

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

RAFAELA MARRA SANTANA COSTA

**EFEITO DO TEMPO DE CONGELAMENTO APÓS VITRIFICAÇÃO NA
TAXA DE IMPLANTAÇÃO E GRAVIDEZ APÓS TRANSFERÊNCIA
EMBRIONÁRIA**

Belo Horizonte

2022

RAFAELA MARRA SANTANA COSTA

**EFEITO DO TEMPO DE CONGELAMENTO APÓS VITRIFICAÇÃO NA
TAXA DE IMPLANTAÇÃO E GRAVIDEZ APÓS TRANSFERÊNCIA
EMBRIONÁRIA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado 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

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Luiza Lunardi Rocha

Belo Horizonte

2022

C837e Costa, Rafaela Marra Santana.
Efeito do tempo de congelamento após Vitriificação na taxa de implantação e gravidez após transferência embrionária [recursos eletrônicos]. / Rafaela Marra Santana Costa. - - Belo Horizonte: 2023.
40f.:il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Selmo Geber.
Coorientador (a): Ana Luiza Lunardi Rocha.
Área de concentração: Reprodução Humana e Patologia Ginecológica.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Vitriificação. 2. Transferência Embrionária. 3. Implantação do Embrião. 4. Técnicas de Reprodução Assistida. 5. Blastocisto. 6. Estudos Retrospectivos. 7. Estudo Multicêntrico. 8. Dissertação Acadêmica. I. Geber, Selmo. II. Rocha, Ana Luiza Lunardi. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WQ 208



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
CENTRO DE PÓS GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA MULHER

ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA/RAFAELA MARRA SANTANA COSTA

Realizou-se, no dia 10 de janeiro de 2023, às 09:00 horas, livezese, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada *EFEITO DO TEMPO DE CONGELAMENTO APÓS VITIRIFICAÇÃO NA TAXA DE IMPLANTAÇÃO E GRAVIDEZ APÓS TRANSFERÊNCIA EMBRIONÁRIA*, apresentada por RAFAELA MARRA SANTANA COSTA, número de registro 2020662099, graduada no curso de BIOMEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em SAÚDE DA MULHER, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Ana Luiza Lunardi Rocha Baroni - Orientadora (UFMG), Prof(a). Henrique Vitor Leite (UFMG), Prof(a). Rodrigo Hurtado (UFMG).

A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada eletronicamente por mim e pelos membros da Comissão. Belo Horizonte, 10 de janeiro de 2023.

Prof(a). Ana Luiza Lunardi Rocha Baroni - orientadora (Doutora)

Prof(a). Henrique Vitor Leite (Doutor)

Prof(a). Rodrigo Hurtado (Doutor)



Documento assinado eletronicamente por **Ana Luiza Lunardi Rocha Baroni, Servidor(a)**, em 27/07/2023, às 10:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Henrique Vitor Leite, Professor do Magistério Superior**, em 04/08/2023, às 10:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Hurtado, Professora do Magistério Superior**, em 14/08/2023, às 08:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2008029** e o código CRC **B16DE8A5**.

AGRADECIMENTOS

Nesses anos de mestrado, de muito estudo, esforço e empenho, gostaria de agradecer a algumas pessoas que me acompanharam e foram fundamentais para a realização de mais este sonho.

A minha família e amigos por estarem presentes e sempre torcendo por mim.

Aos meus pais Robson Costa e Simone Marra e a minha irmã Izabela Marra meu profundo agradecimento por todo o apoio durante toda a minha vida, pelo cuidado, amor e, sobretudo, nos momentos mais difíceis dos últimos anos, suprimindo minhas ausências junto aos meus filhos e por desejarem sempre o melhor para mim.

Ao meu marido André Beraldo por todo amor, atenção e carinho, por não poupar esforços para me ajudar e por compreender todos os meus momentos e dificuldades. Seu valioso e incansável apoio foi definitivo em todos os momentos dessa dissertação.

Agradeço imensamente aos meus filhos Lucca Marra Beraldo e Matteo Marra Beraldo pelo entendimento nos meus momentos de ausência, pela espontaneidade, alegria, carinho e principalmente pelo amor incondicional que sempre me estimulam nos momentos difíceis, me dando força para seguir em frente.

Um agradecimento especial a todos da clínica Origen BH, Origen RIO e ART BH, em especial aos médicos: Dr. Ricardo Leão, Dr. Marcos Sampaio, Dr. Rodrigo Hurtado, Dra. Laudislina Colodetti, Dr. Janice Dolabela e Dr. Marcello Valle pela oportunidade da realização desse trabalho, pela confiança e por toda ajuda.

As amigas Juliana Terra, Maria Luiza Nobre e Kellen Matos pelo incentivo, amizade e bom humor que amenizaram momentos difíceis e divertiram momentos leves.

As embriologistas e amigas Renata Bossi, Ana Carolina Xavier, Débora Alvarenga, Patrícia França e Natalia Prates pelas numerosas sugestões dadas ao longo desses anos e, antes de tudo, pela amizade, carinho e disponibilidade em ajudar.

Ao professor Fernando Reis pelo entendimento, pelas aulas e contribuições ao longo dessa trajetória.

Agradeço imensamente a Professora Ana Luiza Lunardi por sua disponibilidade, ajuda, entrega e confiança e por ter me ajudado tanto na conclusão dessa dissertação.

Minha gratidão especial ao Professor. Dr. Selmo Geber, por ser meu orientador, meu mestre e amigo. Obrigada por sempre ter acreditado e depositado sua confiança em mim ao longo de todos esses anos. Sem sua orientação, apoio, confiança e amizade, não somente neste

trabalho, mas em todo o caminho percorrido ao longo da minha trajetória como embriologista, nada disso seria possível.

O meu profundo agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta dissertação, me estimulando intelectualmente e emocionalmente.

Por fim, agradeço a Deus, por me conceder saúde e sabedoria para seguir sempre em frente. Obrigada por ser a minha força e o meu guia em todos os momentos.

RESUMO

Introdução: O congelamento de embriões é procedimento rotineiro nos tratamentos de Reprodução Humana Assistida. A principal vantagem da criopreservação de embriões é aproveitar a estimulação hormonal e a punção folicular nos ciclos subsequentes, permitindo evitar intervenções repetidas.. Nestes casos, é necessário proceder apenas à transferência dos embriões criopreservados num novo ciclo menstrual. A transferência de embriões descongelados permite a utilização dos embriões obtidos em ciclo de tratamento anterior e pode ser realizada com embriões em estágio de clivagem ou blastocisto. A vitrificação de embriões provou ser alternativa mais eficaz do que o congelamento lento, não apenas por ser técnica simples, com menor custo e mais rápida, mas também por apresentar taxas de sobrevivência mais altas e melhores resultados clínicos. O número de embriões congelados e o tempo em que ficam criopreservados vêm aumentando a cada dia. Embora a técnica de vitrificação seja promissora, permanece controverso se o tempo de congelamento afeta viabilidade dos embriões e a taxa de implantação e gravidez subsequente.

Objetivo: Avaliar o impacto do tempo de congelamento dos embriões após a vitrificação nas taxas de implantação e taxas de gravidez clínica.

Métodos: Estudo retrospectivo multicêntrico em que foram avaliados prontuários de 1568 mulheres submetidas a ciclos de transferência embrionária com oócitos autólogos, durante o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2019. As pacientes foram agrupadas em 4 grupos de acordo com o tempo de congelamento, 0-90 dias (840 pacientes), 91-120 dias (308 pacientes), 121-360 dias (172 pacientes) e acima de 360 dias (248 pacientes). Em cada grupo foram feitas subdivisões por faixa etária (até 35 anos, de 36-40 anos e acima de 41 anos) e estágio de congelamento e transferência de embriões: estágio de clivagem (D2 ou D3) e blastocisto (D5).

Resultados: Houve diferença significativa entre o tempo em que os embriões permaneceram congelados e nas taxas de gestação e implantação de acordo com idade da paciente e estágio do embrião

Conclusão: Os resultados sugerem que o tempo de armazenamento prolongado dos embriões afeta negativamente as taxas de gravidez e implantação

Palavras-chave: vitrificação, transferência de embrião descongelado, tempo congelamento embrião, técnicas de reprodução assistida.

ABSTRACT

Introduction: Embryo freezing is a routine procedure in Assisted Human Reproduction treatments. The main advantage of embryo cryopreservation is that it minimizes hormonal stimulation and follicular puncture in subsequent cycles. In these cases, it is only necessary to transfer the cryopreserved embryos in a new menstrual cycle. Transfer of thawed embryos allows the use of embryos obtained in a previous treatment cycle and can be performed with embryos at the cleavage or blastocyst stage. Embryo vitrification has proven to be a more effective alternative to slow freezing, not only because it is a simple, lower cost and faster technique, but also because it has higher survival rates and better clinical outcomes. The number of frozen embryos and the time they remain cryopreserved is increasing every day. Although the vitrification technique is promising, it remains controversial whether the time of freezing affects the viability of embryos and the rate of implantation and subsequent pregnancy.

Objective:: Evaluate the impact of embryo freezing time after vitrification on implantation rates and clinical pregnancy rates.

Methods: A multicenter retrospective study in which medical records of 1568 women undergoing embryo transfer cycles with autologous oocytes during the period from January 2015 to December 2019 were evaluated. Patients were grouped into 4 groups according to freezing time, 0-90 days (840 patients), 91-120 days (308 patients), 121-360 days (172 patients), and above 360 days (248 patients). In each group, subdivisions were made by age group (up to 35 years, 36-40 years, and over 41 years) and stage of freezing and embryo transfer: cleavage stage (D2 or D3) and blastocyst (D5).

Results: There was a significant difference between the time the embryos remained frozen and the pregnancy and implantation rates according to patient's age and embryo stage

Conclusion: The results suggest that prolonged storage time of embryos negatively affects pregnancy and implantation rates

Keywords: vitrification, thawed embryo transfer, embryo freezing time, assisted reproduction techniques.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Procedimento de vitrificação de embriões

Figura 2 - Procedimento de desvitrificação de embriões

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Idade e estágio de transferência embrionária com diferentes tempos de armazenamento

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação embriões estágio de clivagem

Tabela 2 - Classificação embriões estágio de blastocisto

Tabela 3 - Caracterização da amostra geral e segundo ocorrência de gravidez clínica

Tabela 4 - Fatores associados à ocorrência de gravidez clínica avaliados por modelo de regressão logística binária.

Tabela 5 - Fatores associados a ocorrência de gravidez após ciclo de transferência embrionária

Tabela 6 - Medidas descritivas e comparativas entre as categorias para cada uma das variáveis independentes de interesse.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- D2:** Estágio de desenvolvimento embrionário- embrião em dia 2
- D3:** Estágio de desenvolvimento embrionário- embrião em dia 3
- D5:** Estágio de desenvolvimento embrionário- embrião em dia 5 (blastocisto)
- OMS:** Organização Mundial de Saúde
- RA:** Reprodução Humana
- TRA:** Técnicas de reprodução assistida
- IUI:** Inseminação intrauterina
- FIV:** Fertilização in vitro
- ICSI:** Injeção intracitoplasmática de espermatozoides
- CCO:** Complexos cumulus ooforus/oócitos
- PGT-A:** Triagem genética pré-implantacional
- REDLARA:** Rede Latino-Americana de Reprodução Assistida
- ESHRE:** Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia
- ASRM:** American Society for Reproductive Medicine
- CDC:** Centers for Disease Control and Prevention
- SART:** Society for Assisted Reproductive Technology
- GnRH:** Hormônio liberador de gonadotrofina
- hCG:** Gonadotrofina coriônica humana
- MII:** Oócitos em metáfase II
- ICM:** Massa celular interna
- TE:** Trofotoderma
- VI-1:** Solução de equilíbrio do meio de congelamento Ingamed
- VI-2:** Solução de vitrificação do meio de congelamento Ingamed
- DV-1:** Solução de aquecimento do meio de descongelamento Ingamed
- DV-2:** Solução diluente do meio de descongelamento Ingamed
- DV-3:** Solução de lavagem do meio de descongelamento Ingamed
- O.R:** Razão de chances - Odds Ratio
- IC:** Intervalo de confiança

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVO	19
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
	3.1 Critérios de inclusão	20
	3.2 Critérios de exclusão.....	20
	3.3 Estimulação ovariana e punção folicular.....	21
	3.4 ICSI e cultivo embrionário.....	22
	3.5 Vitrificação	23
	3.6 Desvitrificação.....	25
	3.7 Preparo do endométrio.....	26
	3.8 Transferência de embriões	27
	3.9 Confirmação de gravidez	27
	3.10 Estratificação.....	27
	3.11 Tamanho da amostra.....	28
	3.12 Análise estatística	28
4	RESULTADOS.....	30
	4.1 Fatores associados à ocorrência de gravidez clínica.....	31
	4.2 Fatores associados à taxa de implantação	32
5	DISCUSSÃO	35
6	CONCLUSÃO	38
7	REFERÊNCIAS	39
8	ANEXOS	43
	8.1 Parecer substanciado do cep.....	43

1 INTRODUÇÃO

A infertilidade é definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como falha na obtenção de gravidez após doze meses ou mais em casais com relações sexuais regulares sem proteção (ICD-11, 2022). Após os 35 anos de idade, a propedêutica para infertilidade deve ser realizada se, após seis meses, o casal não conseguir engravidar. As estimativas sugerem que aproximadamente 48 milhões de casais e 186 milhões de pessoas apresentam infertilidade em todo o mundo (ICD-11, 2022). A infertilidade pode ser classificada como primária, quando o casal nunca conseguiu gestar, e secundária, se pelo menos uma pessoa do casal já alcançou gravidez anteriormente. Esta distinção é fundamental para a correta avaliação, diagnóstico e indicação do tratamento de Reprodução Assistida (RA) (MASCARENHAS *et al.*, 2012).

A infertilidade pode ser causada por fatores masculinos e/ou femininos. Aproximadamente 40% das causas são de origem feminina, 40% masculina, 10% são fatores associados e em 10% não se identifica a causa (infertilidade sem causa aparente) (AGARWAL, 2015; VANDER BORGHT, 2018). Os tratamentos de infertilidade estão se tornando cada vez mais comuns e disponíveis para a população em geral. As opções terapêuticas para a infertilidade podem envolver o uso de medicamentos, cirurgias e tratamentos pelas técnicas de reprodução assistida (TRA) (AGARWAL, 2015). As TRA podem ser divididas em baixa e alta complexidade. As técnicas de baixa complexidade são coito programado e inseminação intrauterina (IIU) e as de alta complexidade incluem fertilização *in vitro* (FIV) e injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) (ESHRE, 2009).

A fertilização *in vitro* representa um dos maiores avanços no tratamento de infertilidade conjugal. Desde o nascimento do primeiro bebê de proveta, em 1978, todas as etapas envolvidas nos protocolos de FIV foram aprimoradas, tornando-se cada vez mais eficazes e efetivos. Suas principais indicações são: obstrução tubária, disfunção ovulatória, fator masculino, falhas de tratamentos anteriores e idade materna avançada. (GIANAROLI *et al.*, 2012). O objetivo da FIV é mimetizar o processo de fertilização natural, através do contato dos complexos *cumulus ooforus*/oócitos (CCO) com aproximadamente 40.000 espermatozoides, previamente selecionados, que progridem e penetram ativamente a zona pelúcida (NIEDERBERGER *et al.*, 2018).

Em 1992, foi descrita a técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), indicada inicialmente no tratamento de casais com fator masculino grave ou

azoospermicos que necessitavam de extração testicular ou epididimária. A técnica permite a introdução de um único espermatozoide no citoplasma do oócito através da perfuração da zona pelúcida por meio de uma micropipeta acoplada a um microscópio invertido. Este procedimento ultrapassa as etapas naturais da fertilização, como capacitação de espermatozoides, reação acrossômica e a capacidade de penetrar oócitos (NIEDERBERGER *et al.*, 2018). A partir das técnicas de FIV e ICSI é possível, então, acompanhar o desenvolvimento dos embriões e identificar aqueles que apresentam maior potencial de implantação e gravidez.

Como resultado dos inúmeros avanços no campo da reprodução assistida, incluindo melhorias nos protocolos de estimulação hormonal e de cultura embrionária, tornou-se comum a obtenção de muitos embriões de boa qualidade, disponíveis para transferência. Assim, fez-se necessário o desenvolvimento de técnicas de congelamento de embriões que permitissem o aproveitamento dos embriões excedentes. Consequentemente, a criopreservação eficiente de gametas e embriões tornou-se parte significativa do tratamento de reprodução assistida. (GOSDEN, *et al.*, 2011, NIEDERBERGER., *et al* 2018).

Atualmente, o congelamento de embriões permite que os tratamentos de reprodução assistida sejam realizados com maior segurança e eficácia. O congelamento eletivo dos embriões de boa qualidade e a transferência embrionária em ciclos subsequentes vem aumentando progressivamente nos últimos anos (GOSDEN., *et al.*, 2011; ROQUE, *et al.*, 2019).

O congelamento de embriões constitui importante opção em casos de desenvolvimento inadequado do endométrio, assincronia do ciclo da doadora de oócitos com sua receptora, risco de síndrome de hiperestímulo ovariano e em casos de elevação precoce dos níveis de progesterona. Em alguns casos, como por exemplo quando há hiperestímulo ovariano, pode ser necessário a criopreservação de todos os embriões adiando a transferência (*freeze-all*). Também é indicado para preservação da fertilidade e quando há indicação de análise genética dos embriões (PGT-A – triagem genética pré-implantacional) (COLODETTI *et al.*, 2020; ROQUE *et al.*, 2019; SCHOOLCRAFT *et al.*, 2011).

Outra vantagem do congelamento é evitar nova estimulação hormonal e nova punção ovariana. Nesses casos, é necessário proceder apenas à transferência dos embriões descongelados em um novo ciclo menstrual (NIEDERBERGER *et al* 2018, SCHOOLCRAFT *et al.*, 2011; UENO *et al*, 2018).

A partir do relato da primeira gravidez, proveniente da transferência de embrião criopreservado, diversas técnicas foram descritas (TROUNSON E MOHR, 1983). Atualmente, diferentes tipos e concentrações de crioprotetores tem sido utilizado, assim como, diferentes

protocolos de congelamento e descongelamento. Os dois métodos mais utilizados na criopreservação de embriões são o congelamento lento e a vitrificação (EDGAR E GOOK, 2012, MUKAIDA *et al.*, 2003).

O congelamento lento é a abordagem mais tradicional, que envolve uma diminuição gradual e programada da temperatura, utilizando baixa concentração de crioprotetores, permitindo a desidratação celular adequada e minimizando a formação de gelo intracelular. No entanto, este é um método que demanda muito tempo e apresenta custo elevado (EDGAR E GOOK, 2012, KATTERA E CHEN, 2006).

Atualmente, a técnica mais utilizada é a vitrificação, justamente por ser uma técnica mais rápida, não necessitar de equipamentos específicos, sofisticados e apresentar melhores taxas de sobrevivência do embrião e melhores taxas de implantação e gravidez (COLODETTI *et al.*, 2020, EDGAR E GOOK, 2012). A vitrificação baseia-se na solidificação das células em uma estrutura não cristalina, semelhante a vidro (estado vítreo) evitando assim a formação de cristais de gelo intracelular e extracelular, que é a principal causa de baixa sobrevivência do embrião. A técnica utiliza meios com concentrações elevadas de crioprotetores que permitem a desidratação celular e resfriamento extremamente rápidos (MUKAIDA *et al.*, 2003, WONG *et al.*, 2014). Desde 1992, em que a técnica de vitrificação se mostrou eficiente por Kuwayama *et al.*, os diferentes protocolos variam dependendo do tipo, concentração e volume de crioprotetores, tempo de resfriamento e descongelamento, tempo de exposição e sistema de vitrificação (fechado ou aberto) (KATTERA E CHEN, 2006, KUWAYAMA *et al.*, 2005, NIEDERBERGER *et al.*, 2018, VAJTA *et al.*, 2015).

No processo de vitrificação, os embriões selecionados são colocados em gotas de crioprotetor, sequencialmente, em concentração crescente para substituição das moléculas de água. O tempo em cada gota é, também, sequencialmente reduzido para evitar os efeitos tóxicos de altas concentrações de crioprotetores. Em seguida, os embriões são transferidos para a haste de vitrificação que é, imediatamente, submersa em nitrogênio líquido (COBO *et al.*, 2010, KATTERA E CHEN, 2006, KUWAYAMA *et al.*, 2005).

O número de ciclos de transferência de embriões congelados e descongelados vem aumentando com o passar dos anos. De acordo com a Rede Latino-Americana de Reprodução Assistida (REDLARA), em 2022, a partir de dados coletados de 188 centros, de 15 países diferentes, em 2017 observamos um aumento de 20,8% de número de ciclos, quando comparados com o ano anterior (ZEGERS-HOCHSCHILD *et al.*, 2018).

Segundo a Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia (ESHRE), em 2016, com dados de 1347 clínicas de 40 países diferentes da Europa, o número de tratamentos

com transferência de embriões descongelados, aumentou significativamente entre o ano de 2015 e 2016. Evidenciando também que a proporção entre ciclos de descongelamentos e tratamentos frescos estão em crescente aumento (44,1% em 2016, 40,3% em 2015 e 37,8% em 2014) (ESHRE, 2020).

Em 2020 foi publicado um relatório pelos *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM), *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) e *Society for Assisted Reproductive Technology* (SART) com dados do ano de 2018 de 456 clínicas dos Estados Unidos em que expõem o crescente número de transferências de embriões descongelados, sendo muito superior (16.050 casos) do que as transferências de embriões frescos de óvulos fresco (2.288 casos) e de embriões frescos de oócitos congelados (3.231 casos) (CDC, 2021).

Li *et al.* (2020), fizeram estudo retrospectivo de 24.698 com dados de primeira transferência de embriões descongelados que foram divididos em quatro categorias de acordo com o tempo de armazenamento dos embriões (0-3 meses, 3-6 meses, 6-12 meses e 12-24 meses) e observaram que a chance de gravidez bioquímica, gravidez clínica e nascido vivo diminuiu significativamente com o aumento do tempo de congelamento dos embriões, enquanto a relação entre aborto espontâneo, gravidez ectópica e tempo de armazenamento não atingiram significância estatística. Também não observaram diferenças nos resultados neonatais adversos (nascimento prematuro, baixo peso ao nascer, alto peso ao nascer, macrosomia ou defeitos congênitos).

Em seu estudo, Ueno *et al.*, (2018), avaliaram ciclos de transferência de blastocisto descongelados e não evidenciaram diferenças de peso ao nascer ou taxas de malformações congênitas entre os embriões descongelados e transferidos no tempo de 0-2 meses, 2-13 meses e 13-97 meses. Esse achado é corroborado pelo estudo de Wirleitner *et al.*, 2013 que também não encontrou diferença sobre resultados neonatais e malformações congênitas. Além disso, esse mesmo grupo não encontrou efeito negativo sobre as taxas de sobrevivência, implantação e nascimentos nas diferentes durações de armazenamento de embriões.

Matorras *et al* (2021) realizaram uma metanálise que incluiu 12 estudos em que avaliaram a influência do intervalo do congelamento de embriões até sua transferência. Foram analisados 18.127 ciclos e concluíram que o atraso sistemático da transferência de embrião descongelado, não oferece benefícios em relação aos resultados de transferência de embriões transferidos imediatamente, podendo inclusive diminuir as taxas de gravidez clínica e aumentar os danos psicológicos do casal em tratamento por prolongar a data da transferência.

Embora a técnica de vitrificação já esteja consolidada, permanece controverso se o tempo que o embrião permanece congelado afeta sua viabilidade e as taxas de implantação e gravidez.

2 OBJETIVO

Avaliar se existe impacto do tempo de armazenamento dos embriões, após a vitrificação, nas taxas de implantação e gravidez clínica.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo, multicêntrico, em que foram analisados dados de prontuários de pacientes que tiveram embriões descongelados e transferidos de janeiro de 2015 a dezembro de 2019 em três centros privados de tratamento de reprodução assistida no Brasil: Clínica ORIGEN BH, Clínica ORIGEN RIO e Clínica ART BH.

O estudo foi aprovado pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CAAE: 39343920.8.0000.5149).

3.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas 1.568 mulheres submetidas ao primeiro ciclo de transferência embrionária de embriões descongelados com oócitos próprios (autólogos) em estágio de blastocisto (dia 05) ou clivagem (dia 02 e 03).

Como critério de inclusão compreenderam:

- Pacientes acima de 18 anos;
- Pacientes que tiveram embriões congelados pela técnica de vitrificação com sistema aberto.

O sistema aberto consiste no procedimento de criopreservação em que a amostra tem contato direto com o nitrogênio líquido em uma rápida submersão e posteriormente fechado com uma tampa plástica não selado.

- Pacientes que descongelaram e transferiram no mesmo dia.

Cada mulher foi incluída apenas uma vez no estudo, sem transferência anterior prévia, a fresco ou descongelado.

3.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo:

- Pacientes que não tiveram embriões viáveis disponíveis para transferência após descongelamento (pacientes que os embriões não sobreviveram ao descongelamento);
- Pacientes tiveram embriões avaliados geneticamente (PGT – triagem genética pré-implantacional);

- Pacientes que tiveram embriões e/ou óocitos doados;
- Pacientes que utilizaram útero de substituição, que apresentavam fator masculino grave (< 1 milhão/ml);
- Pacientes que transferiram embriões revitrificados e pacientes que os embriões ficaram em cultivo prolongado após o descongelamento (embriões descongelados em dia 02 e transferidos em dia 03, embriões descongelados em dia 02 e transferidos em dia 05 e embriões descongelados em dia 03 e transferidos em dia 05);
- Pacientes que fizeram mais de uma transferência embrionária de embriões descongelados
- Pacientes que haviam realizado transferência anterior de embriões a fresco .

3.3 Estimulação ovariana e punção folicular

A estimulação ovariana e punção folicular foram semelhantes nos três centros e seguiram o protocolo de agonista ou antagonista do GnRH. No protocolo de antagonista do GnRH as pacientes receberam gonadotrofinas recombinantes (Gonal F, Merck Serono Brasil ou Pergoveris, Merck Serono Brasil), iniciadas no segundo ou terceiro dia do ciclo menstrual, com doses adequadas de acordo com a idade e resposta ovariana individual, variando de 75 a 450 UI por dia. Quando os folículos atingiram um diâmetro de 14 mm, foi administrado o antagonista de GnRH (Cetrodite, Merck Serono Brasil) para bloqueio hipofisário até o momento da indução da maturação oocitária.

No protocolo de agonista do GnRH, o bloqueio foi realizado com Acetato de Leuprorrelina (Lupron, Novertis Brasil), 40 mcg, duas vezes ao dia, a partir do segundo ou terceiro dia do ciclo menstrual em associação as gonadotrofinas. A maturação oocitária foi induzida com gonadotrofina coriônica humana recombinante (hCG, Ovidrel Merck Serona Brasil) quando pelo menos dois folículos atingiram 17 mm de diâmetro médio.

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

3.4 ICSI e cultivo embrionário

Após a punção, o líquido folicular foi enviado para laboratório para a identificação da massa de *cúmulos oophorus* e posteriormente dos oócitos. A avaliação da maturidade oocitária foi realizada duas horas depois e os oócitos que estavam em estágio de metáfase II (MII), foram inseminados pela técnica de ICSI. O sêmen foi preparado por meio de gradiente descontínuo (Cook, Austrália).

A confirmação da fertilização foi realizada através da identificação da presença de dois pronúcleos, 18-20 horas após a ICSI. Em seguida, os embriões foram avaliados no segundo, terceiro e/ou quinto dia de desenvolvimento para classificação morfológica e posterior transferência dos embriões ao útero e/ou congelamento dos excedentes. Os embriões mantidos até o dia 3 foram cultivados em meio de cultura Cleavage (Cook, Austrália) e aqueles mantidos do dia 3 até o dia 5 foram cultivados em meio de cultura Blastocyst (Cook, Austrália). O cultivo foi realizado em incubadoras (Thermo Scientific, EUA) a 37°C em 6% de CO₂.

Os embriões em estágio de clivagem (Dia 2 e 3) foram classificados de acordo com o modelo descrito por Veeck, *et al.*, (1999). Embriões de grau I e II foram classificados como de boa qualidade (Tabela 1) e criopreservados por vitrificação ou mantidos em cultivo, para posterior congelamento, até o estágio de blastocisto quando foram classificados com o modelo descrito por Gardner e Schoolcraft (1999). Os blastocistos de boa qualidade (AA, AB, BA e BB) foram vitrificados (Tabela 2).

Tabela 1 - Classificação embriões estágio de clivagem

Classificação	Descrição
Grau 1	Embrião com blastômeros iguais, sem fragmentação citoplasmática
Grau 2	Embrião com blastômeros iguais, ≤ 15 % fragmentação citoplasmática
Grau 3	Embrião com blastômeros desiguais, fragmentações variadas
Grau 4	Embrião com blastômeros de tamanhos iguais ou desiguais e ≥ 20% de fragmentação citoplasmática
Grau 5	Embrião com poucos blastômeros ≥ 50% de fragmentação citoplasmática

Fonte: Veeck, *et al* (1999)

Tabela 2 - Classificação embriões estágio de blastocisto

Tamanho e expansão	
Classificação	Descrição
1	Blastocisto inicial: blastocele tem menos da metade do volume do embrião
2	Blastocisto: a blastocele é maior ou igual a metade do volume do embrião
3	Blastocisto completo: a blastocele preenche completamente o embrião
4	Blastocisto expandido: o volume da blastocele é maior do que o do embrião inicial e a zona pelúcida está diminuindo
5	Blastocisto Hatching: o trofotoderma começou a herniar através da zona pelúcida
6	Blastocisto hatched blastocisto: o blastocisto saiu completamente da zona pelúcida
ICM (massa celular interna)	
Classificação	Descrição
A	Muito agrupado e muitas células
B	Pouco agrupado e muitas células
C	Poucas células
Trofotoderma (TE)	
A	Muitas células formando um epitélio fortemente entrelaçado
B	Poucas células
C	Poucas células formando um epitélio solto

Fonte: Gardner e Schoolcraft (1999)

3.5 Vitrificação

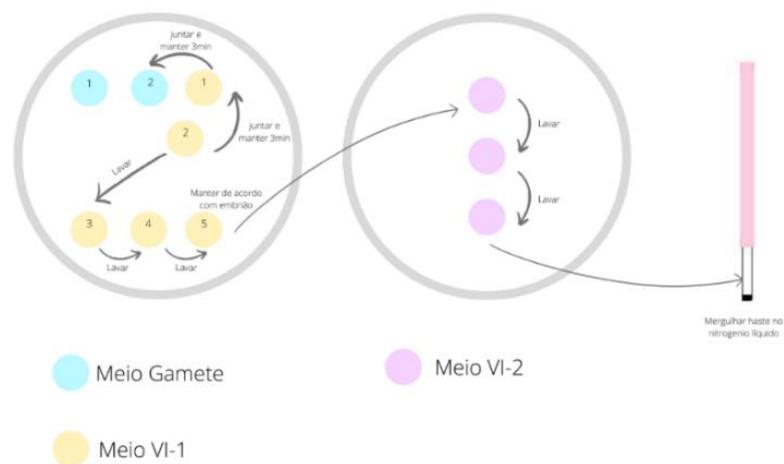
O procedimento de vitrificação foi realizado com um kit de vitrificação comercial (Ingamed, Brasil) contendo etilenoglicol, dimetilsulfóxido, sacarose, suplemento proteico e meio de cultivo tamponado. O kit é composto por solução de equilíbrio (VI-1) e solução de vitrificação (VI-2). Foi preparada uma placa 60mm (Oosafe, Dinamarca) contendo duas gotas de 20µl do meio tamponado Gamete (Cook, Austrália) e cinco gotas de 20µl do meio de vitrificação VI-1, distribuídas da seguinte forma: duas gotas próximas à segunda gota do meio Gamete (Cook, Austrália), formando os vértices de um triângulo equilátero. As outras três gotas de VI-1 foram distribuídas distantemente das primeiras gotas (gotas 3, 4,5). Foi preparada uma outra placa, 60mm (Oosafe, Dinamarca), em temperatura ambiente, com 3 gotas de 20 µl do meio VI-2.

Os embriões selecionados para a vitrificação, foram lavados na primeira gota de meio tamponado e transferidos, com o mínimo de meio possível, para o canto da segunda gota.. Após, juntou-se a gota VI-1 à gota do meio tamponado com o embrião e mantidos por 3 minutos. Após esse tempo, a segunda gota de VI-1 foi agrupada com as duas gotas previamente juntas e mantidos por mais 3 minutos. Após esse tempo, os embriões foram transferidos para a gota 3 de VI-1 onde foram homogeneizados e em seguida transferido para gota 4 de VI-I para nova homogeneização, após foram transferidos para a gota 5 até total reidratação. Para embriões em estágio de clivagem (dia 02 e 03) foram deixados de 12 a 15 minutos e para embriões em estágio de blastocisto de 15 a 18 minutos

Após o tempo de reidratação, os embriões foram aspirados da gota 5 de VI-1 e homogeneizados várias vezes em diferentes pontos da primeira gota de VI-2, o mesmo procedimento foi realizado retirando os embriões da primeira gota e passando para a segunda e depois da mesma maneira, passando da segunda para terceira gota de VI-2, sem deixar os embriões parados no meio. Esse processo foi realizado em 60 segundos.

Após, os embriões foram transferidos para a haste de vitrificação com sistema aberto, com volume mínimo de meio, sendo aspirado o excesso de meio. Imediatamente, a haste foi mergulhada no nitrogênio líquido e colocada a tampa de proteção (Figura 1).

Figura 1 - Procedimento de vitrificação de embriões



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

3.6 Desvitrificação

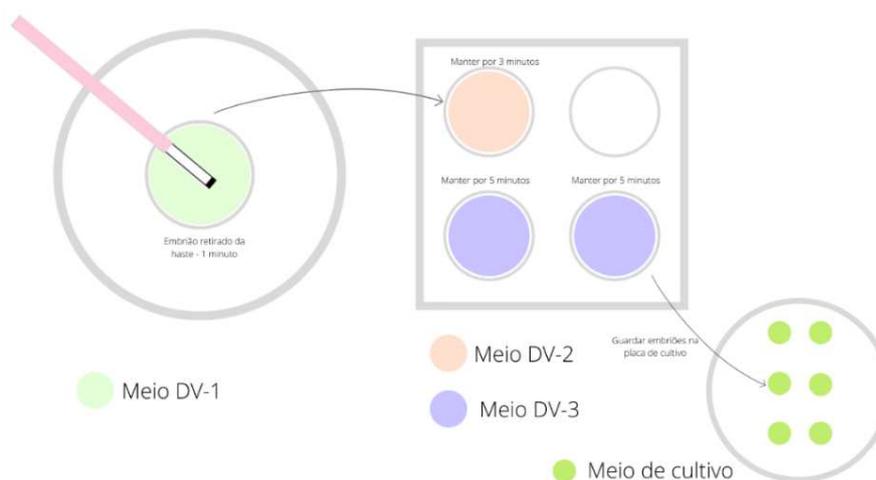
Para o processo de descongelamento de embriões vitrificados foi utilizado o kit de degelo (Ingamed, Brasil) contendo sacarose, meio de cultivo tamponado e suplemento proteico, de acordo com o protocolo do fabricante. O kit é composto por solução de aquecimento (DV-I), solução diluente (DV-II) e solução de lavagem (DV-III). Em uma placa de dois compartimentos, um interno e um externo (Oosafe, Dinamarca), foi colocado, no compartimento interno 0,8mL da solução DV-1 e deixado na incubadora a 37°C por 60 minutos. Em uma placa de quatro poços, foi adicionada 0,5mL de DV-2 no primeiro poço e 0,5mL de DV-3 nos segundo e terceiro poço da mesma placa. Para manter os meios com temperatura estável, foi adicionado 0,5 ml de óleo de parafina (Irvine, EUA) sobre as gotas de DV-2 e DV-3. A placa foi mantida em temperatura ambiente durante todo o procedimento.

A placa de DV-1 foi retirada da incubadora e mantida sob placa aquecida a 37°C sob a lupa. A ponta da haste de criopreservação, contendo o/os embriões selecionados para descongelamento, foi imediatamente submergida na solução DV-1, fazendo leves movimentos para que o embrião soltasse da haste. O embrião foi mantido nessa solução durante um minuto, homogeneizando a placa com aproximadamente 30 segundos.

Após, o embrião foi transportado, com o mínimo de meio DV-1, para a o meio DV-2, fazendo-se um halo de mistura de meio no centro da placa, os embriões. Os embriões foram deixados nessa solução por 3 minutos, à temperatura ambiente.

Em seguida, os embriões foram colocados no de cultivo do segundo poço contendo meio DV-3 e onde foram deixados por 5 minutos. Em seguida, foram transferidos para o outro poço com DV-3 e deixados por mais 5 minutos. Ao término dos cinco minutos (total de 14 minutos), os embriões foram transferidos para uma placa de cultivo, preparada no dia anterior, com meio de cultivo tamponado, para embriões em estágio de clivagem contendo meio Cleavage (Cook, Australia) ou para embriões em estágio de blastocisto contendo meio Blastocyst (Cook, Austrália) (Figura 2).

Os embriões foram reavaliados e mantidos em incubadora a 37°C com 6% de CO₂ até o momento da transferência. O mesmo protocolo de vitrificação e descongelamento foi utilizado durante todo o todo o período de estudo.

Figura 2 - Procedimento de desvitrificação de embriões

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

3.7 Preparo do endométrio

O preparo endometrial para a transferência dos embriões desvitrificados foi realizado com ciclo natural ou artificial. O ciclo natural foi indicado para pacientes com ciclos menstruais regulares. A monitorização foi realizada por ultrassonografia em dias alternados, a partir do segundo dia do ciclo menstrual, até que um folículo alcançasse 17 mm de diâmetro e endométrio apresentasse espessura maior que 7 mm. A ovulação foi induzida com hCG recombinante (Ovidrel – Merck, Brasil) e foi utilizada progesterona por via vaginal para suporte de fase lútea (Utrogestan, Besins, Brasil) 100mg de 8 em 8 horas ou Crinone, Merck, Brasil) 8% uma vez ao dia) até a décima semana de gravidez. A progesterona era iniciada 36 horas após o uso do hCG.

O ciclo artificial foi indicado para pacientes que apresentava ciclos menstruais irregulares, sendo submetidas a bloqueio hipofisário com administração de leuprorelina 3,75 mg (Lectrum, Sandoz, Brasil subcutânea no segundo ou vigésimo primeiro dia do ciclo. O bloqueio foi confirmado através de ultrassonografia vaginal e dosagem dos níveis séricos de estradiol. Quando o endométrio apresentava espessura menor que 5mm e os níveis séricos de estradiol estavam abaixo de 50 mcg/ml, as pacientes foram consideradas aptas a iniciar o uso do estrogênio. Foi utilizado o valerato de estradiol (Primogyna, Bayer, Brasil) na dose de 2mg ao dia, do primeiro ao quinto dia; 4mg ao dia, do sexto ao décimo dia; e 6mg a partir do decimo primeiro dia. 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 por via vaginal.

3.8 Transferência de embriões

Os embriões foram transferidos com a utilização do cateter Sidney (Cook, Austrália) em gota de 50 µL de meio de acordo com o cultivo, Cleavage ou Blastocyst (Cook, Austrália), e com uso de seringa de 1mL. A transferência de embriões foi realizada com a paciente em posição de litotomia, com uso espécuro para visualização 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 guiado por ultrassonografia e a medicação mantida até o dia da realização do teste de gravidez, em caso de confirmação de gravidez, a progesterona foi mantida até pelo menos o 3º mês de gestação.

3.9 Confirmação de gravidez

Foi considerado gravidez após dosagem do β-hCG sérico, com valores superiores a 25 mUI/mL, nos dias 9, 11, ou 12 dias após a transferência embrionária de acordo com o estágio embrionário na data da transferência (dia 05, dia 03 ou dia 02, respectivamente), valores entre 5 e 25 mUI/mL foi indicado a repetição após 1 semana. A gravidez clínica foi confirmada através da realização de ultrassonografia vaginal até a visualização de pelo menos um saco gestacional e presença de batimento cardíaco embrionário.

3.10 Estratificação

As pacientes foram alocadas em 4 grupos de acordo com o tempo de congelamento:

- 0 a 90 dias de congelamento antes da transferência embrionária;
- 91 a 120 dias de congelamento antes da transferência embrionária;
- 121 a 360 dias de congelamento antes da transferência embrionária;
- Acima de 360 dias de congelamento antes da transferência embrionária.

Em cada grupo, foram feitas subdivisões de acordo com a faixa etária (até 35 anos, de 36-40 anos e acima de 41 anos) e estágio de desenvolvimento embrionário: clivagem (D2 ou D3) ou blastocisto (D5).

A taxa de implantação foi calculada pelo número de sacos gestacionais dividido pelo número de embriões transferidos, para cada paciente.

3.11 Tamanho da amostra

O tamanho da amostra foi calculado para se testar a diferença do tempo de armazenamento dos embriões entre os casos em que ocorreram ou não gravidez clínica. Considerando o teste de Wilcoxon Mann-Whitney, nível de significância de 5%, poder mínimo de 80% e tamanho de efeito mínimo de 0,2, seriam necessárias pelo menos 412 mulheres que engravidaram e 412 mulheres que não engravidaram. O cálculo foi feito com o auxílio do programa G*Power 3.1.9.4.

3.12 Análise estatística

Para a análise da influência do tempo de congelamento sobre a taxa de gravidez foi utilizado o modelo de regressão logística binária univariada e para avaliar a relação com idade e fase de transferência dos embriões, foi utilizada o modelo de regressão logística binária múltipla, com a intenção de identificar quais a(s) variável(eis) influenciam de forma conjunta, na ocorrência de gravidez.

Já para a análise do tempo de congelamento sobre a taxa de implantação e sua relação com as variáveis idade e fase de transferência embrionária foi utilizada o modelo de regressão linear múltipla.

As variáveis qualitativas foram representadas por frequências, e as quantitativas por média \pm desvio-padrão (mediana) A avaliação da normalidade das variáveis quantitativas foi feita por meio do teste de Shapiro-Wilk.

Para avaliação da associação entre variáveis qualitativas foi utilizado o teste Qui-quadrado. A comparação de variáveis quantitativas entre dois grupos foi realizada pelo teste de Wilcoxon Mann-Whitney.

Os resultados foram apresentados como *odds ratio* (OR) e respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%). A qualidade do ajuste foi avaliada pelo teste de Hosmer-Lemeshow.

Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância inferior a 5% ($p < 0,05$).

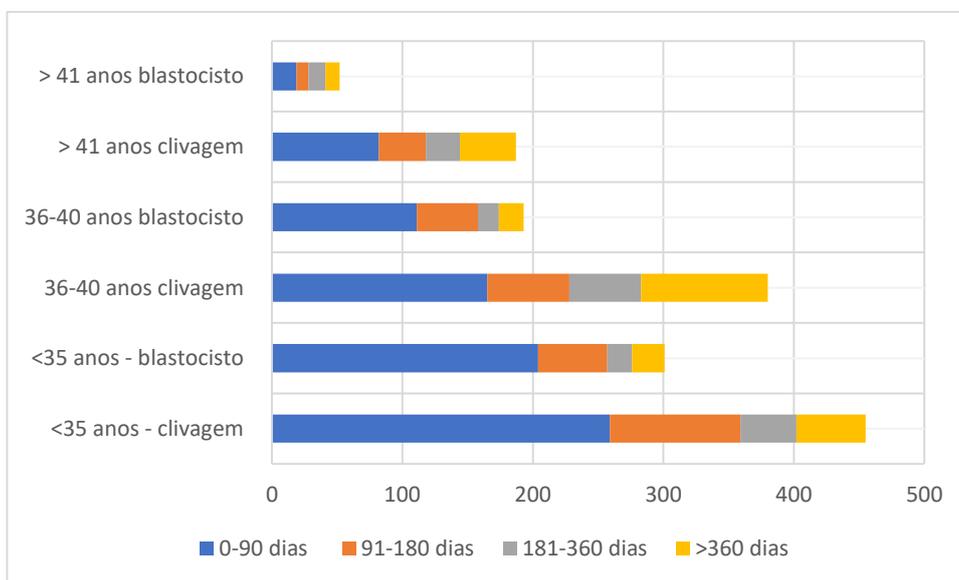
4 RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 1.568 mulheres submetidas ao primeiro ciclo de transferência embrionária de embriões descongelados (sem transferência anterior prévia), com oócitos autólogos, que tiveram embriões congelados pela técnica de vitrificação, com sistema aberto, entre janeiro de 2015 e dezembro de 2019 em três centros privados de tratamento de reprodução assistida no Brasil. As pacientes foram agrupadas de acordo com o tempo de armazenamento, grupo 1 (0-90 dias: 840 pacientes), grupo 2 (91-180 dias: 308 pacientes), grupo 3 (181-360 dias: 172 pacientes) e grupo 4 (acima de 360 dias: 248 pacientes).

Dentre as pacientes, 757 tinham menos de 35 anos de idade, 573 pacientes tinham entre 36 e 40 anos e 238 havia mais de 41 anos. E das transferências, 1.022 foram realizadas em estágio de clivagem e 546 em estágio de blastocisto. 612 (39,0%) engravidaram. O número médio de embriões transferidos foi $1,96 \pm 0,71$

A estratificação de pacientes por tempo de armazenamento, idade e estágio de transferência pode ser avaliada no gráfico 1.

Gráfico 1 – Idade e estágio de transferência embrionária com diferentes tempos de armazenamento



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

A tabela 3 mostra a caracterização das pacientes submetidas a ciclos de transferência embrionária com oócitos autólogos.

Tabela 3 - Caracterização da amostra geral e segundo ocorrência de gravidez clínica.

Variável	Toda a amostra (n=1.568) n (%)	GRAVIDEZ		p-valor
		Sim (n=612) n (%)	Não (n=956) n (%)	
FAIXA ETÁRIA				0,004^Q
≤ 35 anos	757 (48,3)	324 (52,9)	433 (45,3)	
De 36 a 40 anos	573 (36,5)	213 (34,8)	360 (37,7)	
> 41 anos	238 (15,2)	75 (12,3)	163 (17,1)	
FASE DE TRANSFERÊNCIA DOS EMBRIÕES				<0,001^Q
Clivagem	1.022 (65,2)	350 (57,2)	672 (70,3)	
Blastocisto	546 (34,8)	262 (42,8)	284 (29,7)	
TEMPO DE CONGELAMENTO				0,007^Q
0 a 90 dias	844 (53,8)	362 (59,2)	482 (50,4)	
91 a 180 dias	304 (19,4)	103 (16,8)	201 (21,0)	
181 a 360 dias	172 (11,0)	64 (10,5)	108 (11,3)	
> 360 dias	248 (15,8)	83 (13,6)	165 (17,3)	
Nº embriões transferidos	1,96 ± 0,71 [2,00]	2,11 ± 0,75 [2,00]	1,87 ± 0,66 [2,00]	<0,001^W

^Q teste Qui-quadrado, ^W teste de Wilcoxon Mann-Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.1 Fatores associados à ocorrência de gravidez clínica

Os embriões com tempo de congelamento entre 91 a 180 dias apresentaram menores taxas de gravidez clínica quando comparados àqueles congelados com menos de 90 dias (OR 0,668, IC 95% 0,500; 0,888).

Maiores números de embriões transferidos associaram-se à maior chance de gravidez (OR 2,737, IC 95% 2,273; 3,313).

As mulheres com faixa etária de 36 a 40 anos e aquelas com mais de 41 anos apresentaram menores taxas de gravidez clínica comparadas àquelas com até de 35 anos (OR 0,563, IC 95% 0,438; 0,721 para aquelas de 36 a 40 anos e OR 0,319, IC 95% 0,218; 0,462 para as mulheres com mais de 41 anos).

Os embriões transferidos na fase de clivagem apresentaram menores taxas de gravidez clínica em comparação com embriões transferidos em fase de blastocisto (OR 0,381, IC 95% 0,298; 0,485).

O modelo ficou bem ajustado, conforme mostra o p-valor do teste de Hosmer-Lemeshow > 0,05 (Tabela 4).

Tabela 4 - Fatores associados à ocorrência de gravidez clínica avaliados por modelo de regressão logística binária.

Variável	OR (IC 95% OR)	P-valor
FAIXA ETÁRIA		
≤ 35 anos	1,000	-
De 36 a 40 anos	0,563 (0,438; 0,721)	<0,001
> 41 anos	0,319 (0,218; 0,462)	<0,001
FASE DE TRANSFERÊNCIA DOS EMBRIÕES		
Clivagem	0,381 (0,298; 0,485)	<0,001
Blastocisto	1,000	-
TEMPO DE CONGELAMENTO		
0 a 90 dias	1,000	-
91 a 180 dias	0,668 (0,500; 0,888)	0,006
181 a 360 dias	0,836 (0,581; 1,195)	0,329
> 360 dias	0,759 (0,550; 1,041)	0,089
Nº embriões transferidos	2,737 (2,273; 3,313)	<0,001

P-valor HL = 0,134

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2 Fatores associados à taxa de implantação

A Tabela 5 mostra os fatores associados a ocorrência as pacientes que engravidaram e haviam sido submetidas a ciclos de transferência embrionária em relação a faixa etária, fase de transferência dos embriões e tempo de congelamento.

Os resultados da análise logística binária univariada, com o objetivo principal de avaliar a relação da variável desfecho taxa de implantação com cada uma das suas possíveis variáveis independentes são mostrados na Tabela 6.

O grupo de pacientes que teve embriões implantados com até 90 dias de congelamento apresentou, em média, taxa de implantação significativamente maior do que os grupos de pacientes que tiveram embriões implantados com 181 a 360 dias e com mais de 360 dias de congelamento. Além disso, o grupo de pacientes que teve embriões implantados de 91 a 180 dias de congelamento apresentou, em média, taxa de implantação significativamente maior do que o grupo de pacientes que tiveram embriões implantados com mais de 360 dias de congelamento. Ressalta-se que nenhuma outra diferença entre as faixas de tempo de congelamento apresentou diferença significativa nas médias da taxa de implantação.

Tabela 5 – Fatores associados a ocorrência de gravidez após ciclo de transferência embrionária

Variável	Frequência	
	n	%
TAXA DE IMPLANTAÇÃO (%)		
Média ± d.p	58,6 ± 24,2	
I.C. da média (95%)	(56,1; 60,0)	
Mediana (Q ₁ – Q ₃)	50,0 (50,0 – 66,7)	
Mínimo - Máximo	25,0 – 100,0	
FAIXA ETÁRIA		
≤ 35 anos	324	52,9
De 36 a 40 anos	213	34,8
> 41 anos	75	12,3
TOTAL	612	100,0
FASE DE TRANSFERÊNCIA DOS EMBRIÕES		
Clivagem	350	57,2
Blastocisto	262	42,8
TOTAL	612	100,0
TEMPO DE CONGELAMENTO		
0 a 90 dias	362	59,1
91 a 180 dias	103	16,8
181 a 360 dias	64	10,5
> 360 dias	83	13,6
TOTAL	612	100,0

BASE DE DADOS: 612 pacientes

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Avaliando-se os resultados, pode-se afirmar que existe diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as faixas de idade das pacientes quanto à taxa de implantação (%), onde, em média, as pacientes com até 35 anos apresentam taxas de implantação significativamente maiores do que as pacientes das demais faixas etárias avaliadas e, além disso, as pacientes com idade de 36 e 40 anos apresentaram taxas de implantação significativamente maiores do que as pacientes com mais de 40 anos.

No que se refere à fase do embrião ao ser implantado, o resultado mostra que o grupo de pacientes que tiveram embriões implantados na fase blastocisto apresentou, em média, taxa de implantação significativamente ($p < 0,05$) maior do que nas pacientes que tiveram embriões implantados na fase clivagem.

Tabela 6 - Medidas descritivas e comparativas entre as categorias para cada uma das variáveis independentes de interesse.

Variáveis	n	Medidas descritivas Média ± d.p.	p
FAIXA ETÁRIA			
≤ 35 anos (1)	324	64,4 ± 22,7	< 0,001 1 > 2 > 3
De 36 a 40 anos (2)	213	55,5 ± 25,5	
> 41 anos (3)	75	38,2 ± 11,9	
FASE DO EMBRIÃO			
Clivagem (1)	350	48,5 ± 17,3	< 0,001* 1 < 2
Blastocisto (2)	262	70,9 ± 26,2	
TEMPO DE CONGELAMENTO			
0 a 90 dias (1)	362	61,6 ± 24,9	< 0,001 1 > 2, 3 e 4 2 > 4
91 a 180 dias (2)	103	56,4 ± 22,7	
181 a 360 dias (3)	64	52,2 ± 22,7	
> 360 dias (4)	83	49,0 ± 20,6	

BASE DE DADOS: 612 pacientes (somente pacientes que engravidaram)

NOTA: p → Probabilidade de significância da Análise de Variância com 1 fator.

* → Probabilidade de significância do teste t de student para amostras independentes.

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

5 DISCUSSÃO

Nossa pesquisa demonstrou a partir de um estudo multicêntrico, com dados de 1568 que a taxa de gravidez e a taxa de implantação são superiores quando os embriões são transferidos com até 90 dias após congelamento pela técnica de vitrificação quando comparadas à transferência embrionária de embriões desvitrificados após 91-180 dias, 181-360 dias e acima de 360 dias.

Em relação a taxa de implantação também foi possível observar através do estudo que os embriões transferidos após 91-180 dias de congelamento, apresentaram taxa de implantação superior aos transferidos após 360 dias. Sugerindo que quanto menor o tempo de congelamento é melhor para implantação embrionária.

Os dados da nossa pesquisa corroboram o estudo de Li *et al.*, (2020), que utilizou dados retrospectivos de 24.698 pacientes submetidas a ciclo de transferência de embriões congelados pela estratégia de *freeze all* para analisar os efeitos do tempo de armazenamento após a vitrificação na taxa de gravidez e nos desfechos neonatais em mulheres. O estudo demonstrou que as taxas de gravidez e implantação diminuíram com a duração prolongada de armazenamento. Nesse, descreveram também que não foram observadas diferenças significativas nas características neonatais como idade gestacional, peso ao nascer, parto prematuro, baixo peso ao nascer, alto peso ao nascer, macrosomia e defeitos congênitos.

Os resultados na nossa pesquisa também vão de acordo com a metanálise de Matorras *et al.*, (2020) que analisaram 12 publicações que atenderam aos critérios de inclusão, totalizando 17.948 transferências de embriões congelados e concluíram que a taxa de gravidez clínica e a taxa de gravidez bioquímica foram ligeiramente mais altas no grupo de transferência imediata quando comparadas com o aumento no tempo de armazenamento,. Não observaram diferenças estatística sobre as taxas de implantação.

Os resultados são contrários ao estudo de Wirleitner *et al.*, (2013) que não demonstrou diferença nas taxas de gravidez clínica após transferência de blastocistos vitrificados em relação ao tempo de armazenamento após tempo prolongados de armazenamento, no entanto eles só avaliaram embriões em estágio de blastocisto e com um número de transferência baixo de 603 pacientes.

O estudo de Liu *et al* (2015) analisou 867 ciclos de descongelamento e observaram que o tempo de armazenamento não teve um efeito significativo na sobrevivência, taxa de dano dos blastômeros, taxa de implantação, taxa de gravides, peso único ao nascer e taxa de nascidos vivos para embriões congelados em estágios de clivagem, O estudo Ueno *et al.*, (2018) analisou

8.736 ciclos de transferência de blastocistos autólogos e também demonstrou que a duração da criopreservação pela técnica de vitrificação de blastocistos não afetou negativamente a taxa de gravidez e aos resultados neonatais. No entanto, neste estudo, a inclusão foi limitada a pacientes de 35 a 39 anos, em um único centro, com diagnóstico de infertilidade tubária e falha de ciclos de transferência anteriores.

A diminuição da taxa de gravidez e implantação com o aumento do tempo de armazenamento pode ser explicado por alguns fatores como: (1) perturbação dos processos bioenergéticos das células levando a danos nas mitocôndrias; (2) interferência na integridade genômica através dos processos dinâmicos do congelamento e descongelamento envolvendo diversos fatores físicos e químicos como alterações da pressão osmótica e hidrostática, alterações de pH, alterações de conteúdo intracelular e alterações constantes da temperatura (ALBERTINI E OLSEN, 2013); e, (3) aumento na fragmentação do DNAm pela presença de radicais livres e efeitos tóxicos relacionados aos crioprotetores (HOSSEINI *et al.*, 2009).

Nosso estudo demonstrou que a idade da paciente no momento do congelamento mostrou ser um fator importante para a gravidez e implantação. As pacientes com até 35 anos no momento do congelamento apresentaram maior taxa de gravidez quando comparadas às pacientes de 36-40 anos e de pacientes acima de 41 anos. Resultado semelhante foi observado em relação à taxa de implantação. O estudo de Cimadomo *et al.*, (2018) investigou a influência da idade materna no momento do congelamento de oócitos e embriões. Os resultados destacaram que a idade materna avançada está associada a uma diminuição na qualidade oocitária e na taxa de implantação, resultando em taxas de gravidez mais baixas.

O estudo de Teruya *et al.*, (2006), analisou dados de 789 pacientes, com idades entre 23 e 49 anos, submetidas a 2.355 ciclos de hiperestimulação ovariana controlada para transferência embrionária após FIV durante o período de estudo de 15 anos e concluíram que a taxa de gravidez em ciclos de transferência embrionária realizados entre 23 e 46 anos caiu significativamente com o avanço da idade das pacientes e um declínio mais rápido foi observado após 35 anos de idade.

A metanálise de Cil *et al.*, (2013) analisou 10 estudos incluindo 2.265 ciclos de congelamento de oócitos de 1.805 pacientes e concluiu que as taxas de sucesso de nascidos vivos diminuíram com a idade, independentemente da técnica de congelamento.

Nosso estudo também demonstrou que fase de transferência dos embriões é um fator importante, indicando que embriões descongelados e transferidos em fase de blastocisto apresentam maiores taxas de gravidez e implantação quando comparadas com embriões transferidos em fase de clivagem.

Nossos dados são corroborados pelo estudo prospectivo de Fernández-Shaw *et al.*, (2015) que demonstrou que a transferência de blastocistos parece melhorar as taxas de gravidez clínica em comparação com as transferências em estágio de clivagem, sendo que uma melhora mais significativa é observada em pacientes com 35 anos ou mais. A metanálise de Zeng *et al.*, (2018) ao analisar oito estudos com mais de 6.590 ciclos concluiu que a transferência de blastocisto teve uma taxa de implantação mais alta do que as transferências de embriões em estágio de clivagem mas não houve diferença significativa na taxa de gravidez clínica.

A revisão sistemática e metanálise de Martins *et al.*, (2017), ao analisar 12 estudos não demonstrou superioridade do blastocisto em comparação com a transferência de embriões em estágio de clivagem na prática clínica em relação a gravidez clínica, gravidez cumulativa e aborto espontâneo. Apesar do uso rotineiro e generalizado da criopreservação de embriões na prática clínica, há poucos estudos com foco diretamente no DNA ou na integridade cromossômica após o congelamento e descongelamento de embriões, possivelmente como resultado de restrições éticas específicas do embrião e necessidade clínica.

São necessários mais estudos para entender as possíveis causas da redução nas taxas de gravidez e implantação após prolongado tempo de armazenamento e os efeitos do congelamento sobre os embriões descongelados,

A principal limitação do nosso estudo foi o fato de termos utilizado uma abordagem retrospectiva na coleta e análise dos dados. Também é importante destacar como limitação do nosso estudo o fato de termos avaliado a taxa de gravidez em evolução e não a taxa de nascidos vivos. Embora a taxa de nascidos vivos seja amplamente utilizada como indicador de sucesso em reprodução humana assistida, a taxa de gravidez em evolução é frequentemente adotada como medida alternativa.

Como pontos fortes do nosso estudo podemos citar a quantidade significativa de pacientes e também que as práticas clínicas e laboratoriais não modificaram substancialmente e entre as clínicas incluídas no estudo. Também como ponto forte tivemos critérios de inclusões e exclusões rigorosos, em que conseguimos excluir vieses, eliminando as pacientes que não se adequavam à pesquisa

6 CONCLUSÃO

A partir dos dados observados, é possível concluir que o tempo de armazenamento prolongado dos embriões afeta negativamente as taxas de implantação e gravidez.

No entanto, mais estudos com desenhos diferentes são necessários para confirmação dos resultados aqui apresentados.

7 REFERÊNCIAS

Agarwal, Ashok, *et al.* A Unique View on Male Infertility around the Globe. **Reproductive Biology and Endocrinology**, vol. 13, n.o 1, dez de 2015, p. 37. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0032-1>.

Albertini, David F., e Rachel Olsen. Effects of Fertility Preservation on Oocyte Genomic Integrity. **Oocyte Biology in Fertility Preservation**, editado por S. Samuel Kim, vol. 761, Springer New York, 2013, pp. 19–27. DOI.org (Crossref), https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8214-7_3.

CDC 2018 Fertility Clinic Success Rates | Assisted Reproductive Technology (ART) Report | **Reproductive Health** | CDC. 12 de jan de 2021, <https://www.cdc.gov/art/reports/2018/fertility-clinic.html>.

Cil, Aylin Pelin *et al.* “Age-specific probability of live birth with oocyte cryopreservation: an individual patient data meta-analysis.” *Fertility and sterility* vol. 100, n 2, 2013. pp: 492-9.e3. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.04.023

Cimadomo, Danilo *et al.* “Impact of Maternal Age on Oocyte and Embryo Competence.” **Frontiers in endocrinology** vol. 9 327. 29 Jun. 2018, doi:10.3389/fendo.2018.00327

Cobo, Ana, *et al.* Storage of Human Oocytes in the Vapor Phase of Nitrogen. **Fertility and Sterility**, vol. 94, n.º 5, out de 2010, pp. 1903–07. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.10.042>.

Colodetti, Laudislina, *et al.* Do Different Culture Intervals (2 × 24 Hours) after Thaw of Cleavage Stage Embryos Affect Pregnancy Rates? A Randomized Controlled Trial. **Cryobiology**, vol. 95, ago de 2020, pp. 80–83. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2020.06.002>.

Edgar, David H., e Debra A. Gook. A Critical Appraisal of Cryopreservation (Slow Cooling versus Vitrification) of Human Oocytes and Embryos. **Human Reproduction Update**, vol. 18, n.º 5, set de 2012, pp. 536–54. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1093/humupd/dms016>.

ESHRE Capri Workshop Group. Intrauterine Insemination. **Human Reproduction Update**, vol. 15, n.o 3, jan de 2009, pp. 265–77. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp003>.

European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), *et al.* ART in Europe, 2016: Results Generated from European Registries by ESHRE†. **Human Reproduction Open**, vol. 2020, n.o 3, mar de 2020, p. hoaa032. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1093/hropen/hoaa032>.

Fernández-Shaw, S *et al.* “Ongoing and cumulative pregnancy rate after cleavage-stage versus blastocyst-stage embryo transfer using vitrification for cryopreservation: impact of age on the

results.” *Journal of assisted reproduction and genetics* vol. 32, n 2, 2015. pp 177-84.
doi:10.1007/s10815-014-0387-9

Gardner, David K., e William B. Schoolcraft. Culture and Transfer of Human Blastocysts: *Current Opinion in Obstetrics and Gynaecology*, vol. 11, n.º 3, jun de 1999, pp. 307–11. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1097/00001703-199906000-00013>.

Gianaroli, Luca, *et al.* «Best Practices of ASRM and ESHRE: A Journey through Reproductive Medicine». *Fertility and Sterility*, vol. 98, n.o 6, dez de 2012, pp. 1380–94. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.07.1164>.

Gosden, Roger. “Cryopreservation: a cold look at technology for fertility preservation.” *Fertility and sterility* vol. 96., n 2, ago 2011, pp : 264-8.
doi:10.1016/j.fertnstert.2011.06.029. Acesso Acesso 07 de jul de 2022.Hosseini, S. M., *et al.* Antioxidant Supplementation of Culture Medium during Embryo Development and/or after Vitrification-Warming; Which Is the Most Important? *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, vol. 26, n.o 6, jun de 2009, pp. 355–64. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1007/s10815-009-9317-7>.

ICD-11 for Mortality and Morbidity Statistics. <https://icd.who.int/browse11/l-m/en#/http://id.who.int/icd/entity/1237004558>. Acesso 07 de jul de 2022.Kattera, Suresh, e Christopher Chen. Cryopreservation of Embryos by Vitrification: Current Development. *International Surgery*, vol. 91, n.º 5 Suppl, 2006, pp. S55-62.

Kuwayama, M. *et al.* . Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online* v.11, n.3, sep 2005, pp.300-8, Sep 2005

Li, Jianghui, *et al.* The Effect of Storage Time after Vitrification on Pregnancy and Neonatal Outcomes among 24 698 Patients Following the First Embryo Transfer Cycles. *Human Reproduction*, vol. 35, n.o 7, jul de 2020, pp. 1675–84. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa136>.

Liu, Qinli, *et al.* The Safety of Long-Term Cryopreservation on Slow-Frozen Early Cleavage Human Embryos. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, vol. 31, n.o 4, abr de 2014, pp. 471–75. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0197-0>.

Martins, W P *et al.* “Blastocyst vs cleavage-stage embryo transfer: systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* vol. 49, n 5, abr 2017. pp 583-591. doi:10.1002/uog.17327

Mascarenhas, Maya N., *et al.* National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *PLoS Medicine*, editado por Nicola Low, vol. 9, n.o 12, dez de 2012, p. e1001356. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001356>.

Matorras, Roberto, *et al.* Meta-analysis of the Embryo Freezing Transfer Interval. **Reproductive Medicine and Biology**, vol. 20, n.o 2, abr de 2021, pp. 144–58. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1002/rmb2.12363>.

Mukaida, T *et al.* "Vitrification of human blastocysts using cryoloops: clinical outcome of 223 cycles." **Human reproduction (Oxford, England)** vol. 18, n 2, fev 2003. pp 384-91. doi:10.1093/humrep/deg047. Acesso 12 de ago de 2022.

Niederberger, Craig, *et al.* Forty Years of IVF». *Fertility and Sterility*, vol. 110, n.o 2, jul de 2018, pp. 185-324.e5. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.06.005>.

Red Latinoamericana de Reproducción Asistida (REDLARA). <https://www.redlara.com/>. Acesso 12 de ago de 2022.

Roque, Matheus, *et al.* Fresh versus Elective Frozen Embryo Transfer in IVF/ICSI Cycles: A Systematic Review and Meta-Analysis of Reproductive Outcomes. **Human Reproduction Update**, vol. 25, n.o 1, jan de 2019, pp. 2–14. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1093/humupd/dmy033>.

Schoolcraft, William B., *et al.* Live Birth Outcome with Trophectoderm Biopsy, Blastocyst Vitrification, and Single-Nucleotide Polymorphism Microarray–Based Comprehensive Chromosome Screening in Infertile Patients. **Fertility and Sterility**, vol. 96, n.o 3, set de 2011, pp. 638–40. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.06.049>.

Teruya, Yoko *et al.* "Accelerated decline in pregnancy rate after *in vitro* fertilization and embryo transfer in 35-41-year-old women: 15 years' experience in the Okinawa Islands, Japan." **Reproductive medicine and biology** vol. 5,1, n 1 Mar. 2006, pp 51-57. doi:10.1111/j.1447-0578.2006.00123.x

Trounson, Alan, e Linda Mohr. Human Pregnancy Following Cryopreservation, Thawing and Transfer of an Eight-Cell Embryo. **Nature**, vol. 305, n.o 5936, out de 1983, pp. 707–09. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1038/305707a0>.

Ueno, Satoshi, *et al.* Cryostorage Duration Does Not Affect Pregnancy and Neonatal Outcomes: A Retrospective Single-Centre Cohort Study of Vitrified–Warmed Blastocysts. **Reproductive BioMedicine Online**, vol. 36, n.o 6, jun de 2018, pp. 614–19. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.03.008>.

Vajta, Gábor, *et al.* Open versus Closed Systems for Vitrification of Human Oocytes and Embryos. **Reproductive BioMedicine Online**, vol. 30, n.o 4, abr de 2015, pp. 325–33. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.12.012>.

Vander Borgh, Mélodie, e Christine Wyns. «Fertility and Infertility: Definition and Epidemiology». **Clinical Biochemistry**, vol. 62, dez de 2018, pp. 2–10. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012>.

Veeck, Lucinda, editor. *An Atlas of Human Gametes and Conceptuses: An Illustrated Reference for Assisted Reproductive Technology*. **CRC Press**, 1999. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1201/b14639>.

Wirleitner, B., *et al.* The Time Aspect in Storing Vitrified Blastocysts: Its Impact on Survival Rate, Implantation Potential and Babies Born. **Human Reproduction**, vol. 28, n.o 11, nov de 2013, pp. 2950–57. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1093/humrep/det361>.

Wong, Kai Mee, *et al.* Cryopreservation of Human Embryos and Its Contribution to in Vitro Fertilization Success Rates. **Fertility and Sterility**, vol. 102, n.o 1, jul de 2014, pp. 19–26. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.05.027>.

Zegers-Hochschild, Fernando, *et al.* Assisted Reproductive Techniques in Latin America: The Latin American Registry, 2015. **Reproductive BioMedicine Online**, vol. 37, n.º 6, dez de 2018, pp. 685–92. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.08.026>.

Zeng, MeiFang et al. “Comparison of pregnancy outcomes after vitrification at the cleavage and blastocyst stage: a meta-analysis.” *Journal of assisted reproduction and genetics* vol. 35, n 1, 2018, pp 127-134. doi:10.1007/s10815-017-1040-1

8 ANEXOS

8.1 Parecer consubstanciado do cep

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DO TEMPO DE CONGELAMENTO APÓS VITRIFICAÇÃO NA TAXA DE IMPLANTAÇÃO E GRAVIDEZ APÓS TRANSFERENCIA EMBRIONÁRIA

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: 1

CAAE: 39343920.8.0000.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.454.554

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo retrospectivo. A criopreservação é uma técnica de fundamental importância para a medicina reprodutiva, pois permite o armazenamento de embriões, oócitos e espermatozoides para futuro tratamento. Permite ainda a existência de bancos de oócitos e espermatozoides com a finalidade de doação de gametas para pessoas inférteis. Várias técnicas para congelamento de gametas e embriões foram desenvolvidas ao longo dos anos. A técnica de congelamento lento consiste na queda gradual da temperatura para alcançar a temperatura final de armazenamento da amostra (-80°C ou -196°C). Diversos tipos e combinações de crioprotetores podem ser utilizados com essa técnica. A vitrificação é outra técnica de criopreservação na qual não existe a formação de cristais de gelo intracelular. Uma mudança de estado líquido para um estado vítreo ocorre, proporcionada por altas concentrações de crioprotetores e /ou uma rápida queda da temperatura. Em ambos os casos, a amostra é armazenada em nitrogênio líquido, por período indeterminado.

Com o rápido desenvolvimento de técnicas de criopreservação, a vitrificação de embriões tem sido a ferramenta fundamental dos tratamentos de reprodução humana assistida nos últimos anos à de congelamento lento. Em contraste com o

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 4.454.554

congelamento lento, a vitrificação é um tipo de método rápido de criopreservação que permite a solidificação da (s) célula (s) e meio extracelular em um estado semelhante ao vidro sem a formação de cristais de gelo, o que evita danos às células. O uso da técnica de vitrificação melhorou a taxa cumulativa de nascimentos vivos, pois permitiu transferências múltiplas de embriões com excesso de embriões congelados a partir de um único ciclo de estimulação ovárica, diminuiu o risco de síndrome de hiperestimulação ovárica (OHSS), atrasando a transferência embrionária e minimizou a taxa de gravidez múltipla em pacientes sem a necessidade de transferência de múltiplos embriões simultaneamente. Além disso, pode ser usado em pacientes que não são indicadas para transferência de embriões e na preservação da fertilidade de pacientes com câncer ou reserva ovariana diminuída relacionada a algumas doenças ginecológicas ou envelhecimento. A vitrificação de embriões provou ser uma alternativa mais eficaz do que o congelamento lento, não apenas por ser uma técnica simples, barata e rápida, mas também por apresentar taxas de sobrevivência mais altas e melhores resultados clínicos. Conseqüentemente, o número e o tempo de armazenamento de embriões criopreservados aumentaram gradualmente. No entanto, a vitrificação também suscita preocupação com os potenciais efeitos tóxicos do procedimento relacionados à exposição a concentrações mais altas de crioprotetores e à contaminação potencial por contato com nitrogênio líquido. Se a vitrificação afeta a viabilidade embrionária e o potencial subsequente de implantação ainda é controverso

Objetivo da Pesquisa:

Hipótese:

Tempo de armazenamento após a vitrificação na viabilidade embrionária interfere nas taxas de implantação e taxas de gravidez clínica.

Objetivo Primário:

Avaliar o impacto do tempo de armazenamento após a vitrificação na viabilidade embrionária, nas taxas de implantação e taxas de gravidez clínica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Por não se interferir nas condutas terapêuticas, mas sim proceder avaliações de prontuários, o risco é de acesso indevido às informações

Benefícios:

Os possíveis benefícios serão um maior entendimento sobre o processo de congelamento que poderá mudar a conduta de futuros tratamentos.

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 4.454.554

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante na saúde reprodutiva.

A dispensa do TCLE foi cedida pelo CEP por se analisar dados de forma agrupada e anonimizada com os dados coletados (faixa etária, tempo de congelamento e transferência de embriões), não havendo estudo do histórico clínico do paciente individualizado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- 1) Folha de rosto preenchida e assinada.
- 2) Aprovação da Câmara Departamental da GOB.
- 3) Cartas de Anuência da Clínicas ART e Origen, participantes
- 4) Projeto completo
- 5) TCUD para prontuários

Este CEP informa que o simples fato de ser um projeto retrospectivo por si só não caracteriza dispensa automática de TCLE. Neste protocolo específico, também se considerou que o risco de contactar os pacientes para obtenção do consentimento do TCLE poderia ser maior (por revisitar memórias das emoções da experiência – dano emocional), já que não vai se tratar do histórico clínico individualizado do paciente.

Recomendações:

Sugere-se a constituição da formação de banco de dados anonimizados, e submeter ao CEP-CONEP para aprovação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprova-se o projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

O presente projeto, seguiu nesta data para análise da CONEP e só tem o seu início autorizado após a aprovação pela mesma.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.454.554

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1607776.pdf	20/10/2020 08:33:12		Aceito
Outros	RespostasDiligenciasCOEPUFMGTempoDecongelamento.pdf	20/10/2020 08:32:52	Selmo Geber	Aceito
Outros	TCUDTempoDecongelamento.pdf	20/10/2020 08:31:16	Selmo Geber	Aceito
Outros	ParecerDepartamentoProjetoTempoDecongelamento.pdf	06/09/2020 21:39:54	Selmo Geber	Aceito
Outros	CArtaDeAnuenciaProjetoTempoDecongelamento2.pdf	06/09/2020 21:38:50	Selmo Geber	Aceito
Declaração de concordância	CartaDeAnuenciaProjetoTempoDecongelamento.pdf	06/09/2020 21:37:31	Selmo Geber	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoTempoDeCongelamento.pdf	06/09/2020 21:36:29	Selmo Geber	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRostoAssinadaDiretorProjetoTempoDecongelamento.pdf	06/09/2020 21:35:07	Selmo Geber	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

BELO HORIZONTE, 10 de Dezembro de 2020

Assinado por:
Críssia Carem Paiva Fontainha
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br