



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

TÁRIK KASSEM SAIDAH

**Gestação Ectópica em Fertilização *in vitro* – estudo analítico
com embriões frescos e congelados**

**Goiânia
2015**

TÁRIK KASSEM SAIDAH

**Gestação Ectópica em Fertilização *in vitro* – estudo analítico
com embriões frescos e congelados**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral.

**Goiânia
2015**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Saidah, Tarik Kassem

Gestação Ectópica em Fertilização in vitro – estudo analítico com embriões frescos e congelados [manuscrito] / Tarik Kassem Saidah. - 2015.
LXI, 61 f.

Orientador: Prof. Dr. Waldemar Naves Amaral.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Medicina (FM) , Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Cidade de Goiás, 2015.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui siglas, abreviaturas, símbolos, tabelas, lista de tabelas.

1. gestação ectópica. 2. FIV. 3. ICSI. 4. Prevalência. 5. Transferência de embrião. I. Amaral, Waldemar Naves, orient. II. Título.

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Goiás**

**BANCA EXAMINADORA DA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Aluno: Tárík Kassem Saidah

Orientador: Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral

Coorientador(a):

Membros:

1. Waldemar Naves do Amaral

2. Juarez Antônio de Sousa

3. Marcello Braga Viggiano

OU

4. Eduardo Camelo de Castro

5. Rui Gilberto Ferreira

Data: 20/09/2015.

Dedico este trabalho...

Aos meus pais, Kassem e Ednólia, que sempre me apoiaram e me deram força para lutar e vencer.

Aos meus irmãos, Mohamed e Carolina, que me orientaram e foram exemplos para minha formação.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força recebida nas provações, pela iluminação nos momentos de dúvida e pela oportunidade recebida.

Ao Prof. Dr. Waldemar Naves do Amaral, pela orientação no desenvolvimento deste trabalho. Obrigado por colaborar com a minha formação profissional e pessoal, incentivando-me nas pesquisas.

Ao corpo docente da pós-graduação em Ciências da Saúde, agradeço pelos ensinamentos que me auxiliaram nessa trajetória.

Aos meus professores que me ensinaram a medicina, com destaque aos Preceptores da Residência Médica de Ginecologia e Obstetrícia da Santa Casa de Misericórdia de Goiânia.

Aos funcionários da Clínica Fértil, em especial a Mônica Silva Carneiro, pela atenção e colaboração.

A minha família, em especial aos meus pais, irmãos e ao meu tio Prof. Dr. Rassen Saidah pela confiança e incentivo.

A Carla Amaral Vieira pela compreensão e por querer fazer parte dessa realização.

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram nesse processo de aprendizagem.

SUMÁRIO

TABELAS	VIII
SIGLAS E ABREVIATURAS	IX
RESUMO	X
ABSTRACT	XI
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
3 OBJETIVOS	14
4 MÉTODOS	15
5 PUBLICAÇÕES	18
ARTIGO1 – PLENHEZ ECTÓPICA EM FERTILIZAÇÃO ASSISTIDA CLÁSSICA E INJEÇÃO ESPERMÁTICA INTRACITOPLASMÁTICA.	19
ARTIGO 2 - ECTOPIC PREGNANCY IN WOMEN UNDERGOING IVF: AN ANALYTICAL STUDY WITH FRESH AND FROZEN EMBRYOS.....	23
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
REFERÊNCIAS	40
ANEXOS	45
ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA	46
ANEXO 2 – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DOS RESPECTIVOS PERIÓDICOS	48

TABELAS

Da dissertação

Tab. 1. Relatório REDLARA, 2007_____	6
--------------------------------------	---

Do artigo

Table 1. Distribution of ectopic pregnancy cases following IVF (Fértil, Goiânia 2007 – 2014) according to the number of follicles collected._____	30
---	----

Table 2. Distribution of ectopic pregnancy cases following IVF (Fértil, Goiânia 2007 – 2014) according to the number of M2 follicles_____	31
---	----

Table 3. Distribution of ectopic pregnancy cases following IVF (Fértil, Goiânia 2009 – 2014) according to clinical indication_____	32
--	----

Table 4. Comparing ectopic pregnancies among groups of fresh and frozen embryos_____	33
--	----

SIGLAS E ABREVIATURAS

β – hCG: fração beta do hormônio gonadotrofina coriônica humana

DIU: dispositivo intrauterino

FIV: fertilização *in vitro*

FSH - r: hormônio folículo estimulante recombinante

GE: gestação ectópica

GnRH: gonadotrofina coriônica humana

hCG: gonadotrofina coriônica humana

hCG - r: gonadotrofina coriônica humana recombinante

IC: intervalo de confiança

ICSI: injeção intracitoplasmática de espermatozoide

IL: interleucina

LIF: fator inibidor da leucemia

LH: hormônio luteinizante

OD: odds ratio

USTV: ultrassonografia transvaginal

SART: Society for Assisted Reproductive Technology

EP: ectopic pregnancy

RESUMO

Objetivos: fazer um artigo de revisão sobre gestação ectópica (GE) em fertilização de alta complexidade, definir o perfil epidemiológico e reprodutivo das mulheres portadoras de GE, avaliar a prevalência de GE pós-fertilização de alta complexidade e verificar se a transferência de embriões congelados reduz as taxas de GE. Métodos: foram revisadas todas as transferências de embriões frescos e congelados realizadas através de fertilização *in vitro* pela técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides no período compreendido entre janeiro de 2007 a dezembro de 2014. Foram incluídas as gestações clínicas, sendo consideradas as gestações com visualização de saco gestacional intraútero e gestações ectópicas. As gestações ectópicas foram diagnosticadas por ultrassonografia e/ou laparoscopia. A prevalência de ectópica e a comparação das taxas entre os grupos de embriões frescos e congelados foram verificadas por meio da análise de regressão logística utilizando o programa Software SPSS versão 15.0. Resultados: foram analisadas 933 fertilizações *in vitro* que resultaram em gestações clínicas e verificou-se 19 casos de gestações ectópicas. As fertilizações com embriões frescos totalizaram 772 (grupo 1) e com embriões congelados 161 (grupo 2). A prevalência de gestação ectópica foi de 2,02 %. No grupo 1 ocorreram 16 gestações ectópicas representando uma taxa de 2,1 % das fertilizações, no grupo 2 a taxa foi de 1,9 %. Uma menor taxa de gestação ectópica com embriões congelados foi verificada em comparação com embriões frescos, porém, não apresentou significância estatística ($p=0,86$) (OR= 0,89, IC 0,258 – 3,11). Conclusões: o perfil reprodutivo das pacientes que apresentaram GE foi de mulheres jovens com parceiros jovens, com boa resposta ovariana e que tiveram mais de três embriões transferidos. A prevalência de GE verificada no presente estudo foi de 2,02 %. Observou-se que não houve diferença significativa quanto à GE quando foram comparadas as transferências de embriões frescos com os congelados.

Palavras-chaves: gestação ectópica. FIV. ICSI. Prevalência. Transferência de embrião.

ABSTRACT

Aims: To make a review article on ectopic pregnancy (EP) in high complexity fertilization, to define the epidemiological and reproductive profile of women carriers of EP, to evaluate the prevalence of EP after in vitro fertilization (IVF) and to verify if the transfer of frozen embryos reduces the rates of EP. **METHODS:** All fresh and frozen embryos transfers obtained through IVF via ICSI conducted between January 2007 and December 2014 were reviewed. Clinical pregnancies characterized by the visualization of an intrauterine gestational sac or ectopic pregnancy were included in the evaluation. Ectopic pregnancies were diagnosed by ultrasonography and / or laparoscopy. The prevalence of EP and the comparison of the rates between fresh and frozen embryos transfers were analyzed by logistic regression using the SPSS software version 15.0. **Results:** Of the 933 embryos obtained through IVF that resulted in clinical pregnancies, 19 cases of EP were found. The fertilization with fresh embryos resulted in 772 clinical pregnancies (group I), and 161 with frozen embryos (group II). The global prevalence of EP was 2.02%. When considered by group, group one had 16 EP that represented a rate of 2.1% and group two had a rate of 1.9%. There was a lower rate of ectopic pregnancy with frozen embryos in comparison to fresh embryos, although this did not demonstrate statistical significance ($p=0.86$)(OR=0.89, IC=0.258-3.11). **CONCLUSIONS:** The reproductive profile of patients that exhibit EP was of young female with young partner, good ovarian response and that had more than 3 embryos transferred. The prevalence of EP in this study was 2.02. It was observed that there was no significant difference in the occurrence of EP when both groups, frozen and fresh embryos, were compared.

Keywords: Ectopic Pregnancy. IVF. ICSI. Prevalence. Embryo transfer.

1 INTRODUÇÃO

A gestação ectópica, em virtude de sua crescente incidência e significativos índices de morbidade e mortalidade, é considerada em países desenvolvidos uma verdadeira questão de saúde pública (CAPMAS et al., 2014).

Denomina-se gestação ectópica a gestação cuja implantação e desenvolvimento do ovo ocorrem fora da cavidade uterina. A tuba uterina é o local mais frequente de ocorrência de gestação ectópica sendo responsável por 95 % dos casos. Nessas gestações tubárias a implantação ocorre em 70 a 80 % das vezes na região ampular, em 12 % no istmo, na região infundibular em 6 a 11 % e na região intersticial em 2 a 3 % (MARION, MEEKS, 2012; RANA et al., 2013).

A gestação ectópica geralmente se encontra associada a fatores de risco que causam lesão tubária e, conseqüentemente, alterações no transporte ovular. Potenciais causas de gestações ectópicas incluem anomalias congênitas nas tubas, cirurgias prévias, uso de dispositivo intrauterino, endometriose, infecção pélvica e fertilização assistida (FANG et al., 2015).

A incidência de gestação ectópica varia de 0,3 a 1,4 % nas gestações espontâneas. A taxa é maior nas gestações provenientes de fertilização *in vitro* (FIV) e variam de 2,2 a 8,6 %. Em grupos com comprometimento tubário, porém, esse índice pode ser maior chegando a 11 %. Teoricamente, deveria ocorrer uma diminuição na incidência de gestação ectópica quando se utilizasse técnicas de FIV já que nessas as trompas não estão diretamente envolvidas. Diversos estudos, entretanto, vêm demonstrando uma alta incidência, aumentando assim os questionamentos sobre a fisiopatologia envolvida (CLAYTON et al., 2006; MALAK et al., 2011).

Como fatores de risco para a gestação ectópica em FIV já levantados por alguns estudos publicados podem ser destacados o comprometimento tubário, a técnica inadequada e número de embriões transferidos, tipo de embrião e outros fatores, mas eles não estão

completamente esclarecidos do ponto de vista consensual (CHANG, SUH, 2010).

Considerando que a gestação ectópica é condição de alto risco de mortalidade e é considerada um problema de saúde pública, o presente trabalho teve a finalidade de identificar o perfil das mulheres acometidas por essa doença, estabelecer a prevalência da gestação ectópica em fertilização de alta complexidade e comparar as taxas de gestações ectópicas verificadas em grupos que receberam embriões frescos com os que receberam embriões congelados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fecundação em Gestações Espontâneas

A fecundação é o processo fisiológico no qual ocorre a fusão de duas células haploides (oócito e o espermatozoide) para a formação de um novo organismo diploide com código genético derivado de ambos os gametas (GEBER et al., 2012).

O gameta feminino (oócito) é liberado pelo ovário cerca de 24 a 36 horas após o pico de estradiol e 12 horas após o pico do hormônio luteinizante (LH). Essa fase corresponde ao período da ovulação em que se inicia o transporte do gameta feminino até o útero (BUDUNKI et al, 2012). Após a ovulação, o óvulo está cercado pelas células foliculares que aderem à superfície do ovário até serem finalmente captadas pelas fímbrias da trompa. As células foliculares proporcionam contato indispensável para que os cílios existentes em certas células do epitélio das fímbrias impulsionem o óvulo para dentro do infundíbulo da trompa. O transporte do oócito pela trompa ocorre pelos movimentos ciliares e, principalmente, pela contração da musculatura tubária (MONTENEGRO et al., 2013). Em geral, o tempo do transporte do gameta feminino é de 5 dias, já o tempo da fertilização, que é o encontro com o gameta masculino, ocorre 12 a 24 horas após o coito (BUDUNKI et al, 2012).

Os gametas masculinos são depositados na vagina principalmente em fundo de saco e ascendem pelo trato genital feminino (cérvice, útero e trompa) guiados por fatores quimiotáticos. Nesse trajeto passam pelo processo de capacitação e hiperativação o que os tornará aptos para a fecundação do oócito. A capacitação compreende mudanças estruturais e bioquímicas pela qual os espermatozoides passam a adquirir a capacidade de induzir a reação acrossômica (CAMARGOS et al., 2012). A reação acrossômica é caracterizada pelo aparecimento de pequena perfuração na parede do acrossoma por onde saem as enzimas que digerem a coroa radiada e a zona pelúcida do gameta feminino favorecendo o

percurso do espermatozoide para dentro do óvulo (MONTENEGRO et al., 2013).

A fecundação ocorre geralmente na ampola tubária, região mais larga e comprida. Quando o oócito não é fecundado ele percorre o trajeto lentamente em direção ao útero onde sofre degeneração e é absorvido. Para que aconteça a fertilização é necessário que ocorram as seguintes etapas (CAMARGOS et al., 2012):

1. Reconhecimento e contato entre espermatozoide e oócito,
2. Regulamentação da entrada do espermatozoide no oócito,
3. Fusão do material genético.

O contato inicial do espermatozoide com o oócito é mediado por receptores presentes na zona pelúcida contendo glicoproteínas (ZP1, ZP2 e ZP3).

A glicoproteína ZP3 é responsável pela ligação primária com o espermatozoide e a ZP2 aparece após a reação acrossômica para evitar a penetração de outro espermatozoide (BUDUNKI et al, 2012).

A penetração do espermatozoide na zona pelúcida é o processo mais importante. Aqui ocorre a liberação de esterase, acrosina e neuramidase que formam um caminho mais fácil para o espermatozoide alcançar o óvulo. Posteriormente, ocorre fusão das membranas plasmáticas do oócito e do espermatozoide. A cabeça do espermatozoide penetra no citoplasma do oócito que estava parado na segunda divisão celular e ocorre a formação do pró-núcleo feminino e do pró-núcleo masculino. As membranas dos pró-núcleos se dissolvem e os cromossomos se condensam dando início as divisões mitóticas. No 4º dia forma-se a mórula que se converte em blastocisto. No 5º dia o blastocisto encontra-se livre na cavidade uterina após percorrer as tubas através de movimentos ciliares e peristálticos. Por volta do 7º dia inicia-se a implantação no endométrio. O endométrio deverá estar preparado para a implantação por meio do estímulo hormonal do ciclo menstrual e do estado de quiescência uterina (CHANG, SUH, 2010).

2.2 Esterilidade Conjugal

A esterilidade pode ser definida como a incapacidade de um casal sexualmente ativo, sem a utilização de métodos contraceptivos, de estabelecer gestação dentro de um ano, período no qual por volta de 90 % dos casais o fazem. Ela é um fenômeno universal que atinge aproximadamente 8 a 15 % dos casais, independente dos fatores socioeconômicos ou culturais (WHO, 1999). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a mulher é responsável por 41 % dos casos de infertilidade e o homem por 24 %, já a associação de fatores masculinos e femininos acomete 14 % dos casais e em aproximadamente 25 % dos casais nenhuma causa de infertilidade pode ser identificada (ZABEENA et al., 2015).

Assim sendo, a investigação deve ser a mais completa possível, pois um achado não exclui a possibilidade de outra causa, uma vez que a presença de mais de um fator é encontrada em 20 % dos casais inférteis. Entre as causas atribuídas à mulher, as disfunções ovulatórias acometem 20 a 30 %, as causas tubárias, uterinas e peritoneais respondem por 25 a 50 %, sendo o fator tubário preponderante ao fator uterino (CANÇADO et al., 2012).

2.3 Fertilização *in vitro* (FIV)

A fertilização *in vitro* é o método de alta complexidade para os casais inférteis. Ela consiste no apoio tecnológico às funções naturais para se obter a concepção e envolve a presença de médicos e auxiliares para favorecer a aproximação dos gametas (BRAGA, BORGES JR, 2014; PEREIRA, CATAFESTA, 2014).

As indicações precisas para os procedimentos de alta complexidade são:

- Extensão e gravidade do comprometimento tubário devido a sequelas graves de infecções por clamídia, aderências pélvicas, endometriose e laqueaduras;
- Ausência de gestação após 2 anos de tratamento cirúrgico reparador para reverter a laqueadura;
- Gestação ectópica após reversão de laqueadura;

- Pacientes com mais de 38 anos;
- Presença de fator masculino, alterações no sêmen (ZABEENA et al., 2015);
- Preservação da fertilidade associada à presença de neoplasia maligna;
- Falha no tratamento de complexidades menores, independente do fator causal.

As técnicas de fertilização *in vitro* vêm melhorando os índices de sucesso nos últimos anos em razão dos avanços tecnológicos e melhor conhecimento da fisiologia da reprodução humana. Em séries especiais podem ser alcançadas taxas de até 70 % de gestações, embora a média relatada pelas diferentes associações esteja ao redor de 35 % devido a fatores que envolvem a complexidade de cada caso e a idade da mulher (BRAGA, BORGES JR, 2014; PEREIRA, CATAFESTA, 2014).

O relatório da Redlara (2007) leva em consideração os dados dos países latino-americanos com características socioculturais e epidemiológicas similares (Tab. 1).

Tabela 1. Relatório REDLARA, 2014

Transferências embrionárias	24.047
Gestações Clínicas	8.224
Partos com pelo menos 1 RN vivo	6.481

Fonte: <http://www.jbra.com.br/media/html/JBRA1081.html>

Etapas da Fertilização *in vitro*

Embora as primeiras tentativas tenham sido realizadas em ciclos naturais, atualmente a maioria dos centros utiliza agentes farmacológicos para induzir a ovulação e obter um número maior de óvulos com o propósito de garantir a escolha dos melhores embriões (BRAGA, BORGES JR, 2014; PEREIRA, CATAFESTA, 2014).

A primeira parte do processo consiste na estimulação ovariana. As drogas utilizadas durante um ciclo de FIV para recrutamento folicular incluem análogos de hormônio liberador de gonadotrofina coriônica humana (GnRH) e drogas indutoras simuladoras do pico de LH (CAMARGOS et al., 2012).

Atualmente, a preferência recai sobre gonadotrofinas recombinantes ou menotrofinas altamente purificadas associadas ao GnRH agonista ou antagonista para bloquear a descarga de LH extemporânea. Excepcionalmente, pode-se utilizar o citrato de clomifeno ou inibidores da aromatase. A monitorização do desenvolvimento folicular e endometrial é realizada com ultrassonografia transvaginal (USTV).

Em segundo lugar, é realizada a injeção de gonadotrofina coriônica humana (hCG) na dose de 10.000 UI, com o intuito de promover o rompimento folicular e a dispersão do cumulus. A coleta de óvulos é realizada com USTV e pode ser feita em caráter ambulatorial com sedação rápida. Posteriormente à coleta, o líquido aspirado é levado ao laboratório para a procura por oócitos. Na sequência é realizada a fecundação extracorpórea, ou seja, *in vitro*, podendo essa ocorrer pela forma clássica ou por injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). Na FIV clássica os espermatozoides penetram o óvulo sem a ajuda de aparelhos, na ICSI são utilizadas técnicas de micromanipulação injetando-se um único espermatozoide dentro do citoplasma do oócito. A ICSI é indicada principalmente em casos de infertilidade masculina, pois, se pelo menos um espermatozoide for isolado a fertilização pode ser alcançada (CAMARGOS et al., 2012).

A transferência embrionária constitui uma das etapas mais importantes do ciclo e não pode ser subestimada. Ela será feita de 1 a 5 dias após a fertilização *in vitro* e o estágio embrionário irá variar de pró-núcleo a blastocisto. A taxa de gestação está diretamente interligada ao número de embriões transferidos, porém, a transferência de um grande número de embriões aumenta o risco de patologias. Os embriões são transferidos para a cavidade endometrial através de um cateter, via colo uterino, sem a necessidade de anestesia, estando a paciente em posição de litotomia (BRAGA, BORGES JR, 2014; PEREIRA, CATAFESTA, 2014).

É necessário realizar o suporte hormonal, haja vista que o uso de análogos de GnRH e a aspiração dos folículos podem resultar em uma insuficiência hormonal na fase lútea. Inicia-se o suporte medicamentoso aproximadamente 48 horas após a coleta e mantém-se por 8 a 10 dias. Pode-se utilizar a hCG ou a progesterona micronizada, e essa última é preferida, pois, ela contribui, dentre outros fatores, para a manutenção endometrial e consequente nidadação (CAMARGOS et al., 2012). Após 12 dias da transferência os níveis séricos da fração beta do hCG irão confirmar a implantação embrionária dando início a um ciclo gestacional que será confirmado após 15 dias por uma USTV.

2.4 Gestação Ectópica

A gestação ectópica (GE) é definida como a implantação do blastocisto em qualquer outro sítio fora da cavidade endometrial uterina (MARION, MEEKS, 2012).

A incidência anual de GE tem aumentado ao longo dos últimos 30 anos. Atualmente, varia de 0,3 % a 2 % das gestações. Esse aumento deve-se principalmente pelo aumento da doença inflamatória pélvica. Um estudo populacional francês realizado entre 1992 a 2002 mostrou aumento de 17 % nas taxas de GE. A incidência no Reino Unido é de 11.1/10.000 gestações, na Noruega é de 14.9/1.000 (RANA et al., 2013). Nos Estados Unidos, mais de 100.000 casos de ectópica são notificados por ano, porém, esses números podem ser maiores devido a falhas na notificação (PFEIFER et al., 2013).

Em mais de 98 % das GEs a implantação ocorre na trompa de Falópio, mas a etiologia da implantação tubária é, em grande parte, desconhecida. No entanto, estudos indicam a hipótese de que a implantação tubária é provavelmente causada pela retenção do embrião dentro da trompa de Falópio devido ao transporte ineficiente e alterações do microambiente das trompas permitindo que a implantação ocorra mais cedo. O transporte do embrião através da trompa de Falópio é controlado por uma combinação da contratilidade do músculo liso e do batimento ciliar. Os

fatores que regulam e mantêm o microambiente tubário são, em grande parte, desconhecidos (SHAW et al., 2010; HORNE et al., 2014).

A primeira descrição da GE foi relatada por Abulcasis em 936 dC. e em 1708, Duverney foi o primeiro a expor em detalhes a gestação heterotópica (ABUSHEIKHA et al., 2000). A partir do século XVI outros casos de GEs foram descritos com o início das necropsias. Polinus e Cordaeus descreveram um litopédio de aproximadamente 28 anos. Em 1563, Horstius também encontrou restos fetais no abdômen de uma mulher após 16 anos de ela ter concebido o terceiro filho. Além disso, em 1594, Primrose documentou o primeiro caso de gestação ectópica gemelar em cavidade abdominal. Em 1693, uma autópsia em uma prostituta revelou uma gestação extrauterina viável (MARION, MEEKS, 2012).

Em 1700, o cirurgião holandês Abraham Cyprianus relatou o nascimento uma criança gestada na trompa de Falópio direita que faleceu no nono mês de gestação e foi retirada somente após 9 meses do óbito pelo cirurgião e, notavelmente, a mulher sobreviveu tendo mais três crianças (KOMPANJE, 2005).

No século 19, o cirurgião escocês Robert Lawson Tait, um inovador em cirurgia abdominal e pélvica, influenciou o desenvolvimento da ginecologia como especialidade cirúrgica. Em 1872 ele se autoproclamou ginecologista e promoveu o conceito de deixar a placenta *in situ* para minimizar a perda de sangue em gestações abdominais. Em 1883 ele realizou uma cirurgia devido a uma tubária rota e a paciente sobreviveu. Naquela época a gestação ectópica representava mortalidade materna e fetal de quase 100 % devido, principalmente, ao diagnóstico tardio (GOLDITCH, 2002).

Com o início das transfusões sanguíneas na década de 40, a GE passou a ser menos letal. Em 1966 foram descobertos testes imunológicos para a gonadotrofina coriônica que possibilitaram o diagnóstico imediato da gestação. Antes da década de 60 o diagnóstico de uma gestação utilizava modelos experimentais animais em que era injetada urina da paciente em animais (teste de Galli Mainini e Aschheim-Zondek) e, após alguns dias, observavam-se alterações ovarianas no animal (MARION, MEEKS, 2012).

Na década de 70, com o advento do diagnóstico ultrassonográfico, foi possível a visualização da gestação intraútero inicial e a associação com o β - hCG possibilitou um diagnóstico da gestação ectópica mais precoce. Essa associação dos valores do β - hCG com visualização de saco gestacional intraútero é conhecido como limite discriminatório. Na década de 80 o valor tido como discriminatório do β - hCG era de 6500 mIU/mL. O limite discriminatório depende da qualidade do equipamento, experiência do examinador e, atualmente, para o β - hCG o valor discriminatório é de 1500 mIU/mL (CASIKAR et al., 2012, BITTAR et al., 2012).

Com o diagnóstico mais precoce e um melhor acesso a cuidados médicos, a mortalidade da gestação ectópica vem diminuindo. Na década de 70 a mortalidade era de 3,5 a cada 10.000 gestações e baixou para 2,6 para cada 10.000 gestações em 1992 (MARION, MEEKS, 2012). Apesar da diminuição das taxas de mortalidade, a GE ainda representa uma importante causa de mortalidade no primeiro trimestre sendo responsável por 80 % das mortes maternas nessa fase, tanto nos Estados Unidos quanto no Reino Unido (CASIKAR et al., 2012).

As principais causas de morte devido à gestação ectópica são hemorragia, infecção e causas anestésicas. O risco de morte materna devido à GE é 50 vezes maior do que nas gestações com aborto. O diagnóstico precoce, além de diminuir as taxas de mortalidade, contribui para identificar gestação ectópicas íntegras e, dessa forma, favorece a instituição de tratamentos menos invasivos às pacientes a um custo reduzido. O médico poderá optar por uma laparoscopia, uso de metotrexate ou conduta expectante em casos selecionados (MARION, MEEKS, 2012; SILVA et al., 2015).

2.4.1 Gestação Ectópica em Fecundação Espontânea

A gestação ectópica geralmente se encontra associada a fatores de risco que causam lesão nas tubas e, conseqüentemente, alterações no transporte ovular. Em princípio, tudo que embargue mecanicamente ou alongue o trânsito do ovo captado pelas fímbrias e percorra a tuba na

cavidade uterina pode ser causa de gestação ectópica (MARION, MEEKS, 2012; GUERRERO-MARTÍNEZ et al., 2014).

Alguns fatores de risco aventados pelo crescente número de gestações ectópicas são a doença inflamatória pélvica (DIP), Dispositivo Intrauterino (DIU), cirurgias pélvicas prévias, endometriose e tabagismo:

a) Doença inflamatória pélvica

Caracteriza-se pela presença de infecções genitais causadas pela *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* que acarretam alterações significativas nas tubas levando à obstrução tubária, diminuição dos movimentos ciliares, destruição das fímbrias e diminuição da luz tubária.

O odds ratio para GE após 2 e 3 ou mais episódios de infecção por clamídia em um estudo publicado em 2011 foi de 2,1 e 4,5, respectivamente. As infecções por *Chlamydia trachomatis* resultaram na produção de uma proteína especial, PROKR2, com propriedades quimiotáticas que provavelmente favoreceram a implantação nas tubas danificadas (SHAW et al., 2011).

A inflamação crônica da trompa de Falópio causada por infecção pode provocar alterações moleculares nos tecidos das trompas. Essas alterações irão competir com o útero na implantação do embrião. Durante a inflamação um certo número de mediadores, tal como o fator inibidor da leucemia (LIF), a interleucina (IL), o fator de necrose tumoral e a IL-1b, acumula-se nos tecidos das trompas e esses fatores têm sido implicados na ocorrência da gestação ectópica. Em outras palavras, o blastocisto recebe sinais indutores do epitélio tubário e vai aderir e implantar-se nas tubas uterinas (BALASUBRAMANIAM et al., 2012).

Além dos fatores citados acima, estudo publicado em 2013 demonstrou uma expressão de 100 % de positividade da β -catenina¹ na análise da gestação ectópica e das tubas inflamadas. Ela é uma proteína envolvida em processos de adesão celular e sinalização nuclear que serve

¹ http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IsisScript=../cgi-bin/decserver/decserver.xis&previous_page=homepage&task=exact_term&interface_language=p&search_language=p&search_exp=beta%20Catenina

como coativador transcricional e componente das vias de transferências intracelulares de informação (ativação/inibição biológica) mediadas pelas proteínas Wnt² (glicoproteínas que desempenham papéis essenciais no desenvolvimento embrionário e fetal e na manutenção dos tecidos). Essa expressão anormal da proteína pode ter criado um ambiente propício para a implantação embrionária nas trompas de Falópio (LI et al., 2013).

b) Uso do Dispositivo Intrauterino (DIU)

Alguns estudos consideram o DIU um dos principais fatores de risco para a gestação ectópica. Na verdade, o DIU apresenta grande eficácia na prevenção da gravidez espontânea, entretanto, caso ela ocorra, a probabilidade de ser uma gestação ectópica é muito maior (ACOG, 2013).

c) Cirurgias Pélvicas Prévias

Cirurgias pélvicas podem levar à formação de aderências e, conseqüentemente, dificultar o peristaltismo tubário. Cirurgias sobre as tubas uterinas (salpingostomia, salpingoplastia) aumentam 4 vezes o risco de gestação ectópica provavelmente pela diminuição da luz tubária. Em estudo publicado em 2014, as pacientes que tiveram cirurgias pélvicas prévias apresentaram um risco 17 vezes maior de ter uma GE (MOINI et al., 2014).

d) Endometriose

A endometriose afeta de 2 a 50 % das mulheres na população em geral e de 20 a 30 % das mulheres que são investigadas em relação à infertilidade. Essa prevalência elevada de endometriose em mulheres inférteis levou à hipótese de que pode haver uma relação causal entre a endometriose e a infertilidade. Desde que essa doença foi primeiramente

² http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?!sisScript=../cgi-bin/decserver/decserver.xis&task=exact_term&previous_page=homepage&interface_language=p&search_language=p&search_exp=prote%EDnas%20wnt

descrita, no início do século XIX, várias teorias têm sido propostas para explicar a queda da fertilidade. Nas formas graves podem ocorrer aderências e obstruções tubárias. Nas formas leves, fatores imunológicos parecem estar envolvidos (JIN, RUIZ BEGUERIE, 2014).

Alguns autores verificaram um resultado insatisfatório da FIV em mulheres em que a causa de infertilidade foi a endometriose severa, ao passo que outros obtiveram altas taxas de sucesso em mulheres acometidas por essa patologia quando comparadas com àquelas em que a infertilidade foi devida ao fator tubário (YANUSHPOLSKY et al., 1998; TINKANEN, KUJANSUU, 2000; GEBER et al., 2002; POP-TRAJKOVIC et al., 2014).

e) Tabagismo

Uma recente meta-análise que avaliou os resultados clínicos da reprodução assistida mostrou que o cigarro aumenta significativamente o risco de gestação ectópica tubária (WAYLEN et al., 2009). O fator de ser fumante passiva não demonstrou aumento das taxas de ectópica (HYLAND et al., 2015).

A razão pela qual o tabagismo provoca gestação ectópica tubária, no entanto, não é totalmente compreendida. Certamente, existem evidências de que a fumaça do cigarro tenha um efeito sobre a frequência do batimento ciliar e na contração do músculo liso da trompa. Outros parâmetros de funcionamento da trompa, tais como a síntese e secreção de proteínas, forneceriam mais informações sobre como o cigarro afeta a função da trompa (SHAW et al., 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

Avaliar a importância da gestação ectópica em ciclos de fertilização de alta complexidade.

3.2 Objetivos específicos:

3.2.1. Fazer um artigo de revisão sistematizada sobre gestação ectópica em fertilização de alta complexidade.

3.2.2. Fazer um artigo original com as seguintes considerações:

3.2.2.1. Definir o perfil reprodutivo das mulheres portadoras de gestação ectópica em ciclos de reprodução assistida.

3.2.2.2. Avaliar a prevalência de gestação ectópica em mulheres após fertilização *in vitro*.

3.2.2.3. Avaliar se a transferência de embriões congelados reduz as taxas de gestação ectópica quando comparada às transferências de embriões frescos.

4 MÉTODOS

4.1 TIPOS DE ESTUDOS REALIZADOS

Foi realizado um artigo de revisão sistematizada sobre Prenhez ectópica em fertilização assistida clássica e injeção espermática intracitoplasmática.

Na sequência foi produzido um artigo original, analítico, observacional, retrospectivo em que foram comparadas as taxas de GE em FIV com embriões frescos e congelados.

4.2 TAMANHO DA AMOSTRA

Todos os prontuários das pacientes submetidas as fertilizações *in vitro* realizadas na Clínica Fértil em Goiânia no período de janeiro de 2007 a dezembro de 2014 foram avaliados. Os prontuários revisados estavam armazenados sob a forma de prontuário eletrônico no programa Ultrasystem versão 3.8.1.

Foram analisados 1956 prontuários. Desses, 933 resultaram em gestações clínicas pós fertilização de alta complexidade. As gestações clínicas foram separadas em dois grupos para análise. O grupo I foi composto por pacientes submetidas a transferências de embriões frescos (772) e o grupo II composto por transferências de embriões congelados (161).

O tamanho amostral foi estabelecido por conveniência.

4.3 MATERIAIS E MÉTODOS

O perfil das pacientes que apresentaram gestação ectópica foi avaliado com relação à idade da paciente, idade do parceiro, número de folículos coletados, número de folículos M2, local de transferência, indicação do procedimento e número de embriões transferidos.

As pacientes foram submetidas à indução da ovulação com bloqueio hipofisário e estimulação ovariana com uso de gonadotrofinas recombinantes, cuja dose foi calculada de acordo com o perfil de cada paciente.

Elas foram acompanhadas por meio da monitorização da ovulação no terceiro e sexto dia do ciclo e fizeram uso de antagonista do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) quando foi identificada a presença de folículos com 14 mm. A dose do hormônio folículo estimulante recombinante (FSH- r) foi ajustada de acordo com a resposta ovariana.

Elas foram acompanhadas por ultrassonografia até ser identificada a presença de 2 folículos com diâmetro médio de 18 mm. Nesse dia foi realizada a datação adequada e iniciado via subcutânea a aplicação de preparados da gonadotrofina coriônica humana recombinante (hCG-r) para maturação folicular e punção dos folículos. Após a coleta foi iniciada a progesterona micronizada por via vaginal na dose de 200 µcg três vezes ao dia.

Após ser realizado a ICSI com os embriões selecionados, eles foram então transferidos no terceiro dia por meio do uso de um catéter de transferência de Frydman® Soft com mandril (Laboratoire CCD, Paris, France³), sob orientação ultrassonográfica realizada por via abdominal. Após a realização da transferência, as pacientes foram mantidas em repouso por 30 minutos e orientadas quanto à manutenção do repouso absoluto por 24 horas. Após esse período as pacientes foram liberadas para as suas atividades habituais.

Para a transferência de embriões congelados pela técnica de vitrificação as pacientes iniciaram o uso de valerato de estradiol 2 mg uma vez ao dia durante 4 dias, após utilizaram 2 mg duas vezes ao dia por mais 4 dias, e na sequência a dosagem de 2 mg três vezes ao dia. No décimo terceiro dia foi iniciada a progesterona micronizada na dose de 200 mcg de 8/8 h. Posteriormente foi realizada ultrassonografia para avaliação endometrial e quando se verificou que a espessura endometrial encontrava-se maior que 7 mm foi considerado que o endométrio estava com a espessura adequada para a transferência. A transferência de embriões congelados aconteceu no terceiro dia da progesterona.

³ <http://www.ccd-international.com/en/produits-ccd/art-product-line/embryo-transfer/frydman-soft-with-guide/>

4.3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos os prontuários que continham as seguintes informações:

- a) Gestações clínicas em que se visualizou o saco gestacional por meio da ultrassonografia;
- b) Gestações ectópicas diagnosticadas por meio da ultrassonografia ou laparoscopia.

4.3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- a) Prontuários com dados incompletos ;
- b) Prontuários que atestavam que a transferência não resultou em gravidez clínica.

4.3.3 ANÁLISE DE DADOS

A prevalência de gestação ectópica e a comparação das taxas entre os grupos de embriões frescos e congelados levando em conta as variáveis idade da paciente, idade do parceiro, número de folículos coletados, número de folículos M2, local de transferência, indicação do procedimento e número de embriões transferidos foi calculada utilizando o programa Microsoft Office Excel® versão 2010 (Microsoft, EUA). Para a análise estatística utilizou-se o software IBM SPSS Statistics (20.0). A análise estatística foi realizada utilizando o teste de regressão logística para comparar os dois grupos.

4.3.4 ÉTICA

O acesso aos prontuários foi devidamente autorizado pelo Diretor Técnico da Clínica Fértil.

Seguindo os preceitos éticos, essa pesquisa foi autorizada pelo Comitê de Ética por meio da Plataforma Brasil (ANEXO 1).

5 PUBLICAÇÕES

Artigo 1 – Prenhez ectópica em fertilização assistida clássica e injeção espermática intracitoplasmática

Tárik Kassem Saidah

Waldemar Naves do Amaral

Luiz Augusto Batista

Vanessa Aparecida Fabiano Furtado

Kassem Saidah

Luiz Augusto Teixeira Batista

Waldemar Naves do Amaral Filho

Revista FEMINA. Publicado em setembro de 2011.

Artigo 2 – Ectopic pregnancy in IVF: an analytical study with fresh frozen embryos

Tárik Kassem Saidah

Waldemar Naves do Amaral

Kassem Saidah

Carolina Macedo Saidah

Carla Amaral Vieira

Charlene Dourado Caldas

Artigo1 – Prenhez ectópica em fertilização assistida clássica e injeção espermática intracitoplasmática.

REVISÃO

Prenhez ectópica em fertilização assistida clássica e injeção espermática intracitoplasmática

Ectopic pregnancy in assisted fertilization classical and intracytoplasmatic sperm injection

Tarik Kassem Saidah¹
Waldemar Naves do Amaral²
Luiz Augusto Batista³
Vanessa Aparecida Fabiano Furtado⁴
Kassem Saidah⁵
Luiz Augusto Teixeira Batista⁶
Waldemar Naves do Amaral Filho⁷

Palavras-chave

Prenhez ectópica
Fertilização *in vitro*
ICSI
Heterotópica

Keywords

Ectopic pregnancy
In vitro fertilization
ICSI
Heterotopic

Resumo

A incidência de gestação ectópica varia de 0,3 a 1,4% das gestações espontâneas, e a ocorrência de uma gestação heterotópica é de 1:30.000. A taxa de gestação ectópica é maior naquelas com fertilização *in vitro*. Na fertilização *in vitro*, a porcentagem varia de 2,2 a 8,6%. Porém, em grupo com comprometimento tubário, esse índice pode ser maior, chegando a 11%. Gestações heterotópicas ocorrem em uma proporção de, respectivamente, 1:500 gestações com técnicas de reprodução *in vitro*. Podem ser destacados alguns fatores de risco, tais como comprometimento tubário, técnica inadequada e número de embriões transferidos, outros fatores não estão completamente esclarecidos do ponto de vista consensual.

Abstract

The incidence in ectopic pregnancy varies from 0.3 to 1.4% of all spontaneous pregnancies, and the incidence of heterotopic pregnancy is 1:30,000. The rate of ectopic pregnancy is higher in pregnancies with in vitro fertilization. Its rates range from 2.2 to 8.6%. However, in the group with tubal involvement, it is as high as 11%. Heterotopic pregnancy occurs in the incidence of 1:500 pregnancies with in vitro reproduction techniques. Some risk factors can be highlighted, such as tubal involvement, inadequate technique, number of embryos transferred, but other factors are not completely understood in terms of consensual.

¹ Residente de Ginecologia e Obstetrícia da Santa Casa de Misericórdia – Goiânia (GO), Brasil.

² Professor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás (UFG); Presidente Nacional da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana (SBRH) – Goiânia (GO), Brasil.

³ Professor do Departamento da Faculdade de Medicina da UFG; Mestrando em Engenharia da Computação pela Universidade Federal de Goiás; Responsável pelo Laboratório de Fertilização *In Vitro* e Criopreservação de Embriões da Clínica Fértil – Goiânia (GO), Brasil.

⁴ Médica formada pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO) – Goiânia (GO), Brasil.

⁵ Professor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da PUC-GO; Chefe do Serviço e Residência de Ginecologia e Obstetrícia da Santa Casa de Misericórdia de Goiânia – Goiânia (GO), Brasil.

⁶ Acadêmico de Medicina da PUC-GO – Goiânia (GO), Brasil.

⁷ Acadêmico de Medicina da Universidade Católica de Brasília (UCB) – Brasília (DF), Brasil.

Endereço para correspondência: Tarik Kassem Saidah – Clínica Fértil, Unidade Marista – Alameda Coronel Joaquim Bastos, 243 – Setor Marista – CEP: 74175-150 – Goiânia (GO) – E-mail: tsaidah@hotmail.com

Introdução

A prenhez ectópica é definida como a implantação do blastocisto em qualquer outro sítio fora da cavidade uterina. A maioria das gestações ectópicas se implanta na região ampular das tubas, seguida pelas regiões ístmica, fimbrias e cornual, as quais constituem 95% das gravidezes ectópicas. A primeira descrição da prenhez ectópica foi relatada por Abulcasis em 936 d.C. e, em 1708, Duverney foi o primeiro a descrever a gestação heterotópica¹ (A).

Na população geral, a incidência de gestação ectópica varia de 0,3 a 1,4%^{2,3}, enquanto a de uma gestação tópica associada à ectópica é de 1:30.000^{2,3} (B,C) (gravidez combinada). Os percentuais e índices, respectivamente, de gestação ectópica e heterotópica são maiores nas gestações com fertilização *in vitro* (FIV)⁴ (C). Nas gestações com FIV, as taxas de gestações ectópicas variam de 2,2 a 8,6%. Porém, em um grupo com comprometimento tubário, esses índices podem ser maiores chegando a 11%. As gestações heterotópicas ocorrem na incidência de 1:500 com técnicas de reprodução *in vitro*^{5,6} (B).

Embora as taxas de mortalidade materna, devido à prenhez ectópica, venham diminuindo significativamente nos últimos 30 anos, esta ainda é uma importante causa de morte no primeiro trimestre⁷ (B).

Teoricamente, deveria ocorrer uma diminuição na incidência de gravidez ectópica nas técnicas de FIV, já que, nesta, as trompas não estão diretamente envolvidas. No entanto, muitos estudos vêm demonstrando alta incidência, aumentando assim os questionamentos sobre a fisiopatologia envolvida⁶ (B).

Os fatores de risco associados à população geral incluem: doença inflamatória infecciosa pélvica, endometriose, comprometimento tubário (cirurgia ou prenhez ectópica prévia) e tabagismo.

Metodologia

Realizou-se pesquisa no PubMed por meio do cruzamento das seguintes palavras-chave: "prenhez ectópica", "fertilização *in vitro*", "fator de risco" e "ICSI". Foram encontrados 482 artigos, de 1990 a 2011, e selecionados 27.

Revisão de literatura

Na FIV quatro fatores de risco foram identificados como sendo os principais⁸ (B): diferença hormonal do meio; característica da saúde reprodutiva da mulher infértil; aspectos técnicos e potencial de implantação embrionária.

Diferença hormonal do meio

Uma das diferenças entre a concepção natural e a FIV é a variedade hormonal encontrada durante a implantação⁸ (B). Alguns estudos defendem que níveis de progesterona adequados manteriam o útero em repouso, diminuindo as contrações e, com isso, ocorreria o fluxo retrógrado para as trompas⁹ (A). O aumento do estrogênio intensificaria o peristaltismo tubário, bem como o batimento ciliar. Knutzen et al., em estudos utilizando contraste, evidenciaram o fluxo retrógrado para as tubas em 38,2% e forneceram a primeira evidência da relação entre transferência de embriões e aumento do risco de implantação tubária^{10,11} (C, B). Porém, a relação entre o ciclo hormonal de estrogênio e progesterona e a prenhez ectópica na transferência de embriões necessita maiores esclarecimentos.

Característica da saúde reprodutiva da mulher infértil

A mulher infértil apresenta características próprias que poderiam aumentar o risco de gestação ectópica comparada à população geral. A alteração da anatomia tubária, endometriose e a qualidade do óvulo fertilizado são apontadas como fatores de risco.

Doenças tubárias

As enfermidades tubárias foram identificadas como fator de risco para prenhez ectópica em gestações com fertilização natural. Estudos recentes demonstram que estes riscos permanecem nas FIV. Tal risco se deve ao mecanismo de quando o embrião entra em contato com as tubas por via retrógrada, se estas estiverem saudáveis mantêm a capacidade de transportar o embrião de volta à cavidade uterina¹² (B). Lesões tubárias como hidrossalpinge, doença inflamatória pélvica, tabagismo e infecções bacterianas são fatores de pior prognóstico^{6,8,13} (B). Clayton et al.⁶ (B) analisaram o risco da implantação ectópica em 94.118 gestantes, 2,1% apresentaram gestação ectópica, e o risco era duas vezes maior em mulheres que tinham como doença de base, causa tubária (OR=2,0; IC95% 1,7–2,4).

Endometriose

O mecanismo de gravidez ectópica em portadoras de endometriose ainda não está esclarecido, mas pode ter uma correlação com a lesão do tecido, bem como uma disfunção significativa do peristaltismo tubário em comparação aos Grupo Controles de pacientes sem endometriose. A peristalse tubária pode ser avaliada

pela histerosalpingografia (HSSG), que é o único método para avaliação da capacidade de transporte útero-tubário^{3,14} (C, A).

Qualidade do óvulo

Alguns estudos limitados pelo tamanho da amostra demonstram que pacientes com baixo risco para alterações cromossômicas apresentam menores taxas de gestação ectópica, mecanismo que não está definido na literatura¹⁵ (B).

Aspectos técnicos da fertilização

O sucesso da fertilização, bem como sua implantação, depende de variáveis como tipo e carregamento do cateter, colocação do embrião e contaminação do cateter¹⁶ (B). O tipo do cateter pode ser de material rígido ou maleável. Os cateteres mais rígidos facilitam a colocação, porém são mais traumáticos, causando sangramentos, traumas e estimulando contrações uterinas. Cateteres maleáveis causam menores lesões endometriais. Na literatura, o benefício de um cateter sobre o outro é controverso¹⁷⁻¹⁹ (A). Com relação ao carregamento do cateter, os riscos são minimizados com a diminuição da coluna de ar e do volume infundido. Knutzen et al.¹⁰ (C) mostraram com contraste radiopaco uma incidência de extravasamento tubário de 38%, com volume de 40 microlitros. Sabe-se que há correlação direta entre o volume infundido e os percentuais de prenhez ectópica. Atualmente, utiliza-se volume de 15 a 20 microlitros²⁰ (B). O local onde deve ser colocada a ponta do cateter é de extrema importância. Waterstone et al.²¹ demonstraram índices de fertilização maiores quando implantados a menos de 5 mm do fundo uterino²² (B). Com relação à preservação dos embriões, pode haver uma preocupação maior de gestações ectópicas em embriões criopreservados²³ (B). Ishihara et al.²⁴ (B), em um estudo retrospectivo com base de dados da Sociedade de Ginecologia e Obstetrícia Japonesa avaliando 20,886 pacientes, demonstraram menor percentual de prenhez ectópica em embriões criopreservados. Porém, uma meta-análise com 13,059 mulheres encontrou uma taxa de 2,31% para embriões congelados e 1,48% para os não-congelados²⁵ (A). Na FIV, utilizando embriões "não-congelados", acredita-se que ocorra uma produção maior de progesterona por múltiplos corpos lúteos, os quais, associados ao progestágeno exógeno, teriam melhor relaxamento uterino e receptividade endometrial. O atraso no desenvolvimento do embrião congelado pode provocar um tempo maior para sua implantação e, consequentemente, aumentar o risco de prenhez ectópica⁸ (B).

Potencial de implantação embrionária

O potencial de implantação embrionária divide-se em duas variáveis que consistem no dia de transferência do embrião (terceiro dia em comparação ao quinto) e no número de embriões transferidos.

Acreditava-se que a transferência do blastocisto diminuiria a incidência de gestações ectópicas, porém estudos não comprovaram esta teoria. Check et al.²⁶ (B) demonstraram taxas semelhantes para transferências de blastocisto e embrião do terceiro dia (3,9 versus 3,5%; $p=0,8$). Entretanto, outro estudo demonstrou um aumento de gestações ectópicas na transferência de blastocisto. Rosnan et al.²⁷ (B) avaliaram 4.186 fertilizações, nas quais a taxa de gestação ectópica foi de 0,4%, no terceiro, e 1,3%, no quinto dia ($p=0,002$). Pensava-se que a diminuição da contratilidade uterina no final da fase lútea e o maior diâmetro do blastocisto poderiam interferir na capacidade de refluxo, por meio do óstio tubário funcionando como proteção contra a implantação na trompa. Todavia, o maior potencial de implantação do blastocisto comparado ao estágio de clivagem pode negatar estes efeitos, contribuindo para a maior incidência de gestações ectópicas.

Clayton et al. demonstraram que o risco de gravidez ectópica, em que três ou mais embriões foram transferidos, foi de 2,4, a 2,5%. No entanto, quando apenas os embriões foram transferidos, taxas de gravidez ectópica variaram de acordo com os indicadores do potencial de implantação: 2,2% com nenhum presente indicador, de 1,6% quando os embriões extras tinham sido criopreservados, 1,4% em embriões transferidos no quinto ao invés do terceiro dia, e 1,4% quando embriões foram criopreservados e implantados no quinto dia⁶ (B).

Com relação ao tipo de FIV, comparando a forma clássica em ICSI, Clayton et al. demonstraram um fator protetor do ICSI, provavelmente pela principal indicação ser o fator masculino $OR=0,81$; $IC95\% 0,73-0,89$, excluindo assim fatores femininos importantes, como os descritos. Em análise multivariada, este fator protetor desaparece ($OR=0,92$; $IC95\% 0,81-1,02$).

Considerações finais

A taxa de prenhez ectópica em gestação espontânea é de 0,5% e a de heterotópica ocorre em 1:30.000. Em FIV, a gravidez ectópica tem ocorrência de aproximadamente 2,2 a 8,6%, enquanto a heterotópica está presente em 1:500 fertilizações. Há menor incidência de gestações ectópicas quando utiliza-se ICSI, talvez pela principal indicação ser o fator masculino. Dentre os fatores protetores, pode-se destacar número menor de embriões transferidos (dois ou menos), local correto de colocação do cateter durante a transferência, carregamento do cateter com menor volume e transferência no terceiro dia. Como fatores de risco, pode-se destacar como principal a doença tubária. Outros fatores podem contribuir para aumento da prenhez ectópica como enfermidade de base materna e técnica inadequada durante a transferência. Os demais fatores não estão completamente esclarecidos.

Leituras suplementares

1. Abusheikha N, Sallha O, Brinsden P. Extra-uterine pregnancy following assisted conception treatment. *Human Reprod Update*. 2000;6:80-92.
2. Alto W. Abdominal pregnancy. *Am Fam Physician*. 1990;41:209-14.
3. Kissler S, Wiegatzl I, Kohll J, Rody A, Gaetje R, Kaufmann M. Repeated Ectopic Pregnancy After ICSI Therapy and Embryo Transfer – A Case Report and Literature Review. *J Reproduktionsmed Endokrinol*. 2006;3(6):387-9.
4. Donadio NF, Donadio N, Martins PT, De C. Grande Cambiaghi. Gestação heterotópica: possibilidade diagnóstica após fertilização *in vitro*. A propósito de um caso *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2008;30(9):466-9.
5. Nazari A, Askari HA, Check JH, O'Shaughnessy A. Embryo transfer technique as a cause of ectopic pregnancy in *in vitro* fertilization. *Fertil Steril*. 1993;60(5):919-21.
6. Clayton HB, Schieve LA, Peterson HB, Jamieson DJ, Reynolds MA, Wright VC. Ectopic pregnancy risk with assisted reproductive technology procedures. *Obstet Gynecol*. 2006;107(3):595-604.
7. Morelli SS, Keegan DA, Krey LC, Katz J, Liu M, Noyes N. Early serum interleukin-8 evaluation may prove useful in localizing abnormally implanted human gestations after *in vitro* fertilization. *Fertil Steril*. 2008;90(6):2068-72.
8. Chang HJ, Suh CS. Ectopic pregnancy after assisted reproductive technology: what are the risk factors? *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2010;22(3):202-7.
9. Fanchin R, Righini C, de Ziegler D, Olivennes F, Ledée N, Frydman R. Effects of vaginal progesterone administration on uterine contractility at the time of embryo transfer. *Fertil Steril*. 2001;75(6):1136-40.
10. Knutzen V, Stratton CJ, Sher G, McNamee PJ, Huang TT, Soto-Albros C. Mock embryo transfer in the early luteal phase. *Fertil Steril*. 1992;57:156-62.
11. Strandell A, Thorburn J, Hamberger L. Risk factors for ectopic pregnancy in assisted reproduction. *Fertil Steril*. 1999;71(2):282-6.
12. Tevs G, Ebner T, Jesacher K. Besonderheiten der ektopen Schwangerschaft nach IVF/ICSI. *J Reproduktionsmed Endokrinol*. 2004;4:268-71.
13. Pyrgiotis E, Sultan KM, Neal GS, Grifo JA, Rosenwaks Z. Ectopic pregnancies after *in vitro* fertilization and embryo transfer. *J Assist Reprod Genet*. 1994;11:79-84.
14. Kissler S, Hamscho N, Zangos S, Wiegatzl I, Schlichter S, Menzel C, et al. Uterotubal transport disorder in adenomyosis and endometriosis a cause for infertility. *Br J Obstet Gynecol*. 2006;113:902-8.
15. Karikoski R, Aine R, Heinonen PK. Abnormal embryogenesis in the etiology of ectopic pregnancy. *Gynecol Obstet Invest*. 1993;36:158-62.
16. Schoolcraft WB, Surrey ES, Gardner DK. Embryo transfer: techniques and variables affecting success. 2001;76(5):863-70.
17. Wisanto A, Janssens R, Deschacht J, Camus M, Devroey P, Van Steirteghem AC. Performance of different embryo transfer catheters in human *in vitro* fertilization process. *Fertil Steril*. 1989;52:79-84.
18. Al-Shawaf T, Dave R, Harper J, Linehan D, Riley P, Craft I. Transfer of embryos into the uterus: how much do technical factors affect pregnancy rates? *J Assist Reprod Genet*. 1993;10:31-6.
19. Englert Y, Puissant F, Camus M, Van Hoeck J, Leroy F. Clinical study on embryo transfer after human *in vitro* fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transfer*. 1986;3(4):243-6.
20. Marcus SF, Macnamee M, Brinsden P. Heterotopic pregnancies after *in-vitro* fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod*. 1995;10:1232-6.
21. Waterstone J, Curson R, Parsons J. Embryo transfer to low uterine cavity. *Lancet*. 1991;337:1413.
22. Yovich JL, Turner SR, Murphy AJ. Embryo transfer technique as a cause of ectopic pregnancies *in vitro* fertilization. *Fertil Steril*. 1985;44:318-21.
23. Pyrgiotis E, Sultan KM, Neal GS, Grifo JA, Rosenwaks Z. Ectopic pregnancies after *in vitro* fertilization and embryo transfer. *J Assist Reprod Genet*. 1994;11:79-84.
24. Ishihara O, Kuwahara A, Saitoh H. Frozen-thawed blastocyst transfer reduces ectopic pregnancy risk: an analysis of single embryo transfer cycles in Japan. *Fertil Steril*. 2011;95(6):1966-9.
25. Jee BC, Suh CS, Kim SH. Ectopic pregnancy rates after frozen versus fresh embryo transfer: a meta-analysis. *Gynecol Obstet Invest*. 2009;68:53-7.
26. Check JH, Choe JK, Katsoff B, Krotec JW, Nazari A. Ectopic pregnancy is not more likely following fresh vs frozen embryo transfer. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2005;32(2):95-6.
27. Rosman ER, Keegan DA, Krey L, Liu M, Licciardi F, Grifo JA. Ectopic pregnancy rates after *in vitro* fertilization: a look at the donor egg population. *Fertil Steril*. 2009;92:1791-3.

Artigo 2 - Ectopic pregnancy in women undergoing IVF: an analytical study with fresh and frozen embryos

RUNNING TITLE:

Ectopic pregnancy in IVF

Title

Ectopic pregnancy in IVF: an analytical study with fresh and frozen embryos

Names and affiliations

1-Tarik Kassem Saidah, Professor at Unievangelica - Anápolis Medical School. Av. Universitária, Km. 3,5 - Cidade Universitária, Anápolis - GO, 75083-515, Brasil.

2- Waldemar Naves do Amaral, Professor at the UFG – Goiás Medical School Faculdade de Medicina – Rua 235, esquina com 1ª Avenida, s/n - Setor Universitário, CEP 74605-020, Goiânia - Goiás – Brasil, Telefax: (62) 3209-6248.

3- Kassem Saidah, Professor at PUC - Goiás Medical School, Av. Universitária, 1440, Setor Universitário, Goiânia, CEP: 74.605-010. Phone/Fax: 3946-1000/3946-10054.

4 - Carolina Macedo Saidah, Obstetrician-Gynecologist

5- Carla Amaral Vieira, Medical Student at Unievangelica – Anápolis. Av. Universitária Km. 3,5 - Cidade Universitária, Anápolis - GO, 75083-515, Brasil.

6-Charlene Dourado Caldas, Physician, Santa Casa de Anápolis. Avenida Visconde de Taunay, 134 - Jundiaí, Anápolis - GO, 75110-730.

Corresponding author

Tarik Kassem Saidah
tsaidah@hotmail.com

Present address

Rua 138, n. 96, Setor Marista. Goiânia, Goiás. CEP: 74.170-140.

Capsule

An analytic study investigating ectopic pregnancy after frozen and fresh embryo transfer showing a lower rate in frozen embryos, but without statistical significance.

ABSTRACT

Objective: To compare the rates of ectopic pregnancies (EP) in in vitro fertilization using fresh and frozen embryos.

Design: An analytical study was conducted to compare the rates of ectopic pregnancy with fresh and frozen embryos. All transfers of fresh and frozen embryos obtained through in vitro fertilization via intracytoplasmic sperm injection conducted between January 2007 and December 2014 were reviewed.

Results: Of the 933 embryos obtained through in vitro fertilization that resulted in clinical pregnancies, 19 cases of ectopic pregnancies were observed, a prevalence of 2.02%. Fresh embryos led to 772 fertilizations, and 161 were the product of frozen embryos. Using the fresh embryos, 16 ectopic pregnancies occurred, 2.1% of fertilizations; with frozen embryos the rate was 1.9%. There was a lower rate of ectopic pregnancy with frozen embryos in comparison to fresh embryos, although this did not demonstrate statistical significance ($p = 0.86$) (OR = 0.89, CI = 0.258-3.11).

Conclusion: The profile of patients with ectopic pregnancy was young patient with young partner that showed good ovarian response, male factor as major indication for the procedure followed by tubal factor, and had more than 3 embryos transferred into the middle of the uterus. The prevalence of EP in this study was 2.02. It was observed that there was no significant difference in EP compared the transfer of fresh and frozen embryos.

Keywords: Ectopic pregnancy, fresh embryos, ICSI, IVF.

Introduction

In recent years there has been a significant increase in the number of frozen embryo transfers in comparison with fresh embryos. From 2006 to 2012 there was an 82.5% increase in transfers of frozen embryos and only 3.1% for fresh embryos, as reported by the Society for Assisted Reproductive Technology (SART). From 2011 to 2012 there was a 17,3% increase in frozen embryos, and a 3.2% increase in fresh embryos, showing the growth in use of frozen embryos (1).

Initially, cryopreservation was used to complement in vitro fertilization (IVF) techniques. In 1954 the first published cryopreservation of sperm occurred (2). The first birth resulting from frozen embryos took place in 1984, and the first birth from frozen oocytes was in 1996 (3-4).

Currently, clinical indications for cryopreservation include: cancer patients undergoing treatment, patients at risk for premature ovarian failure, and freezing to delay fertility, a result of the current tendency for women to have children at more advanced ages (4).

The rates of live birth increased significantly with the use of frozen embryos compared with fresh embryos. It is known that implantation depends on three parameters: the quality of the embryo, the receptivity of the endometrium, and the interaction between them (5-6). Endometrial receptivity and the quality of the endometrium depend on numerous other factors such as the levels of estrogen and progesterone, inhibin, prostaglandins, and vascular endothelial growth factor, among others (1). Improvements in freezing and thawing techniques have led to better embryo quality, improving

these parameters and consequently the implantation of frozen embryos (7). In fertilizations with frozen embryos, endometrial preparation is improved, and there is a consequent improvement in responsiveness when compared with cycles done with fresh embryos (5-8). The increased pregnancy rates for frozen embryos show that in fresh embryo cycles, the endometrium is less receptive, and perinatal and maternal risks are lower when frozen embryos are used, in comparison with autologous transfer of fresh embryos. Frozen embryos present a higher risk of placenta accreta and fetal macrosomia, despite a lower risk of perinatal mortality, placenta previa, preterm birth, ovarian hyperstimulation, and low birth weight. Risks for some conditions, such as preeclampsia, very low birth weight, implantation rates, and ectopic pregnancy do not show a clear difference (1).

Rates of ectopic pregnancy in IVF vary from 2.0% to 8.6% of all clinical pregnancies; while the rates range from 0.3% to 1.97% in spontaneous gestations (9-10). However, in groups with tubal commitment, these rates can be higher, up to 11% (11). Risk factors in spontaneous pregnancies include previous ectopic pregnancy, pelvic inflammatory disease, and tubal pathologies. The risk factors identified in in vitro fertilization include: maternal pathologies, tubal lesions, number and quality of embryos transferred, volume placed in the catheter and embryo transfer techniques.

There is still controversy regarding the rates of ectopic pregnancies for fresh and frozen embryos. Some studies suggest that the rates of ectopic pregnancies are higher for frozen embryos than fresh embryos; these studies suggest that the supra-physiological concentration of progesterone produced by multiple corpora lutea combined with exogenous supplementation

produces greater concentrations than in frozen embryos, keeping the uterus more relaxed (12). Jun and Milki found higher rates but no significance in transfers of frozen embryos compared to fresh (2.8% vs. 1.8%) (13). A meta-analysis of seven studies including 13,059 pregnancies showed a 2.31% rate of ectopic pregnancies for frozen embryos and 1.48% for fresh embryos; these rates did not show statistical differences (OR = 1.66, 95% CI = 0.62–4.41) (14).

Recently, some studies have shown a lower rate of ectopic pregnancy in frozen embryos (15). A retrospective study of 20,886 pregnancies conducted in Japan showed lower rates of ectopic pregnancy with frozen embryos. The authors suggested a negative effect of ovarian stimulation in endometrial receptivity reflecting an increase in the rates of ectopic pregnancy (EP), since the majority of the frozen embryos use natural cycles, with the exception of anovulatory patients using hormone replacement for preparation. The authors concluded that the importance of reduced EP with natural cycle transfers could be explained by endometrial factors (16). Another recent study (a retrospective cohort with 10,046 pregnancies) showed a rate of 1.92% for fresh embryos and 1.28% for frozen embryos without statistical significance, indicating ovarian stimulation and consequent peritoneal irritation as causative factors (17). GnRH and FSH receptors have been identified in the endometrium, and the use of GnRH and GnRH analogs may interfere with endometrial receptivity (18).

With the increase in transfers of frozen embryos and studies in the literature showing divergent rates of ectopic pregnancies, the objectives of this study were to define the profile of patients with ectopic pregnancy,

establish the prevalence of ectopic pregnancy in high complexity ICSI in vitro procedures, and to compare the rates of EP in IVF for fresh and frozen embryos.

Methods

An analytical study was conducted, comparing the rates of ectopic pregnancy for fresh and frozen embryos.

We reviewed all transfers of fresh and frozen embryos obtained through in vitro fertilization via intracytoplasmic sperm injection conducted between January 2007 and December 2014. Clinical pregnancies included pregnancies where the embryonic sac could be seen intrauterally as well as ectopic pregnancies. Ectopic pregnancies were diagnosed by ultrasound or laparoscopy.

The patients underwent ovulation induction with pituitary and ovarian stimulation using recombinant gonadotropins, the dose of which was calculated according to the patient's profile. The patients were followed to monitor ovulation in the third and sixth day, and used the GnRH antagonist when follicles 14 mm in size were present. The dosage of FSHR was adjusted according to ovarian response. The patients were monitored using ultrasound until two follicles were present with a mean diameter of 18 mm. On this day, appropriate dating was conducted, and subcutaneous HCG-r was initiated for follicular maturation and puncture. After collection, micronized vaginal progesterone 200 µcg three times a day was initiated.

After ICSI was performed on the selected embryos, they were transferred on the third day using a Frydman Soft transfer catheter with mandrel (Laboratoire CCD, Paris, France) guided by abdominal ultrasound. After the transfer was completed, the patients were kept in a resting position for 30 minutes and instructed to maintain bed rest for 24 hours. After this period, the patients were permitted to return to their usual activities.

The freezing technique used was vitrification. For the frozen embryo transfer, the patients were started on estradiol valerate 2 mg once daily for 4 days, then 2 mg twice daily for 4 days, and then 2 mg three times a day. On the thirteenth day, micronized progesterone 200 mcg was begun every 8 hours. Subsequently, ultrasound was performed to assess the endometrium, considering a thickness of more than 7 mm as appropriate. The frozen embryo transfer took place on the third day of progesterone.

The records reviewed were stored as electronic health records in the Ultrasystem program, version 3.8.1.

The profile of the patients with ectopic gestations was evaluated with respect to age of patient, age of partner, number of follicles collected, number of M2 follicles, transfer location, indication for the procedure, and number of embryos transferred. The prevalence of ectopic pregnancy and the comparison of rates between the groups of fresh and frozen embryos was conducted via logistic regression analysis using SPSS version 20.0 software.

Results

Among the 933 embryos obtained through vitro fertilization that resulted in clinical pregnancies, 19 cases of ectopic pregnancies were observed.

The mean age of the 19 patients presenting ectopic pregnancy was 33.4 years, and the mean partner age was 36.07 years. As for the number of follicles collected, 52.63% of the patients had more than 11 follicles, and 63.15% of patients had more than 7 M2 follicles, showing good ovarian response (Table 1 and Table 2). With respect to the number of embryos transferred, 31.57% of patients had more than 4 embryos transferred, and 52.63% had 3 embryos transferred.

Table 1. Distribution of ectopic pregnancy cases following IVF (Fértil, Goiânia 2007 – 2014) according to the number of follicles collected.

Number of follicles	Absolute Number	Relative Number
≤ 5	2	10.52%
6 – 10	7	35.84%
≥ 11	10	52.63%
Total	19	100,00%

Table 2. Distribution of ectopic pregnancy cases following IVF (Fértil, Goiânia 2007 – 2014) according to the number of M2 follicles.

Number of M2 Follicles	Absolute Number	Relative Number	
≤ 3	3	15.78%	A
4 - 6	2	10.52%	mo
7 - 9	8	42.10%	ng
≥ 10	4	21.05%	the
Not reported	2	10.50%	clin
Total	19	100,00%	ical

male factor infertility was present in 6 patients, tubal issues isolated were present in 4 patients, infertility without apparent cause was present in only 1 patient, the other indications were: endometriosis in 1 patient, persistent thin endometrium in 1 patient, and ovarian factors in 3 patients (Table 3).

More than one cause of infertility was present in 3 patients. In these patients with more than one cause of infertility, the first one showed tubal factor associated with male factor, the second one presented with male factor, tubal factor and endometriosis, and the third one showed tubal factor and endometriosis (Table 3).

Table 3. Distribution of ectopic pregnancy cases following IVF (Fértil, Goiânia 2007 – 2014) according to clinical indication.

Indication	Absolute Number	Relative Number
Male factor	6	31.57%
Tubal Factor	4	21.05%
Ovarian Factor	3	15.78%
More than 1 factor	3	15.78%
No apparent cause	1	5.26%
Endometriosis	1	5.26%
Persistently thin endometrium	1	5.26%
Total	19	100%

With regard to the location of intra-uterine transfer in the 19 patients, in 12 cases the embryos were transferred into the middle of the uterus, and 3 were transferred into lower segment of the uterus. No complications occurred during these transfers.

A total of 772 fertilizations occurred using fresh embryos (group 1), and 161 with frozen embryos (group 2).

Of the 933 in vitro fertilizations, 19 ectopic pregnancies occurred, a prevalence of 2.02%. In group 1, 16 ectopic pregnancies occurred, a rate of 2.1%; in group 2, the rate was 1.9%. There was a lower rate of ectopic pregnancy with frozen embryos in comparison to fresh embryos, although this did not demonstrate statistical significance ($p = 0.86$) (OR = 0.89, CI 0.258-3.11) (Table 4)

Table 4. Comparing ectopic pregnancies among groups of fresh and frozen embryos (Fértil, Goiânia 2007 – 2014).

	Fresh embryos		Frozen embryos		b	P	OR	IC	
	N	%	N	%				Inferior	Superior
Normal	756	97.9	158	98.1	-0.109	0.864	0.897	0.258	3.116
Ectopic	16	2.1	3	1.9					
Total	772	100	161	100					

Discussion

Infertility is a universal phenomenon that affects approximately 8% to 15% of couples, and is associated with a higher risk of ectopic pregnancy (17). Even after in vitro fertilization, when the embryos are transferred directly into the uterine cavity, there is an increase in the prevalence of ectopic pregnancy. This rate ranges from 2.0–8.6% of all clinical pregnancies, and is 0.3–1.97% in spontaneous pregnancies (9-10). This study found an overall prevalence of 2.02%, similar to the rates found in the literature.

In recent years, lifestyle changes have led to a significant increase in demand for IVF techniques, and more recently this increase has been more significant in fertilization using frozen embryos.

There is no agreement in the literature about whether the use of frozen or fresh embryos presents higher risk for ectopic pregnancies. Recent studies show a protective factor against ectopic pregnancy when frozen embryos are transferred.

Decleer et al. showed a 1.92% rate of EP when fresh embryos were used and 1.28% when frozen embryos were used, with no statistical significance (17). In 2011, a Japanese study found that IVF using frozen embryos could result in lower risk of EP in patients, and deserves further study (16). Shapiro et al. presented statistically significant rates showing lower prevalence of ectopic pregnancy in frozen embryos (0%, or 0/433), while for fresh embryos this number was 1.9% (14/725) ($p = 0.0016$) (15).

Huang et al. conducted a study of 30,000 assisted reproductive cycles resulting in 6,431 clinical pregnancies using fresh embryos and 5,564 clinical pregnancies using frozen embryos. The ectopic rate in pregnancies from fresh embryos was 4.62%, and was 2.22% for frozen embryos ($P < .001$) (20). Fang et al. conducted a study of 3,183 women who received 3,340 transfers. The rate of ectopic pregnancy in the fresh embryos transferred on day 3 was 2.4%, while for fresh embryos transferred on day 5 the rate was 1.7%. The frozen embryos transferred on day 3 presented a rate of 1.9%, while the frozen embryos transferred on day 5 had a rate of 0.3%, indicating statistical significance (21).

It is believed that this protection derives from improvements in embryo quality as well as endometrial receptivity. The most widely accepted hypothesis is the negative effect of ovarian stimulation on endometrial receptivity. This hypothesis seems to be valid, because a detrimental effect of ovarian stimulation in the endometrium can affect implantation rates and lead to an increase in ectopic pregnancy and a decrease in the rate of intra-uterine pregnancies (15). This study agrees with the findings of another randomized trial conducted by the same group, which strongly suggests that

the rates of ectopic pregnancies declined in stimulated fresh cycles compared with cycles using frozen embryos in normo-responsive patients (19).

In contrast with these authors, a meta-analysis of seven studies including 13,059 pregnancies showed a 2.31% rate in frozen embryos and 1.48% using fresh embryos. These rates did not show statistical differences (OR = 1.66, CI 95%, 0.62–4.41) (14). A study by Jun et al. presented rates of 2.8 and 1.8 for fresh and frozen embryos, respectively (13). A recent study using the SART database showed that among 103,070 cycles, the clinical pregnancy that resulted in EP were 65% lower in women who had a frozen embryo transfer compared with a fresh embryo transfer in autologous cycles (22).

The data obtained in this study showed a lower prevalence of ectopic gestation in frozen embryos, without statistical significance. With the improvement in the rates of pregnancies with frozen embryos, recent studies show a tendency towards lower rates of ectopic pregnancy in frozen embryos, but further studies should be conducted since different rates for the two groups are found in the literature.

Conclusions

The profile of patients with ectopic pregnancy was young patient with young partner that showed good ovarian response, male factor as major indication for the procedure followed by tubal factor, and had more than 3 embryos transferred into the middle of the uterus.

The prevalence of ectopic pregnancy in this study was 2.02.

It was observed that there was no significant difference in ectopic pregnancy compared the transfer of fresh and frozen embryos.

References

1. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garne FC, Aguirre M, Hudson C. Clinical rationale for cryopreservation of entire embryo cohorts in lieu of fresh transfer. *Fertil Steril* 2014;102(1):3-9.
2. Bunge RG, Keettel WC, Sherman JK. Clinical use of frozen semen: report of four cases. *Fertil Steril* 1954;5:520–9.
3. Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature* 1983;305:707–9.
4. Levi Setti PE, Albani E, Morengi E, Morreale G, Delle Piane L, Scaravelli G, Patrizio P. Comparative analysis of fetal and neonatal outcomes of pregnancies from fresh and cryopreserved/thawed oocytes in the same group of patients. *Fertil Steril* 2013;100(2):396-401.
5. Roque M, Lattes K, Serra S, Geber S, Carreras R, Checa MA. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2013;99(1):156-62.
6. Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update* 2006;12:731–46.
7. Doody, KJ. Cryopreservation and delayed embryo transfer-assisted reproductive technology registry and reporting implications. *Fertil Steril* 2014;102(1):27-31.

8. AbdelHafez FF, Desai N, Abou-Setta AM, Falcone T, Goldfarb J. Slow freezing, vitrification and ultra-rapid freezing of human embryos: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2010;20:209–22.
9. Wang J, Wey Y, Diao F, Cui Y, Mao Y, Wang W, Liu J. The association between polycystic ovary syndrome and ectopic pregnancy after in vitro fertilization and embryo transfer. *Am J Obstet Gynecol* 2013;209:139.e1-9.
10. Kisslerl S, Wiegratzl I, Kohll J, Rody A, Gaetje R, Kaufmann M. Repeated Ectopic Pregnancy After ICSI Therapy and Embryo Transfer – A Case Report and Literature Review. *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2006;3(6):387-9.
11. Clayton HB, Schieve LA, Peterson HB, Jamieson DJ, Reynolds MA, Wright VC. Ectopic pregnancy risk with assisted reproductive technology procedures. *Obstet Gynecol* 2006;107(3):595-604.
12. Chang HJ, Suh CS. Ectopic pregnancy after assisted reproductive technology: what are the risk factors? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010;22(3):202–07.
13. Jun SH, Milki AA. Ectopic pregnancy rates with frozen compared with fresh blastocyst transfer. *Fertil Steril* 2007;88:629–31.
14. Jee BC, Suh CS, Kim SH. Ectopic pregnancy rates after frozen versus fresh embryo transfer: a meta-analysis. *Gynecol Obstet Invest* 2009;68:53–7.
15. Shapiro BS, Daneshmand ST, de Leon L, Garner FC, Aguirre M, Hudson C. Frozen-thawed embryo transfer is associated with a significantly reduced incidence of ectopic pregnancy. *Fertil Steril* 2012;98:1490–4.
16. Ishihara O, Kuwahara A, Saitoh H. Frozen-thawed blastocyst transfer reduces ectopic pregnancy risk: an analysis of single embryo transfer cycles in Japan. *Fertil Steril* 2011;95(6):1966-9.

17. Decler W, Osmanagaoglu K, Meganck G, Devroey P. Slightly lower incidence of ectopic pregnancies in frozen embryo transfer cycles versus fresh in vitro fertilization-embryo transfer cycles: a retrospective cohort study. *Fertil Steril* 2014;101(1):162-5.
18. Kaur H, Krishna D, Shetty N, Krishnan S, Srinivas MS, Rao K. Effect of pre-ovulatory single dose GnRH agonist therapy on IVF outcome in GnRH antagonist cycles; a prospective study. *J Reprod Infertil* 2012;13(4):225-31.
19. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C, Thomas S. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh and frozen thawed embryo transfer in normal responders. *Fertil Steril* 2011;96:344–8.
20. Huang B, Hu D, Ai J, Li Y, Jin L, Zhu G, Zhang H. Is frozen embryo transfer cycle associated with a significantly lower incidence of ectopic pregnancy? An analysis of more than 30,000 cycles. *Fertil Steril* 2014;102(5):1345-9.
21. Fang C, Huang R, Wei LN, Jia L. Frozen-thawed day 5 blastocyst transfer is associated with a lower risk of ectopic pregnancy than day 3 transfer and fresh transfer. *Fertil Steril* 2015;103(3):655-61.
22. Londra L, Moreau C, Strobino D, Garcia J, Zacur H, Zhao Y. Ectopic pregnancy after in vitro fertilization: differences between fresh and frozen-thawed cycles. *Fertil Steril*. 2015; 104(1):110-8.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A gestação ectópica é um evento de alto risco e pode ocorrer tanto em gestações espontâneas quanto naquelas oriundas da fertilização *in vitro* devido à morbidade e risco de morte materna. A fertilização *in vitro* pode ser um evento promotor da elevação de gestações ectópicas.

Por isso, os cuidados sugeridos quando da utilização dessa técnica envolvem uma atenção com o tipo de cateter, número de embriões a serem transferidos, a forma de transferência, o uso do GnRH e o tipo de patologia tubária, pois, estudos já publicados indicaram que esses fatores podem ser considerados de risco para a gestação ectópica.

Devido ao fato de a gestação ectópica apresentar um alto risco para a gestante, recomenda-se que as pacientes que irão submeter-se a ciclos de fecundação de alta complexidade sejam avaliadas o mais precocemente possível, após o procedimento para que se possa confirmar a gestação intraútero.

REFERÊNCIAS

1. ABUSHEIKHA, N; SALHA, O; BRINSDEN, P. Extra-uterine following assisted conception treatment. *Human Reprod Update*. 6(1):80-92, 2000.
2. ACOG Practice Bulletin No. 121: Long-acting reversible contraception: Implants and intrauterine devices. *Obstet Gynecol*.118(1):184-96, 2011. Reaffirmed 2013.
Disponível em:
<http://www.acog.org/~/media/Practice%20Bulletins/Committee%20on%20Practice%20Bulletins%20--%20Gynecology/Public/pb121.pdf?dmc=1>
3. BALASUBRAMANIAM, ES; VAN NOORDEN, S; EL-BAHRAWY, M.T The expression of interleukin (IL)-6, IL-8, and their receptors in fallopian tubes with ectopic tubal gestation.*Fertil Steril*. 98(4):898-904, 2012.
4. BITTAR, RE et al. Gravidez ectópica [Cap. 30]. In: Zugaib *Obstetrícia* [editor Marcelo Zugaib]. 2ª ed. Barueri, SP: Manole, 2012. Págs. 583-600.
5. BRAGA, DPAF; BORGES JR; E. Técnica de alta complexidade: ICSI [CAP. 12]. In: *Tratado de Reprodução Humana*. 3ª ed. ampliada e atualizada. [Org.] Dizik, A et al. SP: Segmento Farma, 2014. Págs. 113-22.
6. BUDUNKI, V; CABAR, FR; NOMURA, RMY. Anatomia e fisiologia: Ovulação, implantação e embriogênese [Cap. 5]. In: Zugaib *Obstetrícia* [editor Marcelo Zugaib]. 2ª ed. Barueri, SP: Manole, 2012. Págs. 59-76.

7. CAMARGOS, AF; LEMOS, CNCD; TAVARES, RLC. Tratamento de alta complexidade em Reprodução Humana. In: Manual de Ginecologia e Obstetrícia – SOGIMIG. 5ª ed. [org.] Silva Filho, AL; Aguiar, RALP; MELO, VM. BH: Coopemed, 2012. 231-46.
8. CANÇADO, ML et al. Propedêutica do Casal Infértil. In: Manual de Ginecologia e Obstetrícia – SOGIMIG. 5ª ed. [org.] Silva Filho, AL; Aguiar, RALP; MELO, VM. BH: Coopemed, 2012. Págs. 203-08.
9. CAPMAS, P; BOUYER, J; FERNANDEZ, H. Treatment of ectopic pregnancies in 2014: new answers to some old questions. *Fertil Steril*. 101(3):615-20, 2014.
10. CASIKAR, I; REID, S; CONDOUS G. Ectopic pregnancy: Ultrasound diagnosis in modern management. *Clin Obstet Gynecol*. 55(2):402-9, 2012.
11. CHANG, HJ; SUH, CS. Ectopic pregnancy after assisted reproductive technology: what are the risk factors? *Curr Opin Obstet Gynecol*. 22(3):202-7, 2010.
12. CLAYTON, HB et al. Ectopic pregnancy risk with assisted reproductive technology procedures. Ectopic pregnancy risk with assisted reproductive technology procedures. *Obstet Gynecol*. 107(3):595-604, 2006.
13. FANG, C et al. Frozen-thawed day 5 blastocyst transfer is associated with a lower risk of ectopic pregnancy than day 3 transfer and fresh transfer. *Fertil Steril*. 103(3):655-61, 2015.
14. GEBER, S; VALLE, M; SAMPAIO, M. Técnicas de Reprodução Assistida [Cap. 43]. In: Ginecologia. [Org.] Viana, LC e Geber, S. 3ª ed. RJ: MedBook Editora Científica. 2013. Págs. 287-90.

15. GEBER, S et al. Effects of previous ovarian surgery for endometriosis on the outcome of assisted reproduction treatment. *Reprod Biomed Online*. 5(2):162-6, 2002.
16. GOLDITCH, IM. Lawson Tait: The forgotten gynecologist. *Obstet Gynecol*. 99(1): 152-6, 2002
17. GUERRERO-MARTÍNEZ, E; RIVAS-LÓPEZ, R; MARTÍNEZ-ESCUADERO, IS. Some demographic aspects associated with ectopic pregnancy. *Ginecol Obstet Mex*. 82(2):83-92, 2014.
18. HORNE, AW et al. The association between smoking and ectopic pregnancy: why nicotine is BAD for your fallopian tube. *PLoS One*. 20;9(2):e89400, 2014.
19. HYLAND, A et al. Associations of lifetime active and passive smoking with spontaneous abortion, stillbirth and tubal ectopic pregnancy: a cross-sectional analysis of historical data from the Women's Health Initiative. *Tob Control*. 24(4):328-35, 2015.
20. JIN, X; RUIZ BEGUERIE, J. Laparoscopic surgery for subfertility related to endometriosis: a meta-analysis. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 53(3):303-8, 2014.
21. KOMPANJE, EJO. A remarkable case in the history of obstetrical surgery: a laparotomy performed by the Dutch surgeon Abrham Cyprianus in 1694. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 118:119-23, 2005.
22. LI, P et al. Enhanced beta-catenin expression and inflammation are associated with human ectopic tubal pregnancy. *Hum Reprod*.;28(9):2363-71, 2013.

23. MALAK, M et al. Risk factors for ectopic pregnancy after in vitro fertilization treatment. *J Obstet Gynaecol Can.* 33(6):617-9, 2011.
24. MARION, LL; MEEKS, GR. Ectopic pregnancy: History, incidence, epidemiology, and risk factors. *Clin Obstet Gynecol.* 55(2):376-86, 2012.
25. MOINI, A et al. Risk factors for ectopic pregnancy: A case-control study. *J Res Med Sci.* 19(9):844-9, 2014.
26. MONTENEGRO, CAB; REZENDE FILHO, J; MANDARIM-DE-LACERDA, CA. Fisiologia da Reprodução: Bases morfológicas e funcionais do sistema genital. [Cap. 2]. In: Rezende, Obstetrícia. [org.] Montenegro, AB; Rezende Filho, J. 12ª ed. RJ: Guanabara Koogan, 2013. Págs. 37 a 52.
27. PFEIFER, S et al. Medical treatment of ectopic pregnancy: a committee opinion. *Fertil Steril.* 100(3):638-44, 2013.
28. PEREIRA, DHM; CATAFESTA, E. Técnicas de alta complexidade. FIVeTE [cap. 11]. In: Tratado de Reprodução Humana. 3ª ed. ampliada e atualizada. [Org.] Dizik, A et al. SP: Segmento Farma, 2014. Págs. 103-11.
29. POP-TRAJKOVIC, S et al. Stages of endometriosis: does it affect in vitro fertilization outcome. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 53(2):224-6, 2014.
30. RANA, P et al. Ectopic pregnancy: a review. *Arch Gynecol Obstet.* 288(4):747-57, 2013.
31. SILVA, PM et al. Effectiveness of expectant management versus methotrexate in tubal ectopic pregnancy: a double-blind randomized trial. *Arch Gynecol Obstet.* 291(4):939-43, 2015.

32. SHAW, JL et al. Current knowledge of the aetiology of human tubal ectopic pregnancy. *Hum Reprod Update*. 16(4):432-44, 2010.
33. SHAW, JL et al. Chlamydia trachomatis infection increases fallopian tube PROKR2 via TLR2 and NFκB activation resulting in a microenvironment predisposed to ectopic pregnancy. *Am J Pathol*. 178(1):253-60, 2011.
34. TINKANEN, H; KUJANSUU, E. In vitro fertilization in patients with ovarian endometriomas. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 79(2):119-22, 2000.
35. YANUSHPOLSKY, EH et al. Effects of endometriomas on oocyte quality, embryo quality, and pregnancy rates in in vitro fertilization cycles: a prospective, case-controlled study. *J Assist Reprod Genet*. 15(4):193-7, 1998.
36. ZABEENA, P et al. Surgery for tubal infertility. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue 5, Art. No. CD006415. DOI: 10.1002/14651858.CD006415.pub3. 2015.
37. WAYLEN, AL et al. Effects of cigarette smoking upon clinical outcomes of assisted reproduction: a meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 15:31–44, 2009.
38. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge: Cambridge University Press. 1999. 136 p. Disponível em: http://www.fivfrance.com/pro/pdf_who1999.pdf. Acessado em janeiro de 2015.

ANEXOS

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética

SANTA CASA DE
MISERICÓRDIA DE GOIÂNIA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PREVALENCIA DE PREENHIZ ECTÓPICA PÓS FERTILIZAÇÃO IN VITRO

Pesquisador: TARIK KASSEM SAIDAH

Área Temática: Área 2. Reprodução Humana.
(Haverá envolvimento de reprodução assistida.);

Versão: 2

CAAE: 09909912.0.0000.5081

Instituição Proponente: Santa Casa de Misericórdia de Goiânia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 325.299

Data da Relatoria: 25/06/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se do projeto de uma pesquisa observacional, descritiva, baseada na coleta de dados de prontuários na Santa Casa de Misericórdia de Goiânia de mulheres submetidas a fertilização in vitro. Desses dados serão admitidas como variáveis: idade, número de embriões transferidos, fatores de risco e enfermidades pregressas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Estabelecer a prevalência de prenhez ectópica relacionada a fertilização em vitro. Identificar e classificar o perfil das pacientes acometidas pela prenhez ectópica pos FIV.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não se prevê exposição de risco por trata-se de estudo retrospectivo baseado em análise de prontuários

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Em conformidade com os princípios de bioética.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador fez constar a documentação exigida.

Endereço: Rua Campinas N.º 1135

Bairro: Setor Americano do Brasil

CEP: 74.530-240

UF: GO

Município:

Telefone: (623)254.-4161

Fax: (623)251--7424

E-mail: cep@santacasago.org.br

Continuação do Parecer: 325.299

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O pesquisador apresentou as pendências apontadas anteriormente: ajuste do cronograma

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

Considerações Finais a critério do CEP:

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

04 de Julho de 2013

Assinador por:
Mauro Meira de Mesquita
(Coordenador)

Endereço: Rua Campinas N.º 1135
Bairro: Setor Americano do Brasil **CEP:** 74.530-240
UF: GO **Município:**
Telefone: (623)254.-4161 **Fax:** (623)251--7424 **E-mail:** cep@santacasago.org.br

Anexo 2 – Normas de publicação dos respectivos periódicos



AOS AUTORES

Informações gerais

Femina é uma publicação mensal da Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO) que tem como principal objetivo divulgar artigos de revisão sistemática, além de artigos relacionados a tópicos específicos de Ginecologia ou Obstetrícia.

Os autores podem colaborar com a Femina com os seguintes tipos de manuscritos:

- Cartas ao Editor, que devem ser sucintas e apresentar um ponto de vista a respeito de artigo publicado na revista – não se deve ter como propósito primeiro polemizar com o colega;
- Artigos de Revisões Sistemáticas ou Meta-análise; sugere-se a leitura dos editoriais das edições de maio, junho e agosto de 2008 da Femina;
- Recomendações das Comissões Nacionais Especializadas da FEBRASGO;
- Normas das Comissões Nacionais Especializadas, para divulgação de normas e condutas aprovadas pelas Comissões Nacionais Especializadas da FEBRASGO.

Submissão do manuscrito

A submissão dos artigos ocorre pelo sistema cego (sem identificação de autores e instituições). O manuscrito é, então, analisado por conselheiros da revista, que geram pareceres, os quais são examinados, também de maneira cega, pelo editor científico e pelos editores associados, que decidem sobre a conveniência da publicação. O Corpo Editorial seleciona, a cada edição, os artigos que serão publicados imediatamente.

O recebimento do artigo pela editoria da revista Femina não assegura sua publicação; os autores são devidamente comunicados acerca dos pareceres.

Preparação do original

O número máximo de autores para cada manuscrito é 7 e o número máximo de referências é 25 – exceto para artigos de revisão, que podem contar com até 50 referências.

O tamanho dos artigos deverá respeitar os limites da seção a que se destina:

- Artigo de Revisão Sistemática ou Meta-análise: 10 a 20 páginas – por volta de 10.000 a 35.000 caracteres;
- Cartas ao Editor: até 2 páginas – até 3.500 caracteres;
- Normas das Comissões Nacionais Especializadas: número de páginas/ caracteres a critério da diretoria da FEBRASGO;
- Resumo dos dois melhores trabalhos apresentados em congressos ou encontros anuais regionais de cada federada: as normas para composição do texto são enviadas para os presidentes das federadas.

O original deve ser digitado em papel A4 e com espaçamento de 2 cm entre linhas (inclusive nas tabelas) e margens de 3 cm. O processador de texto aceito é o Word for Windows, de qualquer versão. As afirmações feitas nos artigos são de responsabilidade integral dos autores. Pede-se atenção à correção do português e do inglês.

Caixas-altas (letras maiúsculas) e sublinhados devem ser evitados; se julgar conveniente, expressá-los em itálico. O itálico deve ser reservado também para termos estrangeiros.

Não usar pontos em sigla (INSS e não I.N.S.S.). Evitar siglas ou abreviaturas que não sejam oficiais ou clássicas e sempre explicá-las ao serem usadas pela vez primeira.

Para a apresentação do manuscrito, pede-se que:

- notas de rodapé não sejam utilizadas;

- na página de rosto, seja inserido um título em português e sua versão em inglês;
- ainda na página de rosto, constem nome completo e titulação do(s) autor(es), nome da instituição onde os autores atuam, endereço completo, telefone, fax e e-mail do autor correspondente – com exceção dos Artigos de Revisão que dispensam este item;
- na segunda página, seja apresentado o resumo do trabalho, com o mínimo de 100 e máximo de 200 palavras. O texto deve ser corrido (sem parágrafo) e sem títulos ou subtítulos das partes. O resumo deve ainda apresentar de três a cinco palavras-chave selecionadas entre os termos que constam no Descritores em Ciência da Saúde (DeCS), disponíveis no endereço eletrônico <http://decs.bvs.br>. Para as seções Carta ao Editor e Normas das Comissões Especializadas, não é necessário resumo e palavras-chave.
- na página seguinte, apresentar o *Abstract*, uma versão fiel do Resumo, e as *keywords*, correspondentes aos termos em português encontrados no DeCS;
- na quarta página e subsequentes, deve ter início o corpo do trabalho.

Em geral, trabalhos de revisão sistemática ou meta-análise devem dispor de:

- introdução, que deve ser breve e comunicar a relevância do tema. Deve conter ainda o objetivo do trabalho;
- metodologia, item que deve mencionar as palavras-chave empregadas nos sites de busca; o período em que a busca foi realizada; os sites de busca utilizados; o número de trabalhos encontrados; os critérios de seleção para inclusão/exclusão dos trabalhos encontrados;
- discussão ou comentário, que se destine a uma análise crítica dos trabalhos selecionados. Mencionar no texto o grau de evidência científica (A, B, C e D), seguida da referência. Por exemplo: "Evidências atuais demonstram que a prescrição profilática de progesterona é uma importante estratégia na prevenção do nascimento prematuro em grupos específicos de gestantes' (A). No entanto, alguns estudos não apresentaram resultados satisfatórios' (A).";
- conclusão ou recomendações finais, para trazer ao leitor a resposta ao objetivo do trabalho.

Ressalta-se a necessidade do uso da medicina baseada em evidência para categorização dos trabalhos citados na revisão, utilizando-se a classificação proposta pela Associação Médica Brasileira (AMB, <http://www.amb.org.br>):

Grau de recomendação e força de evidência

A: Estudos experimentais ou observacionais de melhor consistência (meta-análises ou ensaios clínicos randomizados)

B: Estudos experimentais ou observacionais de menos consistência (outros ensaios clínicos não-randomizados ou estudos observacionais ou estudos caso-controle)

C: Relatos ou séries de casos (estudos não-controlados)

D: Opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consensos, estudos fisiológicos ou modelos animais

Citações e referências

As citações e as referências deverão ser apresentadas de acordo com os requisitos do *International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* –

consultar links: <http://www.icmje.org>; http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html e <http://www.bu.ufsc.br/bsccsm/vancouver.html> (em português).

São aceitas até 25 referências – exceto para artigos de revisão, que podem apresentar até 50 referências, com ênfase para as mais recentes ou de maior relevância. Em trabalhos de revisão sistemática ou meta-análise, é indispensável, nas referências, a menção do seu nível de evidência científica. A Editoria Científica se reserva o direito, em casos especiais e selecionados, de permitir a inserção de mais de 25 referências.

Como o tema é de revisão sistemática ou meta-análise, não se justifica – e não é aceita – a inexistência de referências recentes – publicada nos três últimos anos.

Exemplos de referências

Artigos de revistas

- Até seis autores:
Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med*. 2002;347(4):284-7.
- Mais de 6 autores:
Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res*. 2002;935(1-2):40-6.

Livros

FEBRASGO. Tratado de Ginecologia. Rio de Janeiro: Revinter; 2000.
Eisen HN. Immunology: an introduction to molecular and cellular principles of the immune response. New York: Harper and Row; 1976.
Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.
Gilstrap LC 3rd, Cunningham FG, VanDorsten JP, editors. Operative obstetrics. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 2002.

Capítulos de livros

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. The genetic basis of human cancer. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

Teses e dissertações

Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002.

Trabalhos em eventos

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editors. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

Artigos de revistas na Internet

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.]. Available from: <<http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>>

Monografias na Internet

Foley KM, Gelband H, editors [Internet]. Improving palliative care for cancer. Washington: National Academy Press; 2001 [cited 2002 Jul 9]. Available from: <<http://www.nap.edu/books/0309074029/html/>>

Homepage/Website

Cancer-Pain.org [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul. 9]. Available from: <<http://www.cancer-pain.org>>
American Medical Association [Internet]. Chicago: The Association; c1995-2002 [updated 2001 Aug 23; cited 2002 Aug 12]. AMA Office of Group Practice Liaison; [about 2 screens]. Available from: <<http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>>

Elementos não-textuais

Gráficos, gravuras, fotografias, esquemas, desenhos, tabelas, quadros, fórmulas etc. constituem os elementos não-textuais. Eles servem à elucidação, explicação e simplificação do entendimento do texto, devendo ser autoexplicativos.

Os elementos devem ser mencionados no texto como Figura, Tabela, Gráfico ou Quadro, e numerados sequencialmente com algarismos arábicos, devendo possuir, além de identificação e número, título e fonte no rodapé. As tabelas deverão ser elaboradas em conformidade com a Norma de Apresentação Tabular do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), de 1993. Desenhos, gráficos, figuras ou outras ilustrações não-originais já publicados por outros autores devem ser submetidos à autorização para publicação na Femina.

Envio do original

Os manuscritos devem ser enviados exclusivamente por meio eletrônico, para o e-mail femina.febrasgo@gmail.com ou pelo endereço <http://www.febrasgo.org.br>, juntamente de carta de submissão (escaneada) assinada por todos os autores e com a declaração de que:

1. o manuscrito não foi submetido e/ou publicado por outra revista anteriormente;
2. a versão final foi lida e aprovada por todos os autores;
3. os direitos autorais serão repassados à FEBRASGO caso o artigo seja publicado.

O cadastro (login e senha) no endereço <http://www.febrasgo.org.br> permite o acompanhamento de todo o processo de avaliação e publicação do artigo.