31, 32). Outra alternativa é mantê-los em cultivo por mais 18 a 24 horas e realizar nova avaliação, observando-se a proliferação dos blastômeros. Uma vez presente, indicaria a retomada da mitose e do metabolismo celular (33, 34, 35).

Para alguns autores, a capacidade de reassumir a divisão celular após o descongelamento significa um bom padrão de seleção para os embriões. Ziebe *et al.* (1998), em estudo retrospectivo, demonstraram que selecionar os embriões pela morfologia e retomada da divisão celular, a partir de cultivo prolongado, permitiu melhora nos resultados de gravidez (36). Joshi *et al.* (2010) e O'Shea *et al.* (2016) também demonstraram, após estudos retrospectivos, que transferir embriões que clivaram durante cultivo prolongado, após descongelamento, aumentou significativamente a taxa de gravidez quando comparado com a transferência dos embriões que não clivaram (35, 37).

Por outro lado, Rato *et al.* (2012) demonstraram, em estudo retrospectivo, que o cultivo prolongado diminui as taxas de implantação e o potencial de desenvolvimento dos embriões em clivagem (32). Por fim, Guo *et al.* (2013) demonstraram não haver diferença nas taxas de implantação, gravidez e nascidos vivos, quando compararam, retrospectivamente, ciclos de TEC após cultivo prolongado e cultivo curto (38).

Assim, devido à falta de consenso e por todos os dados conhecidos até hoje serem advindos de estudos retrospectivos, este estudo duplo cego, randomizado e prospectivo foi desenvolvido no sentido de avaliar se a análise embrionária realizada 18 a 24 horas após o descongelamento, comparada com aquela realizada duas a cinco horas depois, para seleção dos embriões para transferência, interfere nas taxas de gravidez.

2. OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi comparar, prospectivamente, diferentes intervalos de cultivo após descongelamento de embriões em clivagem e sua influência nos resultados dos tratamentos de reprodução assistida.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Pacientes

Foi realizado um estudo prospectivo, randomizado, duplo cego, no período de maio de 2017 a dezembro de 2018 com pacientes submetidas a tratamento pela técnica de Reprodução Assistida que tiveram transferência de embriões congelados. Todas elas concordaram em participar e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. O estudo foi aprovado pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP parecer nº2.048.266) e incluído no Clinicaltrials.gov (NCT03381001). As pacientes foram randomizadas em dois grupos. No Grupo D2 (n=179), foram incluídas as pacientes que receberam embriões descongelados e transferidos no mesmo dia, isto é, cultivados por duas a cinco horas. No Grupo D2/D3 (n=209), foram incluídas as pacientes que receberam embriões desvitrificados um dia antes da transferência e assim foram cultivados por 18-24 horas (D3). Tais pacientes possuíam entre 18 e 59 anos, tendo sido submetidas a tratamento de fertilização in vitro (FIV) com transferência de embriões realizada somente com embriões de boa qualidade, isto é, com menos de 20% de fragmentação e blastômeros simétricos. Os critérios de exclusão foram os seguintes: pacientes com aborto de repetição, fator masculino grave (criptozoospermia e azoospermia), patologias uterinas, uso de embriões re-vitrificados, transferência de embriões difícil (uso de cateter rígido, sangramento no cateter interno, uso de pinça de Pozzi) (39). Todos os embriões de boa qualidade foram criopreservados. A estratégia de *Freeze all* foi utilizada no sentido de evitar a síndrome de hiperestímulo ovariano, quando os níveis de progesterona sérico estavam maiores que 1,5 ng/ml no dia da administração do hCG e quando o endométrio encontrava - se com espessura menor que 7mm no dia do hCG.

3.2. Estimulação ovariana e punção folicular

A estimulação ovariana controlada (EOC) foi realizada seguindo protocolo de antagonista ou agonista do GnRH. No protocolo antagonista, as pacientes receberam

gonadotrofinas recombinantes (Gonal-F® ou Pergoveris®; Merck Serono) iniciadas no segundo ou terceiro dia do ciclo menstrual, com doses variando de 150 a 450 UI por dia, de acordo com a idade, sendo adequadas com a resposta ovariana individual. Quando os folículos atingiam um diâmetro médio de 14 mm, administrou-se o antagonista de GnRH –Cetrorelix (Cetrodite®, Merck Serono) para supressão hipofisária. No protocolo agonista, as pacientes receberam leuprorelina (Lupron® – Abbot) 40 mcg, duas vezes ao dia, a partir do segundo ou terceiro dia do ciclo menstrual, para bloqueio hipofisário. As gonadotrofinas recombinantes foram administradas, nas mesmas doses, a partir do terceiro dia de estimulação ovariana. A maturação oocitária final foi induzida com gonadotrofina coriônica humana recombinante – hCG (Ovidrel®, Merck Serono) quando pelo menos três folículos atingiram 18 mm de diâmetro.

As pacientes foram submetidas a punção folicular, 34 a 36 horas após o uso do hCG, sob analgesia endovenosa, por via vaginal, guiada por ultrassonografia.

3.3. Fertilização in vitro, cultivo e transferência embrionária

Em seguida à punção, o líquido folicular foi encaminhado para laboratório, a fim de identificar os oócitos. Após a avaliação da maturidade oocitária, aqueles em metáfase II (MII) foram inseminados pela técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). A confirmação da fertilização foi realizada 19 horas após a ICSI. Os embriões foram avaliados no segundo dia de desenvolvimento embrionário (D2) para classificação morfológica e selecionados para transferência. Os excedentes foram vitrificados. Oócitos e embriões foram mantidos em meio de cultivo em incubadoras a 37°C a 6% de CO₂. Todas as transferências foram feitas com o mesmo meio de cultura com um cateter macio (Sydney IVF, Cook Medical - Australia), guiadas por ultrassom abdominal.

3.4. Vitrificação e desvitrificação

Os embriões incluídos no estudo foram criopreservados pela técnica de vitrificação utilizando-se kit comercial (Ingamed, Brazil) com etilenoglicol, dimetilsulfóxido, sacarose, suplemento proteico, além de meio de cultivo tamponado, de acordo com o protocolo do fabricante. Em seguida, os embriões foram inseridos em palhetas de armazenagem (CrioInga, Ingamed, Brazil) e imersos em nitrogênio líquido (-196°C). A desvitrificação foi realizada utilizando kit comercial (Ingamed, Brazil) contendo sacarose, meio de cultivo tamponado e suplemento proteico, de acordo com o protocolo do fabricante. Em seguida, os embriões foram mantidos em meio de cultivo tamponado (Cook) até o momento da transferência (40).

3.5. Preparo endometrial

O preparo do endométrio para a transferência dos embriões desvitrificados foi feito com ciclo artificial ou natural. No ciclo artificial, as pacientes foram submetidas a bloqueio hipofisário com administração de leuprorrelina 3,75 mg (Lectrum® - Sandoz) subcutânea no segundo ou 21º dia do ciclo. O bloqueio foi confirmado por ultrassonografia vaginal e dosagem de estradiol sérico. Quando o endométrio apresentava espessura menor que 5 mm e os níveis de estradiol estavam menores que 50pg/ml, iniciou-se o uso de valerato de estradiol. A primeira dose foi de 2 mg do primeiro ao quinto dia; de 4 mg do sexto ao décimo; e 6mg, a partir do 11º dia. No 15º dia, foi realizada ultrassonografia para avaliação da espessura endometrial e alocação nos grupos de estudo. Quando o endométrio apresentava mais de 7 mm de espessura e o estradiol revelava níveis séricos superiores a 150 pg/ml, as pacientes foram orientadas a iniciar o uso da progesterona gel 8%, por via vaginal (Crinone® – Merck Serono), em dose única diária. No ciclo natural, as pacientes foram avaliadas por ultrassonografia, nos dias 2, 9 e

12 do ciclo menstrual. Em seguida, a avaliação foi feita diariamente, até apresentarem um folículo de 17 mm e endométrio com espessura maior que 7 mm. A ovulação foi induzida com hGC recombinante e a progesterona gel 8% por via vaginal (Crinone® – Merck Serono), em dose única diária, iniciada 36 horas depois.

O tipo de preparo endometrial foi escolhido de acordo com a conveniência da paciente e da logística da clínica, já que os estudos na literatura mostram não haver diferença nas taxas de sucesso com ambos os tipos. (42-44)

3.6. Transferência de embriões e resultados

Os embriões desvitrificados foram avaliados em microscópio invertido. Aqueles com boa morfologia foram selecionados para transferência. Em seguida, foram carregados para o cateter (Sidney – Cook) em gota de 50 μ L de meio de cultivo (Cleavage, CookMedical, USA), com uso de seringa de 1 mL. (41). A transferência de embriões foi realizada com a paciente em posição ginecológica, com inserção de espéculo para identificação do colo uterino e limpeza da cavidade vaginal. O cateter de transferência foi inserido através do orifício externo do colo até o terço superior da cavidade endometrial, onde os embriões foram gentilmente depositados, por pressão do êmbolo da seringa acoplada. O procedimento foi realizado sob visão ultrassonográfica e a medicação mantida até o dia da realização do teste de gravidez pela dosagem do β -hCG sérico (11 ou 12 dias após a transferência). Todas as gestações foram acompanhadas até 20 semanas de evolução (gravidez em evolução). Foram avaliados o número de oócitos em metáfase II (MII), taxa de fertilização, taxa de sobrevivência após desvitrificação, número de embriões transferidos, método de preparo endometrial, taxa de gravidez clínica (presença de saco gestacional com batimento cardíaco), e taxa de gravidez em evolução (gravidez \geq 20 semanas).

3.7. Randomização

As pacientes foram randomizadas em dois grupos, no dia da marcação da transferência dos embriões. A randomização foi feita com envelopes lacrados e numerados para definir se os embriões seriam descongelados no mesmo dia da transferência (D2) ou no dia anterior (D2/D3). A embriologista e o médico que realizaram a transferência embrionária não sabiam quando os embriões haviam sido descongelados.

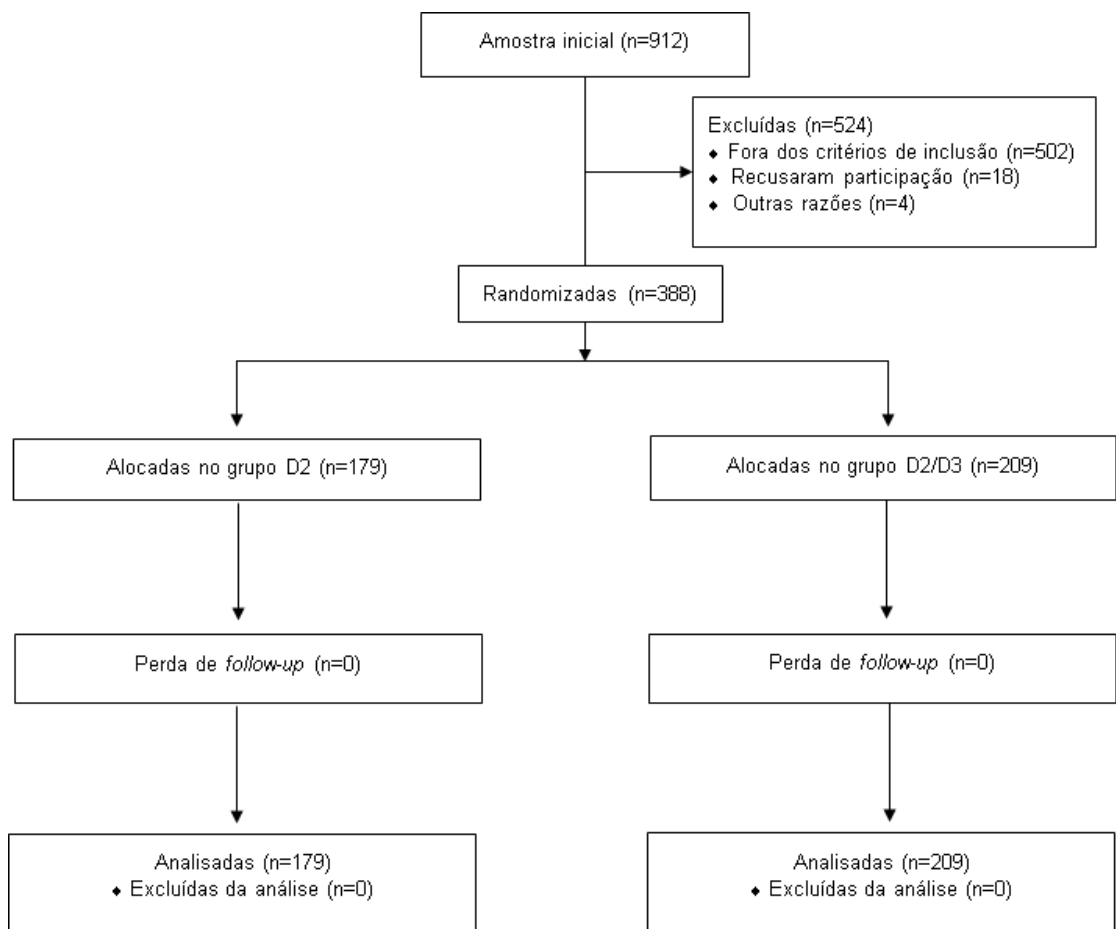
3.8. Análise estatística

Para o cálculo amostral, foi considerado um “alfa” de 95 e “beta” de 80, com 10% de diferença na taxa de gravidez como significativo. Para isso, seriam necessários um número mínimo de 286 pacientes. Foi utilizado o teste t de Student e o teste X², sendo considerado significativo $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

No período de maio de 2017 a dezembro de 2018, foram realizadas 912 transferências de embriões descongelados no nosso serviço. Dessas, 524 foram excluídas por não preencherem critérios de inclusão ou por não desejarem participar do estudo. Assim, 388 pacientes, que tinham embriões congelados em D2, foram incluídas no presente estudo. Um total de 179 pacientes tiveram seus embriões transferidos no mesmo dia do descongelamento (grupo D2) e 209 pacientes tiveram os embriões mantidos em cultura por 24 horas após o descongelamento (grupo D2/D3) (Figura 1).

Figura 1: Fluxograma de análise das pacientes: do recrutamento até análise final do estudo



A idade média das pacientes do grupo D2 foi de $36 \pm 4,4$ anos e, para o grupo D2/D3, de $36 \pm 5,4$ anos. O fator masculino foi a principal causa de infertilidade em ambos os grupos (48% e 36%), seguido por idade da mulher (15% e 13%) (Tabela 1). Em 53% dos ciclos, todos os embriões foram congelados, sem que houvesse transferência a fresco (*freeze-all*), sendo 49,75% no grupo D2 e 55,8% no grupo D2/D3 ($p= 0,23$). As demais pacientes tiveram uma transferência de embriões a fresco prévia.

Tabela 1: Fatores de infertilidade das pacientes submetidas a transferência de embriões em clivagem descongelados após cultivo curto ou prolongado

Fator de infertilidade	D2	D2/D3	p
Fator masculino	48%	36%	0,016
Idade	15%	13%	0,67
Fator tubário	8%	11%	0,32
Infertilidade sem causa aparente	7%	6%	0,79
Fatores associados	14%	18%	0,28

O número de oócitos em estágio de metáfase II (MII) observado no grupo D2 foi de $10,9 \pm 5,5$ e $10,1 \pm 5,1$ no grupo D2/D3 ($p= 0,11$). A taxa de fertilização no grupo D2 foi de 85,3% e 81,2% no grupo D2/D3 ($p<0,0001$). Todas as pacientes incluídas no estudo tiveram pelo menos dois embriões congelados. A taxa média de sobrevivência embrionária, após o descongelamento, foi de 90,3% no grupo D2 e 95,1% no grupo D2/D3 ($p=0,01$). O número médio de embriões transferidos no grupo D2 foi de $2,3 \pm 0,3$ e no grupo D2-D3 foi de $2,4 \pm 0,6$ ($p=0,7$) (Tabela 2).

Tabela 2: Idade, características laboratoriais e desfechos clínicos das pacientes submetidas a transferência de embriões em clivagem descongelados após cultivo curto ou prolongado

	D2 Nº 179	D2/D3 Nº 209	p
Idade	36 ± 4,4	36 ± 5,4	0,69
Oócitos em MII	10,91 ± 5,48	10,06 ± 5,11	0,11
Taxa de fertilização	85,3 %	81,2 %	< 0,0001
Taxa de sobrevivência	90,3 %	95,1 %	0,01
Embriões transferidos	2,3 ± 0,3	2,4 ± 0,6	0,7
Gravidez clínica	30,7 %	36,8 %	0,2
Gravidez em evolução	28 %	33,5 %	0,2

Quando se comparou o método de preparo endometrial, observou-se que, em pacientes do grupo D2, foi realizado preparo com ciclo artificial em 79,5% das vezes e, em pacientes do grupo D2/D3, o preparo com ciclo artificial foi feito em 68,7% das vezes (p=0,02). As demais pacientes foram submetidas a preparo com ciclo natural. A espessura endometrial média foi de $9,6 \pm 1,8$ e $9,7 \pm 2,0$, para o grupo D2 e D2/D3, respectivamente, independentemente do tipo de preparo (p= 0.96).

A taxa de gravidez foi de 30,7% no grupo D2 e 36,8% no grupo D2-D3 (p=0,2) e a taxa de gravidez em evolução foi de 28% e 33,5% respectivamente (p=0,2) (Tabela 2).

5. DISCUSSÃO

Acredita-se que este seja o primeiro estudo randomizado, duplo-cego, prospectivo que mostra que embriões em estágio de clivagem mantidos em cultivo por 24 horas após o descongelamento, e transferidos posteriormente em D3, apresentam taxas de gravidez semelhantes às observadas quando a transferência é realizada no mesmo dia do descongelamento (D2).

A idade das pacientes foi semelhante nos dois grupos, mostrando não haver interferência nos resultados de gravidez. Também não foram observadas diferenças entre o número de oócitos em estágio de metáfase II captados em ambos os grupos. Tal semelhança pode ser explicada pela ausência de diferença entre as faixas etárias dos grupos.

Quando as causas de infertilidade são comparadas, observa-se maior frequência de fator masculino no grupo D2. As demais causas de infertilidade tiveram uma distribuição semelhante entre os grupos. Essa diferença, entretanto, não interferiu na taxa de fertilização. De forma oposta ao esperado, observou-se maior taxa de fertilização nesse grupo de pacientes. Isso pode ser explicado pelo fato da inseminação ter sido realizada pela técnica de ICSI em todos os casais e, assim, resolvidos os casos de fator masculino.

A taxa de sobrevivência embrionária após a desvitrificação foi maior no grupo D2/D3. Ambas, entretanto, estão acima dos valores descritos na literatura (16). Apesar da diferença ter sido significativa, não foi suficiente para diminuir o número de embriões a serem transferidos e, por isso, não interferiu nos resultados de gravidez. O fato de mais da metade das pacientes ter sido submetida a congelamento de todos os embriões (*freeze-all*), sem que houvesse transferência a fresco, pode explicar as elevadas taxas de sobrevivência após descongelamento, uma vez que todos embriões de boa qualidade foram criopreservados. Como a frequência de *freeze-all* foi semelhante nos dois grupos, não interferiu nos resultados das taxas de gravidez.

Quando os métodos de preparo endometrial para a transferência dos embriões congelados/descongelados são avaliados, observou-se que o preparo com ciclo artificial foi mais frequente que o preparo com ciclo natural, sendo ainda mais frequente no Grupo D2. Tal diferença, entretanto, não interferiu nos resultados das taxas de gravidez. Estes achados estão de acordo com a literatura, que mostra que os resultados de gravidez são semelhantes em ambos os tipos de preparo (42-44)

Com relação às taxas de gravidez, os resultados foram semelhantes ao observado em dois estudos retrospectivos que compararam as duas estratégias de transferência e não encontraram diferenças nas taxas de gravidez (35,38). O estudo de Joshi *et al.* (35) comparou, retrospectivamente, a taxa de gravidez de 504 casos de transferência de embriões descongelados, sendo que 415 (grupo A) foram descongelados e mantidos em cultivo durante a noite e 89 (grupo B) foram transferidos após duas horas do descongelamento. Neste estudo foi usada a técnica de congelamento lento. Os autores não observaram diferença significativa entre os grupos. Já o estudo de Guo *et al.*, (38), analisou retrospectivamente, 1353 transferências de embriões descongelados (TEC), sendo que 787 foram transferidos após cultivo por duas a quatro horas após o descongelamento e 566 foram transferidos após 20-24 horas de cultivo após o descongelamento. Também neste estudo não houve diferença entre os grupos nos parâmetros avaliados (taxa de gravidez clínica, taxa de implantação, taxa de gravidez múltipla, taxa de aborto, taxa de gravidez ectópica e taxa de nascidos-vivos) e foi utilizada a técnica de vitrificação. Por outro lado, Rato *et al.* (2012) compararam os resultados de gravidez de embriões em clivagem com intervalos de cultivo semelhantes aos deste estudo e demonstraram que o cultivo prolongado diminuía a taxa de implantação e o potencial de desenvolvimento dos embriões devido aos danos causados pelo estresse do cultivo. O estudo, entretanto, foi retrospectivo com utilização da técnica de congelamento lento que parece ser mais danosa aos embriões (32).

A principal limitação do nosso estudo foi termos avaliado a taxa de gravidez em evolução e não a taxa de nascidos vivos. Embora a taxa de nascidos vivos seja mais usada para avaliar o sucesso em Reprodução Assistida, a taxa de gravidez em evolução é frequentemente utilizada. A interrupção da gravidez após 20 semanas é considerada como nascimento. Portanto, não deve haver diferença entre as definições. Além do mais, a assistência materno-fetal não deve ser considerada parte do tratamento de Reprodução Assistida devido a presença de potenciais vieses já que as pacientes não necessariamente recebem cuidados obstétricos semelhantes (45). Por outro lado, o fato de o estudo ter sido duplo-cego e randomizado, com grande número de pacientes, sugere que os resultados possam ser repetidos. Nesse sentido, pode-se concluir que manter os embriões em cultivo por 24 horas após o descongelamento, para adiar a transferência, não interfere nas taxas de gravidez em evolução. Mais ainda, como as taxas de gravidez foram semelhantes, não existe a necessidade em se passar os embriões de D2 para D3 de forma rotineira. No entanto, mais estudos com desenho semelhante são necessários para confirmação dos resultados aqui apresentados.

6. CONCLUSÃO

A partir dos dados observados, é possível concluir que manter os embriões em cultivo por 24 horas após o descongelamento, para adiar a transferência, não interfere nas taxas de gravidez em evolução.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Manual for standardized investigation and diagnostico of infertile couple. Cambridge University Press. Cambridge- England:1993.
2. ZEGERS-HOCHSCHILD, F. *et al.* International Committe for Monitoring Assisted Reproductive Technology: World Health Organization. International Committe for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. **Fertil Steril**, v. 92, n. 5, p. 1520-4, Nov 2009.
3. SHARMA, R *et al.* Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. **Reprod Biol and Endoc**, v. 11, n. 66, p. 1-15, Jul 2013.
4. AGARWAL, A *et al.* A unique view on male infertility around the globe. **Reprod Biol and Endoc**, v. 13, n. 37, p. 1-9, Apr 2015.
5. VANDER BORGHT, M.; WYNS C. Fertility and infertility: definition and epidemiology **Clin Biochem**, v. 62, p. 2-10, Dec 2018.
6. CAMARGOS A. F. *et al.* Ginecologia Ambulatorial: baseada em evidências científicas. 2 ed. Belo Horizonte.: Coopmed,2008
7. STEPTOE, P C.; EDWARD, R. G. Clinical aspects of pregnancies established with cleaving embryos grown in vitro. **Br J Obstet Gynecol**, v. 87, n. 9, p. 757-68, Sep 1980.
8. PALERMO, G. *et al.* Pregnancies after intracytoplasmic injection of a single spermatozoon into a oocyte. **Lancet**, v. 340, n. 8810, p. 17-8, Jul 1992.
9. TROUNSON, A.; MOHR, L. Human pregnancy following cryopreservation , thawing and transfer of an eight-cell embryo. **Nature**, v. 305, n. 5936, p. 707-9, Oct 1983.
10. ZEILMAKER, G. H. *et al.* Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos. **Fertil Steril**, v.42, n. 2, p. 293-6, Aug 1984.
11. EDGAR, D. H.; GOOK, D. A. A critical appraisal of cryopreservation (slow cooling versus vitrification) of human oocytes and embryos. **Human Reprod Update**, v. 18, n. 5, p. 536-54, Sep 2012.
12. I Consenso Brasileiro de Embriologia em Medicina Reprodutiva. 2004. Pronúcleo. São Paulo. Editora Alaúde.

13. SON, W.Y.; TAN, S.L. Comparison between slow freezing and vitrification for human embryos. **Expert Ver Med Devices**, v. 6, n. 1, p. 1-7, Jan 2009.

14. Manual de Procedimentos de Laboratório de Reprodução Assistida. Red Latinoamericana de Reproducción Asistida. 2006.

Disponível em: < https://redlara.com/images/arq/livreto_port_01_2007.pdf>. Acesso em: Dez 2019.

15. FACHINI, F.C.; *et al* . Vitri-Ingá: Um novo protocolo de vitrificação. **JBRA**, v. 12, n.4, p.16-9, Dec 2008

16. RIENZI, L.;*et al* . Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. **Hum Reprod Update**,v.23, n.2,p.139-155, Mar 2017.

17. AL-HASANI, S.;ZOHNI K. Future aspects in human cryopreservation.**J Family and Reprod Health**,v.2,n.1,p.1-11, Mar 2008.

18. KUWAYAMA, M.;*et al* .Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. **Reprod Biomed Online** v.11, n.3, p.300-8,Sep 2005.

19. RALL,W. F.; FAHY, G. M. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196°C by vitrification. **Nature**, v. 313, p.573-75, Feb 1985.

20. FASANO, G. *et al* . A randomized controlled trial comparing two vitrification methods versus slow- freezing for cryopreservation of human cleavage stage embryos. **J Assist Reprod Genet**, v.31,n.2,p.241-7,Feb 2014.

21. DEBROCK, S. *et al* . Vitrification of cleavage stage day 3 embryos results in higher live birth rates than convention slow freezing: a RCT **Hum Reprod**,v.30, n.8,p.1820-30, Aug 2015.

22. ROQUE, M. *et al* . Fresh versus elective frozen embryo transfer in IVF/ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. **Human Reprod Update**, v. 25, n. 1, p. 2-14, Jan 2019.

23. ROQUE, M. *et al* . Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis. **Fertil Steril** ,v.99,n.1, p.156-62, Jan 2013.

24. SHAPIRO, B.S. *et al.* Clinical rationale for cryopreservation of entire embryo cohorts in lieu of fresh transfer. **Fertil Steril** ,v.102,n.1,p.3–9, Jul 2014.
25. ROQUE, M.*et al.* Freeze-all cycle in reproductive medicine: current perspectives. **JBRA** ,v.21,n.1, p.49-53, Feb 2017.
26. SHAPIRO, B.S. *et al.* Freeze-all at the blastocyst or bipronuclear stage: a randomized clinical trial. **Fertil Steril** ,v.104, n.5, p.1138-44,Nov 2015
27. GLUJOVKY, D.*et al.* Cleavage stage versus blastocysts stage embryo transfer in assisted reproductive technology. **Cochrane Database Syst Rev**, v.6, p. CD002118, 2016.
28. Practice committees of the American Society For Reproduction Medicine, The Society for Assisted Reproductive Technology. Blastocyst culture and transfer in clinical- assisted reproduction: a committee opinion. **Fertil Steril** , v.110, n.7,p. 1246-52, Dec 2018.
29. National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). Fertility-assessment and treatment for people with fertility problems. **NICE Clin Guid**, v.156, p.1-51, Feb 2013.
30. GLUJOSKY, D.; FARQUHAR, C. Cleavage stage or blastocyst transfer: what are the benefits and harms? **Fertil Steril** ,v.106, n.2, p.244-50, Aug 2016.
31. VEECK, L.L. *et al.* Significantly enhanced pregnancy rates per cycle through cryopreservation and thaw of pronuclear stage oocytes. **Fertil Steril** ,v.59, n.6, p.1202-07, Jun 1993.
32. RATO, M.L.*et al.* Influence of post-thaw culture on the developmental potential of human frozen embryos. **J Assist Reprod Gen**,v. 29, p.789-95, Feb 2012.
33. GUERIF, F.*et al.* Parameters guiding selection of best embryos for transfer after cryopreservation: a reappraisal. **Hum Reprod** , v.17, n.5, p.1321-26, May 2002.
34. TANG, R.*et al.* Towards defining parameters for a successful single embryo transfer in frozen cycles. **Hum Reprod** ,v.21, n.5, p. 2368-74, May 2006.
35. JOSHI, B.V.*et al.* Transfer of human frozen-thawed embryos with further cleavage during culture increases pregnancy rates. **J Hum Reprod Sci** , v.3, n.2, p.76-9, May 2010.
36. ZIEBE, S.*et al.* Resumption of mitosis during post-thaw culture: a key parameter in selecting the right embryos for transfer. **Hum Reprod**, v.13, n.1, p. 178-81,Jan 1998.
- 37- O'SHEA, L.C.*et al.* The impact of blastomere survival rates on developmental competence of cryo-thawed Day 2 embryos. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol** ,v.197,p.98-102,Feb 2016.
38. GUO, L.*et al.* The outcome of different post-thawed culture period in frozen-thawed embryo transfer cycle. **J Assist Reprod Gen** ,v.30, n.12, p. 1589-94, Dec 2013.
39. KAVA-BRAVERMAN, A.*et al.* What is a difficult transfer? Analysis of 7714 embryo transfers: the impact of maneuvers during embryo transfers on pregnancy rate and a proposal of objective assesement. **Fertil Steril** ,v.107, n.3, p. 657-63, Mar 2017.
40. ALMODIN, C.G. *et al.* Embryo development and gestation using fresh and vitrified oocytes. **Hum Reprod** ,v.25, n.5, p. 1192-8, May 2010.

41. GEBER, S. *et al.* Laboratory techniques for human embryos. **Reprod Bio Online** ,v.5, n.2, p 211-8, Sep 2002.
42. GROENEWOUD, E.R.*et al.* What is the optimal means of preparing the endometrium in frozen-thawed embryo transfer cycles? A systematic review and meta-analysis. **Hum Reprod Update** , v.19, n.5, p. 458-70, Sep 2013.
43. CASPER, R.F.; YANUSHPOLSKY, E.H. Optimal endometrial preparation for frozen embryo transfer cycles: window of implantation and progesterone support. **Fertil Steril** , v.105, n.4, p. 867-72, Apr 2016.
44. GHOBARA ,T.*et al.* Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. **Cochrane Database Syst Rev** , v.7, p. CD003414, 2017.
45. ULUG, U. *et al.* Opinion: how should we define success in assisted reproduction? is live birth rate the gold standard measurement? **J Assist Reprod Gen** ,v.27, n.12, p.691-93, Dec 2010.

8. ANEXOS

8.1. Termo de consentimento livre e esclarecido

Termo de consentimento livre e esclarecido Influência do intervalo tempo de cultivo embrionário pós-descongelamento, de embriões no estágio de clivagem, nas taxas de gravidez, em ciclos de reprodução assistida

Gostaríamos de convidá-los a participar da pesquisa que estamos realizando na Clínica ORIGEN em conjunto com o Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. O objetivo da pesquisa é avaliar se o tempo de cultivo dos embriões interfere na chance de se conseguir uma gravidez. Vamos avaliar se deixarmos os embriões em cultivo por mais tempo, após o seu descongelamento pode aumentar a chance de gravidez ou de se ter um bebê em casa.

Sua decisão em participar deste estudo é voluntária. Uma vez que vocês decidirem participar do estudo, vocês podem retirar seu consentimento e participação a qualquer momento. Após a assinatura deste termo vocês e todos os pacientes incluídos no estudo serão selecionados a participar de um dos dois grupos: ter os embriões transferidos descongelados no mesmo dia da transferência dos embriões ou descongelados no dia anterior ao dia da transferência dos embriões. O acesso e a análise dos dados coletados se farão apenas pelos pesquisadores e/ou seus orientadores/coordenadores, sendo que os dados relativos à qualidade e desenvolvimento de seus embriões e, à gravidez e como foi a sua evolução, serão analisados.

Serão resguardadas as suas identidades e privacidade, uma vez que serão utilizados códigos numéricos para cada paciente e não haverá divulgação individual, sendo consideradas confidenciais todas as informações pessoais de todas as pacientes estudadas. Serão divulgados apenas os resultados da pesquisa, em eventos médicos e científicos ou publicações científicas, sem qualquer identificação dos participantes.

A sua participação no estudo não muda a sua chance de gravidez. Ambas alternativas de transferência dos embriões são consagradas na literatura médica. Vocês não terão nenhum benefício pessoal na realização deste estudo, no entanto, os resultados da pesquisa poderão ajudar a melhor entender os mecanismos de desenvolvimento dos embriões e, possivelmente ajudar a melhor selecioná-los para transferência. Dessa forma, vocês estarão contribuindo para a compreensão do mecanismo estudado e para a produção de conhecimento científico.

Os riscos decorrentes da participação na pesquisa são classificados como Risco Mínimo, uma vez que serão coletados dados das pacientes, como nome, idade, causa de infertilidade entre outros pertinentes às questões do estudo. A fim de se minimizarem os riscos referentes à confidencialidade e sigilo dos dados, os pesquisadores responsáveis

deverão assinar um termo de sigilo (Anexo IV), garantindo assim, a não divulgação dos dados pessoais coletados sobre as pacientes. Além disso, todos os nomes serão omitidos e cada paciente receberá um código numérico da pesquisa, o qual será utilizado para toda anotação, tabulação e análise de dados.

Vocês terão garantia de assistência, sendo que em caso de dúvidas ou qualquer tipo de problemas referentes à sua participação na pesquisa, o médico responsável (Dr. Selmo Geber), a pesquisadora (Laudislina Colodetti) ou os Comitês de Ética poderão ser contatados a qualquer momento, pelos telefones que constam ao final desse termo. A assistência será prestada via telefone, e-mail ou até mesmo com um retorno médico. Os pesquisadores acompanharão os participantes desde o início do tratamento de Reprodução Assistida até os ultrassons posteriores ao resultado do exame de gravidez (β -HCG) e ao nascimento do bebê. O acompanhamento será feito durante as consultas médicas e rastreamentos ultrassonográficos, via telefone, e-mail ou outras formas de comunicação. Posteriormente ao encerramento e/ou a interrupção da pesquisa, você poderá ter acesso aos resultados da mesma após a publicação do artigo científico e ser beneficiado em um próximo tratamento, caso haja, com a escolha pela equipe pelo melhor tempo de cultivo dos seus embriões após o descongelamento dos mesmos. Caso você tenha gastos decorrentes da pesquisa, tais como alimentação e transporte, estes deverão ser ressarcidos pelo pesquisador.

Nós, _____ e _____, lemos e discutimos com o pesquisador responsável pelo presente estudo os detalhes descritos neste documento. Entendemos que somos livres para aceitar ou recusar, e que podemos interromper nossa participação a qualquer momento sem dar uma razão. Declaro estar ciente de que a participação no estudo não implica em nenhum tipo de remuneração ou indenização ao final da pesquisa, sendo a revogação deste consentimento permitida a qualquer tempo, por escrito, mediante recibo, sem qualquer penalidade. Nós concordamos que os dados coletados para o estudo sejam usados para o propósito acima descrito. Nós entendemos a informação apresentada neste termo de consentimento. Nós tivemos a oportunidade para fazer perguntas e todas as nossas perguntas foram respondidas. Diante do exposto, concordamos de espontânea vontade em participar deste estudo e permitimos ao pesquisador a utilização dos dados obtidos, para serem incluídos na pesquisa, sem que isso implique na nossa identificação. Fomos também esclarecidos de que os usos das informações por nós oferecidas estão submetidos às normas éticas destinadas à pesquisa envolvendo seres humanos, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde.

Belo Horizonte, _____ de _____ de 20 _____

Assinatura do participante: _____

Assinatura do participante: _____

Assinatura do pesquisador: _____

Selmo Geber (tel: 34099764) CRM: 22188

Laudislena Colodetti (tel: 34828002) CRM: 28764

COEP/UFMG – Av. Antônio Carlos, 6627 Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala
2005 Campus Pampulha Belo Horizonte, MG – Brasil - 31270-901 - Tel 34094592

CONEP: SEPN 510 NORTE, BLOCO A, 3º Andar - Edifício Ex-INAN - Unidade II -
Ministério da

Saúde - CEP: 70750-521 - Brasília-DF

8.2. Parecer da CONEP

Documento está reproduzido na íntegra ao final do documento.

PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFLUÊNCIA DO INTERVALO TEMPO DE CULTIVO EMBRIONÁRIO PÓS-DESCONGELAMENTO, DE EMBRIÕES NO ESTÁGIO DE CLIVAGEM, NAS TAXAS DE GRAVIDEZ, EM CICLOS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

Pesquisador: Selmo Geber

Área Temática: Reprodução Humana (pesquisas que se ocupam com o funcionamento do aparelho reprodutor, procriação e fatores que afetam a saúde reprodutiva de humanos, sendo que nessas pesquisas serão considerados "participantes da pesquisa" todos os que forem afetados pelos procedimentos delas):
(Reprodução assistida);

Versão: 5

CAAE: 56553416.0.0000.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.048.266

Apresentação do Projeto:

INTRODUÇÃO

A transferência de embriões congelados/descongelados (TEC) vem sendo realizada rotineiramente nos últimos trinta anos como parte do tratamento de Reprodução Assistida (RA). Atualmente, mais de cinquenta por cento dos casais submetidos à RA fazem parte dos programas de congelamento de embriões para transferência em ciclos subsequentes e, portanto, os critérios de seleção dos embriões descongelados que serão transferidos devem ser rigorosos para se obter boas taxas de gestação e de nascidos vivos. A

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



avaliação dos embriões para TEC normalmente é feita com base na sobrevivência dos blastômeros após o descongelamento por um curto período de cultivo antes da transferência (2h às 5h) ou no desenvolvimento dos embriões por um período de cultivo prolongado (18h às 24h). O cultivo embrionário pós- descongelamento tem grande impacto na retomada da mitose dos embriões e na retomada das funções normais das células, no entanto, até o momento não há um consenso na literatura sobre qual intervalo de cultivo pós-descongelamento possui melhor impacto nas taxas de gestação e de nascidos vivos. Além disso, a

formação de blastocistos a partir de embriões congelados em clivagem pode trazer informações relevantes sobre o cultivo pós-descongelamento e essa estratégia pode ser utilizada como mais uma alternativa do tratamento. Nesse contexto, o presente estudo prospectivo randomizado e duplo-cego visa avaliar o impacto do cultivo embrionário pós-descongelamento nas taxas de gestação clínica, em curso e de nascidos vivos em ciclos de TEC.

HIPÓTESE

Avaliar a influência do tempo de cultivo embrionário nos potenciais de desenvolvimento ao estágio de blastocisto, de implantação, de gravidez clínica, de gravidez em curso e de nascidos vivos nos ciclos de transferência de embriões congelados/descongelados, em estágio de clivagem.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Haver indicação para transferência de embriões congelados/descongelados;
- Ter pelo menos 2 embriões congelados;
- Ter pelos menos 4 embriões congelados e indicação para transferência em estágio de blastocisto, para ser incluído no grupo 3.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Ter menos de dois embriões congelados;
- Cancelamento da transferência;
- Transferência difícil (uso de pinça Pozzy, sangue no cateter, retorno do embrião);
- Presença de embriões re-congelado.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO PRIMÁRIO

Averiguar se o efeito do período de cultivo embrionário prolongado (18 a 24 horas após a desvitrificação) e/ou estendido até a formação de blastocisto (36 a 48 horas) comparados ao curto (2 a 5 horas) apresenta impacto nas taxas de implantação, de gravidez clínica, em curso e de nascidos vivos em ciclos de transferência de embriões congelados/ descongelados, em estágio de clivagem.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Comparar a influência do cultivo até o sexto dia do desenvolvimento embrionário nas taxas de

formação de blastocisto a partir de embriões em clivagem vitrificados/desvitrificados e de embriões frescos;
- Estabelecer um critério morfológico de seleção de embriões em clivagem vitrificados/desvitrificados com maior potencial de formação de blastocisto e de implantação, expostos a um cultivo embrionário estendido após desvitrificação.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

O estudo não traz riscos à saúde da paciente, pois compara diferentes períodos de tempo de cultivo de embriões descongelados antes da sua transferência. Como o número de embriões transferidos segue a recomendação do Conselho Federal de Medicina, a participação do estudo não aumenta o risco de gemelaridade.

BENEFÍCIOS

Esse trabalho poderá contribuir com o futuro aumento das taxas de implantação, gestação e de nascidos vivos, a partir da elaboração de um critério bem definido de seleção embrionária após o congelamento e descongelamento, antes da transferência dos embriões.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego para comparar diferentes períodos de tempo de cultivo de embriões descongelados antes da sua transferência. As pacientes serão divididas em três grupos:

- Grupo 1 (TEC 0): Pacientes que receberão embriões descongelados no mesmo dia da transferência;
- Grupo 2 (TEC 1): Pacientes que receberão embriões descongelados no dia anterior à transferência.
- Grupo 3 (TEC 5): Pacientes que receberão embriões descongelados no estágio de clivagem e cultivados até o estágio de blastocisto.

Não haverá armazenamento de amostras em bancos. O financiamento é próprio.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Resposta ao Parecer Consubstanciado Conep nº 1.856.148 (Referente as Pendências 2.d e 4)

1. Quanto ao documento intitulado "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_721854.pdf":

a) No item "cronograma de execução", as datas indicadas sugerem que o início do estudo antecedeu a tramitação no sistema CEP/Conep. Assim, solicita-se adequação do cronograma. Ademais, solicita-se a apresentação do compromisso explícito do pesquisador de iniciar o estudo somente após aprovação final do sistema CEP/Conep. Além disso, todas as etapas da pesquisa devem estar discriminadas no cronograma. RESPOSTA: O projeto e pesquisa será desenvolvido somente após aprovação pelo CEP/CONEP e registro em plataforma internacional de ensaios clínicos (Clinical Trials). As datas indicadas no cronograma do projeto de pesquisa foram adequadas, conforme solicitado e a adequação poderá ser verificada nos seguintes itens: • Item II – Sumário do projeto, terceiro parágrafo - Data prevista para o início do projeto; • Item II.3. Descrição detalhada e ordenada do projeto de pesquisa (material e métodos, casuística): primeiro parágrafo, décima linha; e sétimo parágrafo, tópico CRITÉRIOS DE INCLUSÃO DOS EMBRIÕES E PERÍODO DE ESTUDO, segundo parágrafo, primeira a quinta linhas; • Item II.4. Plano de coleta e análise dos dados (itens II.4.1. Etapas da pesquisa e II.4.2. Cronograma) • Item III.4. Descrição do plano de recrutamento de indivíduos e os procedimentos a serem seguidos. Primeiro parágrafo, terceira linha. • Gostaria de ressaltar que me comprometo a iniciar o estudo somente após a aprovação final do sistema CEP/Conep e registro no Clinical Trials, conforme consta no item IV. Termo de Compromisso. ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

b) No item "Identificação de Orçamento", o pesquisador relata que não haverá custos. O Sistema CEP/Conep entende que não há estudos sem custo. Sempre haverá necessidade de algum grau de investimento, ainda que mínimo. Desta forma, solicita-se adequação do orçamento.

RESPOSTA: A adequação do orçamento foi realizada no projeto de pesquisa, com a inclusão do

material que será utilizado para impressão e preenchimento dos termos de consentimento e sigilo, e, se necessário, material extra aos que já serão utilizados no tratamento da paciente, conforme consta no item II.9. Orçamento financeiro detalhado.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

c) Para o Sistema CEP/CONEP não existe pesquisa livre de risco. Sendo assim, solicita-se que sejam descritos os possíveis desconfortos e riscos decorrentes da participação na pesquisa, podendo-se citar os riscos inerentes à manutenção de sigilo e confidencialidade durante a coleta e uso dos dados (Itens II. 22 e IV. 3.b da Resolução CNS nº 466 de 2012).

RESPOSTA: Foram descritos os possíveis desconfortos e riscos decorrentes da participação na pesquisa, referentes à manutenção do sigilo e confidencialidade durante a coleta e uso de dados, como é possível identificar nos itens: • II.5. Análise crítica dos possíveis riscos e benefícios, primeiro parágrafo; • III.6. Descrição de quaisquer riscos, com avaliação de sua possibilidade e gravidade, primeiro parágrafo, linhas seis a quinze.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2. Quanto ao documento "ModifTCLEprojetoTEC.docx":

a) Na página 1 de 2, lê-se: "Serão resguardadas as suas identidades e privacidade, sendo consideradas confidenciais todas as informações pessoais de todas pacientes estudadas". De acordo com a Resolução CNS nº 466 de 2012, item III. 2.i, as pesquisas devem prever os procedimentos que assegurem a confidencialidade e a privacidade dos participantes de pesquisa. Assim, solicita-se que sejam descritos no TCLE os procedimentos realizados para manter a privacidade do participante de pesquisa.

RESPOSTA: o trecho a seguir foi incluído no terceiro parágrafo do TCLE: uma vez que serão utilizados códigos numéricos para cada paciente e não haverá divulgação individual

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

b) Na página 1 de 2, lê-se: "Vocês não terão qualquer tipo de despesa para participar da pesquisa e não receberão remuneração por sua participação". Solicita-se acrescentar ao TCLE que caso o participante tenha gastos decorrentes da pesquisa, tais como alimentação e transporte, estes deverão ser ressarcidos pelo pesquisador (Resolução CNS nº 466 de 2012, item II.21).

RESPOSTA: a frase solicitada foi inserida no final do último parágrafo.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

c) Segundo a Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.3.b, o TCLE deve conter, obrigatoriamente, a descrição dos possíveis desconfortos e riscos decorrentes da participação na pesquisa, além dos benefícios esperados dessa participação e apresentação das providências e cautelas a serem empregadas para evitar e/ou reduzir efeitos e condições adversas que possam causar dano. É importante ressaltar que a mesma resolução define risco da pesquisa como "possibilidade de danos à dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer pesquisa e dela decorrente". Diante do exposto, solicita-se acrescentar os itens supracitados no TCLE. RESPOSTA: foi inserido o parágrafo: Os riscos decorrentes da participação na pesquisa são classificados como Risco Mínimo, uma vez que serão coletados dados das pacientes, como nome, idade, causa de infertilidade entre outros pertinentes às questões do estudo. A fim de se minimizarem os riscos referentes à confidencialidade e sigilo dos dados, os pesquisadores responsáveis deverão assinar um termo de sigilo (Anexo IV), garantindo assim, a não divulgação dos dados pessoais coletados sobre as pacientes. Além disso, todos os nomes serão omitidos e cada paciente receberá um código numérico da pesquisa, o qual será utilizado para toda anotação, tabulação e análise de dados.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

d) Segundo a Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.3, o TCLE deverá conter esclarecimento sobre a forma de acompanhamento e assistência a que terão direito os participantes da pesquisa, inclusive considerando benefícios e acompanhamentos posteriores ao encerramento e/ou a interrupção da pesquisa. Solicita-se acrescentar ao TCLE a garantia de assistência aos participantes de pesquisa.

RESPOSTA: inserida a frase no final do ultimo paragrafo: Em caso de assistência necessária, o pesquisador poderá ser contactado a qualquer momento.

ANÁLISE: PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA. O pesquisador não esclarece a forma de acompanhamento e assistência a que terão direito os participantes da pesquisa.

RESPOSTA: Foi realizado o ajuste ao TCLE, por meio da inclusão de um esclarecimento detalhado sobre a forma de acompanhamento e assistência a que os participantes da pesquisa terão direito, conforme descrito abaixo:

Foi inserido o sexto parágrafo que descreve o seguinte: "Vocês terão garantia de assistência, sendo que em caso de dúvidas ou qualquer tipo de problemas referentes à sua participação na

pesquisa, o médico responsável (Dr. Selmo Geber), a pesquisadora (Patrícia França) ou os Comitês de Ética poderão ser contatados a qualquer momento, pelos telefones que constam ao final desse termo. A assistência será prestada via telefone, e-mail ou até mesmo com um retorno médico. Os pesquisadores acompanharão os participantes desde o início do tratamento de Reprodução Assistida até os ultrassons posteriores ao resultado do exame de gravidez (-HCG) e ao nascimento do bebê. O acompanhamento será feito durante as consultas médicas e rastreamentos ultrassonográficos, via telefone, e-mail ou outras formas de comunicação. Posteriormente ao encerramento e/ou a interrupção da pesquisa, você poderá ter acesso aos resultados da mesma após a publicação do artigo científico e ser beneficiado em um próximo tratamento, caso haja, com a escolha pela equipe pelo melhor tempo de cultivo dos seus embriões após o descongelamento dos mesmos". Além disso, foram incluídos os contatos telefônicos da pesquisadora Patrícia França e do Conep, além de mantidos os contatos do pesquisador responsável Dr. Selmo Geber e do COEP/UFMG, ao final do termo. ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3. Quanto ao documento intitulado "ProjetoTECFinal.docx":

a) Na página 17 de 25, item "Desenho do Estudo", lê-se: "A paciente, a embriologista responsável pelo descongelamento e o médico que fará a transferência, não saberão se os embriões foram ou não descongelados e transferidos no mesmo dia". Solicita-se esclarecer se o descongelamento e a transferência dos embriões serão realizados especialmente para a coleta de dados da pesquisa.

RESPOSTA: Esclareço que o descongelamento e a transferência dos embriões serão realizados unicamente em função do tratamento da paciente, e apenas após a indicação para o devido tratamento haverá a coleta dos dados para a pesquisa, conforme se lê no primeiro parágrafo do item "Desenho do Estudo", nas linhas dois a cinco, assim como nove a quatorze. Para melhor esclarecimento no projeto, no terceiro parágrafo do item "II.3. Descrição detalhada e ordenada do projeto de pesquisa (material e métodos, casuística)" foi acrescentado o seguinte trecho "Salienta-se que todos os procedimentos de congelamento/descongelamento de embriões e transferência subsequente serão realizados em função e de acordo com a necessidade do tratamento da paciente, e não em função da pesquisa em questão. Apenas os dados referentes ao ciclo de TEC serão utilizados para a pesquisa".

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.048.266

b) Solicita-se utilizar a Resolução atual do CNS, nº 466 de 2012, uma vez que no item 5 do projeto é citada a Resolução CNS nº 196/96, que não está mais em vigor. Solicita-se adequação no Projeto Detalhado. RESPOSTA: Foi realizada a adequação no item 5, Termo de Compromisso.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4- Na versão do TCLE apresentada em 14 de novembro de 2016 foram retiradas informações obrigatórias que constavam no TCLE original versão 18/07/2016, a saber: local de rubricas do participante da pesquisa (casal) e do investigador; as informações referentes ao CEP local e CONEP. Solicita-se reinsserir tais informações.

RESPOSTA: Foram reincluídas ao final da página do TCLE, as informações obrigatórias que constavam no TCLE original, as quais são o local de rubricas do participante da pesquisa (casal) e do investigador, assim como as informações referentes ao CEP local e CONEP, conforme descrição abaixo:

"Belo Horizonte, _____ de _____ de 20_.

Assinatura do participante: _____

Assinatura do participante: _____

Assinatura do pesquisador: _____

Selmo Geber (tel: 34099764) CRM: 22188

Patrícia Pinho de França (tel. 21026342) CRBIO: 93775/04-D

COEP/UFMG – Av. Antônio Carlos, 6627 Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005 Campus Pampulha
Belo Horizonte, MG – Brasil - 31270-901 - Tel 34094592.

CONEP - SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde. Asa
Norte. Brasília, Distrito Federal - 70750-521. Tel (61) 3315-5878".

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.048.266

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_721854.pdf	04/04/2017 12:15:14		Aceito
Outros	cartarespostaaoparecermarco2017.doc	04/04/2017 12:13:25	Selmo Geber	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEmodif2017.pdf	14/03/2017 17:51:06	Selmo Geber	Aceito
Outros	termodesigilo.pdf	14/11/2016 12:19:19	Selmo Geber	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOCONGELAMENTOMODAPO SPARECERCONEPOUT2016.pdf	14/11/2016 12:18:32	Selmo Geber	Aceito
Outros	cartarespostaaopareceroutubro2016.pdf	14/11/2016 12:13:15	Selmo Geber	Aceito
Outros	56553416aprovacao.pdf	01/08/2016 18:08:44	Telma Campos Medeiros Lorentz	Aceito
Outros	respostaCEPUFG.docx	18/07/2016 16:32:19	Selmo Geber	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoTECFinal.docx	18/07/2016 16:30:04	Selmo Geber	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ModifTCLEprojetoTEC.docx	18/07/2016 16:29:27	Selmo Geber	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoTEC.pdf	30/05/2016 18:09:09	Selmo Geber	Aceito
Outros	CartadeAnuencia.pdf	18/05/2016 17:34:42	Selmo Geber	Aceito
Outros	ParecerCamaraDepartamental.pdf	18/05/2016 17:33:15	Selmo Geber	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.048.266

BRASILIA, 06 de Maio de 2017

Assinado por:

Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador)