



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

FACULDADE
DE
MEDICINA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

RAQUEL FILIPA GOMES SOARES

Transferência eletiva de um único embrião: o caminho a seguir?

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE GINECOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROF. DOUTORA ISABEL MARGARIDA FIGUEIREDO SILVESTRE

NOVEMBRO/2019

TRANSFERÊNCIA ELETIVA DE UM ÚNICO EMBRIÃO: O CAMINHO A SEGUIR?

Artigo de revisão

Trabalho final do 6^a ano do Mestrado Integrado em Medicina, com vista à atribuição
do grau de Mestre em Medicina

Aluna

Raquel Filipa Gomes Soares

Aluna do 6^o ano do Mestrado Integrado em Medicina

Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

raquelfisoares@gmail.com

Orientadora

Prof. Doutora Isabel Margarida Figueiredo Silvestre

Professora Auxiliar Convidada, Regente da Unidade Curricular de Ética, Deontologia e
Exercício Profissional, Vice-Presidente da Comissão de Ética, Faculdade de Medicina,
Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal – Azinhaga de Santa Comba, 3000-354,
Coimbra

msilvestre@fmed.uc.pt

ÍNDICE

RESUMO.....	3
ABSTRACT	4
LISTA DE ABREVIATURAS.....	5
INTRODUÇÃO	6
MATERIAIS E MÉTODOS	7
RESULTADOS	9
1. A implementação da eSET e a sua evolução.....	9
2. Transferir um ou mais embriões?.....	11
2.1 Os resultados da eSET vs. transferência de dois embriões.....	11
2.2 O debate em torno da eSET	13
3. O impacto na saúde materna, neonatal e infantil	14
4. O risco da gravidez múltipla com eSET	17
5. A educação e perspectivas do casal infértil	18
6. Considerações financeiras	21
7. A tendência da criopreservação embrionária	23
8. O momento ideal de transferir o embrião	25
9. A seleção do melhor embrião.....	28
9.1 Avaliação Morfológica.....	28
9.2 Avaliação Morfocinética.....	29
9.3 Testes genéticos pré-implantação	31
DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	35
AGRADECIMENTOS	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

RESUMO

No mundo atual, a transferência eletiva de um embrião (eSET) tem ganhado um crescente destaque e assumido um papel cada vez mais importante na redução da taxa de gravidez múltipla, procurando assim combater as complicações mais preocupantes das técnicas de Procriação Medicamente Assistida (PMA): as sequelas da prematuridade. Com a adoção da eSET, tem-se assistido a uma maior confiança na criopreservação e, em paralelo, tornou-se prioritário um aperfeiçoamento contínuo dos métodos de seleção embrionária, tendo em vista a seleção do embrião mais competente para transferência.

Este artigo de revisão tem como finalidade investigar e reunir as principais evidências sobre a eSET, tendo em consideração os fatores que orientam a adoção desta abordagem, as estratégias propostas para aumentar a sua implementação e os resultados maternos, neonatais e infantis subsequentes.

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados *PubMed*, foram recolhidos artigos que cumprissem os objetivos propostos e procedeu-se à sua revisão e organização por subtemas considerados adequados.

A implementação da eSET pretende cumprir o principal objetivo da medicina reprodutiva que é a garantia de conseguir gerar um recém-nascido de termo, único e saudável. As evidências atuais suportam que a eSET alcançou progressos notáveis que a podem tornar o padrão de atendimento dos casais que recorrem às técnicas de PMA. No entanto, o recurso a esta abordagem deve ser programado com cautela, visto que o seu sucesso depende de vários fatores, nomeadamente questões de eficácia e de segurança, o contexto em que a eSET é implementada e a seleção adequada da paciente, considerando o seu perfil clínico, o respetivo prognóstico e as suas condições emocionais, físicas e financeiras. Estes são alguns dos tópicos nucleares que devem permanecer nas novas e futuras investigações. Por outro lado, são de destacar os avanços de inúmeros estudos no âmbito da criopreservação e dos métodos de seleção embrionária, com tecnologias recentes a ganhar cada vez mais relevo, como é o caso da monitorização por *time-lapse* e dos testes genéticos pré-implantação.

De uma forma geral, e considerando o atual debate em torno da eSET, são ainda necessários mais estudos que comprovem os achados encontrados e que introduzam novas informações e recomendações no sentido de maximizar o sucesso desta abordagem.

Palavras-chave: Técnicas de procriação medicamente assistida, fertilização *in vitro*, transferência de um embrião, gravidez múltipla, seleção embrionária.

ABSTRACT

Nowadays, elective single embryo transfer (eSET) is gaining relevance and taking on an increasingly important role in reducing the rate of multiple pregnancies, thus searching to eliminate the most worrying complications of assisted reproductive technologies: the sequels of prematurity. With the adoption of eSET, we witness an increasing confidence in cryopreservation and, in parallel, a continuous improvement of embryo selection methods has become a priority, in order to select the most competent embryo for transfer.

The purpose of this review is to investigate and summarize the most recent evidence about eSET, taking into account the factors driving the adoption of this policy, the proposed strategies for increasing its implementation and subsequent maternal neonatal and child outcomes.

A bibliographic search was performed in the PubMed database, articles that met the proposed criteria were collected and the main topics were reviewed and organized as considered appropriate.

The purpose of using eSET is to reach the main goal of reproductive medicine, which is the ideal pregnancy outcome: a healthy single newborn. Current evidence supports that the adoption of this approach has achieved remarkable progress that can make it a potential standard of care for couples using assisted reproductive technologies. However, the use of this approach needs to be carefully programmed, as its success depends on several factors, such as effectiveness and safety issues, the context in which eSET is implemented, and the appropriate patient selection considering her clinical profile, her prognosis and her emotional, physical and financial conditions. These are some of the core topics that should remain in the new and future researches. On the other hand, it is worth to highlight the advances of many investigations that have studied cryopreservation and embryo selection methods, with recent technologies becoming increasingly important, such as time-lapse monitoring and preimplantation genetic screening.

In general, and considering the current debate around eSET, more studies are still needed to corroborate the actual findings and to introduce new information and recommendations to maximize the success of this approach.

Keywords: Assisted reproductive technology, in vitro fertilization, single embryo transfer, multiple pregnancy, embryo selection.

LISTA DE ABREVIATURAS

DET – Transferência de dois embriões

DBT – DET no estadio de blastocisto

FET – Transferência de embrião criopreservado

eSET – Transferência eletiva de um embrião

eSBT – eSET no estadio de blastocisto

ESHRE - Sociedade Europeia da Reprodução Humana e Embriologia

FIV – Fertilização *in vitro*

ICSI – Injeção intracitoplasmática de espermatozóides

PMA – Procriação Medicamente Assistida

PGT – Testes genéticos pré-implantação

PGT-A – Teste genético pré-implantação para rastreio de aneuploidias

PGT-M – Teste genético pré-implantação para pesquisa de doenças monogénicas

PGT-SR – Teste genético pré-implantação para pesquisa de anomalias cromossómicas estruturais

RN – Recém-nascido

TLM – Monitorização por *Time-lapse*

INTRODUÇÃO

Ao longo do tempo, a Procriação Medicamente Assistida (PMA) tem evoluído significativamente, proporcionando aos casais diversas técnicas com o objetivo de maximizar a probabilidade de gravidez viável (1).

A transferência múltipla de embriões tem sido um procedimento comum nos vários centros de Medicina da Reprodução, que provou ter eficácia, garantindo uma favorável taxa de nascimentos (2-5). Contudo, está comprovado que um dos seus principais riscos é a gravidez múltipla, condição que gera preocupação por implicar inúmeros riscos maternos e neonatais (4-7), com particular destaque para a prematuridade e as suas consequências (7).

Com o objetivo de reduzir o número de gestações múltiplas sem comprometer a taxa de gravidez e, dessa forma, otimizar a segurança do processo, foi desenvolvida uma estratégia de transferência eletiva de um embrião (eSET). Esta opção de transferência, proposta pela primeira vez no ano de 1999 por investigadores finlandeses (8) e ainda em investigação e fases iniciais de aplicação, resulta da seleção de um único embrião de ótima qualidade para transferência, com vista à obtenção de uma gravidez única a termo e viável, possibilitando a criopreservação de embriões supranumerários que possam ser usados em transferências subsequentes (1, 2, 4-6, 9).

Para incentivar a adoção da eSET tornou-se imperativo enfatizar os critérios de avaliação de embriões (10, 11). Nos últimos anos têm sido descritos vários avanços técnicos na seleção embrionária, de forma que o embrião a ser transferido seja o mais competente e com maior potencial de implantação (1, 10-12). Por outro lado, é imprescindível conhecer quer o perfil prognóstico do casal infértil, quer as suas atitudes, percepções e preocupações no momento em que se comunicam as informações e conselhos sobre a abordagem que preferem adotar (13). O aconselhamento personalizado e a orientação educacional, associados ao financiamento público dos tratamentos são algumas das estratégias descritas que influenciam a aceitabilidade desta abordagem (9).

Considerando o crescente reconhecimento e interesse pela eSET e o debate gerado sobre a decisão a tomar para obter o maior sucesso (1), com esta revisão pretende-se analisar a literatura atual sobre as evidências que orientam a adoção da eSET, tendo em consideração os diversos fatores condicionantes do processo, as estratégias propostas para aumentar a sua implementação e os resultados maternos, neonatais e infantis subsequentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a elaboração da presente revisão bibliográfica, foi realizada uma pesquisa e seleção de artigos na base de dados *PubMed* que decorreu entre janeiro de 2019 e outubro de 2019.

O objetivo da revisão foi recolher bibliografia relativa à prática de transferir eletivamente um embrião, uma recente técnica de Procriação Medicamente Assistida.

Como abordagem inicial, foi utilizada a equação de pesquisa “(elective single embryo transfer) OR (“single embryo transfer”[Mesh] AND elective)”, sendo incluídos os artigos redigidos na língua portuguesa ou inglesa, publicados entre o ano de 2015 e outubro de 2019. Obteve-se um total de 126 artigos que incluíam artigos de revisão, revisões sistemáticas, meta-análises e artigos científicos. De seguida, os artigos foram selecionados de acordo com a pertinência do título e *abstract*, pelo que excluí 23 artigos que não se enquadravam claramente no âmbito desta revisão. Posteriormente, foi feita uma leitura integral dos artigos e feita uma seleção tendo em conta a sua relevância científica e atualização, permanecendo 58 artigos incluídos. Foram ainda realizadas pesquisas adicionais dirigidas aos subtemas abordados. Nesse sentido, cruzei o termo MeSH “single embryo transfer” com os termos “double embryo transfer”, “multiple pregnancy”, “neonatal outcomes”, “pregnancy outcomes”, “patient attitudes”, “embryo selection”, “cryopreservation” e “preimplantation diagnosis” de forma a introduzir outros artigos importantes que pudessem não estar incluídos na pesquisa inicial. Alguns artigos incluídos, em particular, artigos de revisão, serviram como fonte de novas referências pelas citações que apresentaram, incluindo artigos prévios ao período definido, devido à sua relevância no tema. Foram assim adicionados 19 novos artigos, perfazendo um total de 77 artigos que constituíram a base da redação desta revisão.

Apresenta-se, de seguida, as diferentes fases da revisão da literatura (Figura 1).

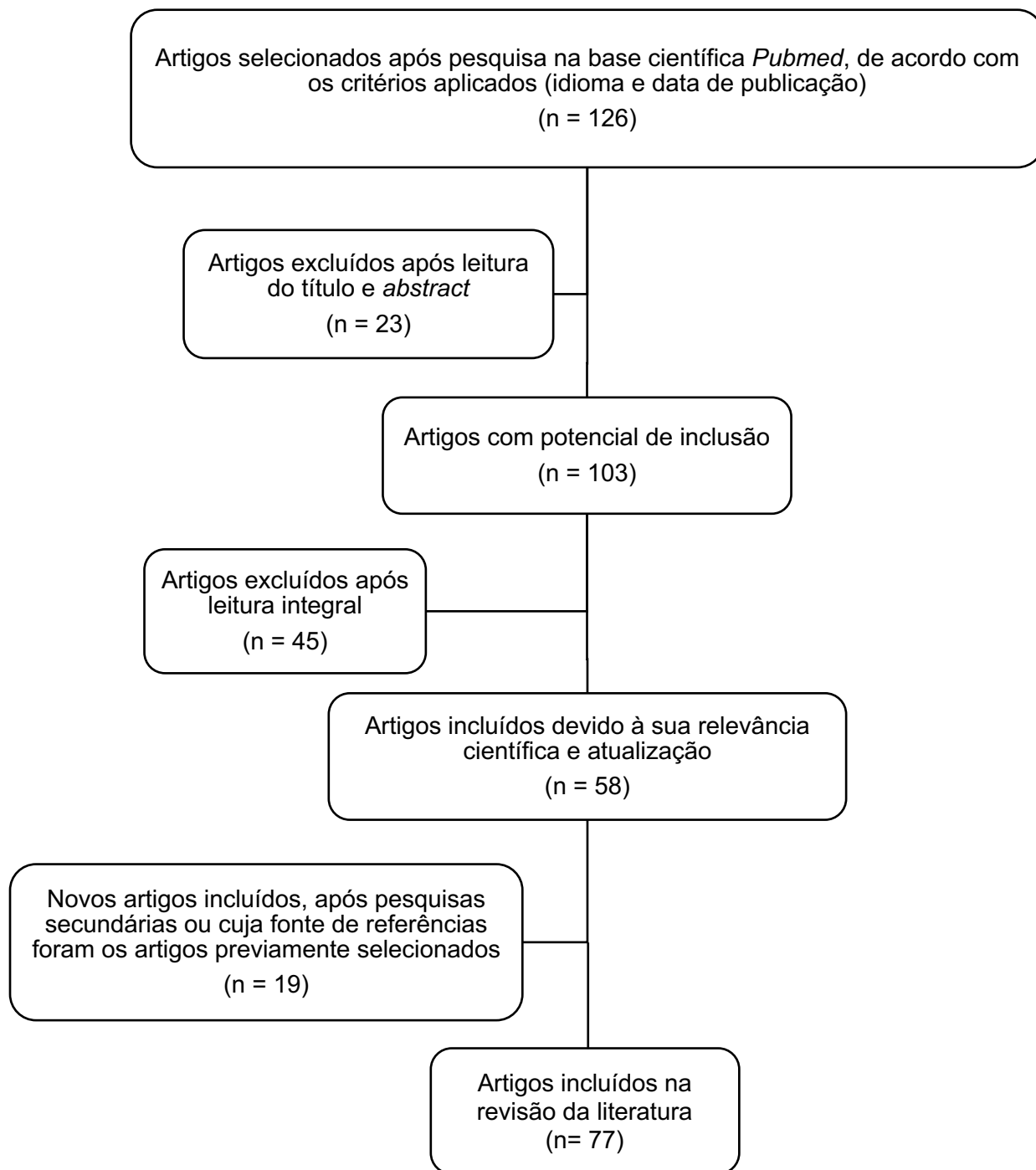


Figura 1. Fluxograma com as diferentes fases da revisão da literatura.

Para complementar a informação recolhida e conhecer melhor a realidade portuguesa, foi também consultado o *website* do Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida, no qual se acedeu a recomendações recentes sobre o tema em análise.

A gestão das referências bibliográficas do trabalho foi realizada através do gestor online *EndNote Web*, com o sistema de citação de *Vancouver*.

RESULTADOS

1. A IMPLEMENTAÇÃO DA eSET E A SUA EVOLUÇÃO

As técnicas de PMA tornaram-se uma prática comum a nível mundial, possibilitando o nascimento de mais de 7 milhões de crianças (14). Nos últimos anos, verificou-se um crescimento potencial no investimento e interesse por estas técnicas e mais concretamente da Fertilização *in vitro* (FIV), alcançando-se taxas históricas de sucesso de nascimento de nados vivos e restaurando assim a esperança de milhões de casais inférteis (1, 15).

Todavia, o sucesso alcançado decorreu da prática de transferir múltiplos embriões, o que conduziu a uma “epidemia” de gestações múltiplas iatrogénicas, com efeitos adversos a nível materno e neonatal bem descritos e amplamente reconhecidos (1, 2, 14, 16, 17). Como resultado, esta abordagem teve que ser reavaliada, emergindo um debate, que se manteve nas últimas três décadas, sobre o número ideal de embriões a serem transferidos (1, 5, 18).

De forma a cumprir o principal objetivo da medicina reprodutiva, que é alcançar uma gravidez a termo e única de um recém-nascido (RN) saudável (1, 14, 19-21), surgiu a transferência eletiva de um embrião (eSET), uma prática crescente e ainda um desafio em todo o mundo capaz de reduzir o risco das gestações múltiplas e os consequentes efeitos na saúde materna, neonatal e infantil (1, 6, 15, 16).

A implementação da eSET a nível universal tem sido um processo relativamente lento devido a preocupações em manter uma taxa de gravidez semelhante à transferência de múltiplos embriões (5, 12, 14, 19, 22) e ocorreu de formas diversas nos diferentes países, dependendo de fatores como a cultura, a possibilidade de financiamento e a existência ou não de legislação, normas e orientações médicas sobre o número de embriões a ser transferidos (16). De acordo com o 18º relatório da Sociedade Europeia da Reprodução Humana e Embriologia (ESHRE), que inclui registos de 39 países, tem-se verificado uma tendência em aumentar o número de transferências de um embrião em paralelo com um declínio de nascimentos múltiplos (23).

Uma análise de 2016 apoia o aumento da utilização da eSET no estadio de blastocisto como uma solução para o problema médico e financeiro das gestações múltiplas. Contudo, aponta que são necessárias taxas bastante mais elevadas de eSET para ultrapassar efetivamente este problema, dado que há registo de clínicas que realizam a eSET em 40% a 49% dos ciclos que ainda apresentam taxas de nascimentos múltiplos superiores a 15% (12).

Desde 1998 que a Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva e a Sociedade de Tecnologia de Reprodução Assistida têm publicado em conjunto recomendações relativamente ao número máximo de embriões a serem transferidos e, periodicamente, as

orientações emitidas são revistas. A última revisão (24), datada de 2017, considerou os dados disponíveis até 2014 e focou-se na promoção da transferência de um único embrião e na diminuição de gestações múltiplas. Apesar do número de embriões transferidos dever ser acordado entre o médico e o casal, as recomendações para eSET foram alargadas para pacientes de qualquer idade que tenham disponível um embrião euploide, selecionado pelo rastreio de aneuploidias pré-implantação e para pacientes de idade inferior a 38 anos que apresentem características associadas a um prognóstico favorável: 1) disponibilidade de um ou mais embriões de alta qualidade para criopreservação, 2) histórico de nascimento de nado vivo após um procedimento de FIV, 3) disponibilidade de embriões euploides (24). Quando não for possível adotar a eSET em pacientes entre os 38 e 40 anos de idade, não devem ser transferidos mais de três embriões no estadio de clivagem ou mais de dois no estadio de blastocisto. Pacientes de 41 e 42 anos de idade devem receber no máximo quatro embriões no estadio de clivagem ou até três no estadio de blastocisto (24).

A aplicação de uma política geral de eSET em todos os ciclos de FIV é inadequada, pois isso iria prejudicar algumas pacientes, conduzindo a uma provável redução significativa do número de nados vivos (6). Neste sentido, é crucial uma seleção cuidada e individual das pacientes, considerando como critérios a idade da mulher, o resultado de eventuais tratamentos prévios e a qualidade do embrião (5, 6). A idade feminina assume um grande peso nesta seleção pois com o seu avanço as taxas de implantação embrionária diminuem e é necessário um número cada vez maior de embriões disponíveis no dia 3 para alcançar boas taxas de gravidez (25). No entanto, existem relativamente poucos dados que indiquem qual o limite superior de idade mais adequado e quais os fatores prognósticos que determinem inequivocamente quais as melhores candidatas para eSET (1).

Em Portugal está definido que o número de embriões a transferir deve ser um ou dois. O número máximo de três embriões a transferir apenas deve ser considerado em situações de carácter excecional que, pela sua própria natureza, terão necessariamente que corresponder a uma proporção diminuta da totalidade das transferências (26).

Um dos principais agentes que contribuiu para o progresso da eSET foi a melhoria dos resultados com as técnicas de criopreservação embrionária, que permitiu que embriões supranumerários se tornassem disponíveis em transferências subseqüentes se a primeira não tivesse êxito (11, 27). Por outro lado, a adoção cada vez mais ampla da eSET tem exigido várias investigações, no sentido de descobrir métodos mais consistentes de selecionar o melhor embrião, bem como fatores preditivos que encaminhem para uma maior taxa de nascimento de nados vivos (14).

2. TRANSFERIR UM OU MAIS EMBRIÕES?

2.1 Os resultados da eSET vs. transferência de dois embriões

Ao longo dos últimos anos, várias investigações têm sido conduzidas com o objetivo de compreender melhor a política de transferir eletivamente um embrião, estabelecendo frequentemente a comparação com a prática tradicional de transferir dois ou mais embriões.

Um estudo retrospectivo publicado em 2016 incluindo pacientes coreanos não encontrou nenhuma diferença significativa nas taxas de gravidez clínica e de nascimento de nados vivos entre a eSET no estadio de blastocisto (eSBT) e a transferência de dois embriões (DET) no estadio de blastocisto, enquanto que a taxa de gravidez múltipla foi significativamente menor no grupo submetido a eSBT em comparação com o grupo submetido a DET no estadio de blastocisto (DBT) (28). Outros dois estudos suportaram estes resultados (20, 29). O mais recente, publicado em 2018 por investigadores indianos, demonstrou que a realização de duas eSET sequenciais no estadio de blastocisto (eSET num ciclo a fresco, seguida de uma transferência de blastocisto criopreservado, em caso de insucesso da primeira transferência) conduziu a uma maior taxa cumulativa de nascimento de nados vivos embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa e uma menor taxa de nascimentos múltiplos. Para além dos melhores resultados obstétricos, em termos perinatais, obteve-se uma menor incidência de prematuridade e de baixo peso ao nascer e, conseqüentemente, menores custos adicionais de saúde (20). Numa clínica de FIV que recorre à doação de oócitos também se compararam os resultados entre as duas estratégias e verificou-se que a eSBT obteve uma taxa de gravidez múltipla 35 vezes inferior à DBT com uma redução de 7,4% da taxa de nascimento de nados vivos, enquanto que no estadio de clivagem foram obtidas taxas de nascimento de nados vivos semelhantes (19).

Um estudo publicado em 2016 analisou os dados de várias clínicas dos EUA e constatou que as taxas de nascimento de nados vivos resultantes da eSET ou da DET são influenciadas pela idade da paciente, pelo estadio dos embriões transferidos e pelo número total de embriões disponíveis no ciclo. O estudo sustentou existir maior vantagem em recorrer à DET quando estão disponíveis um maior número de embriões por ciclo e que as clínicas que realizaram eSET em maior proporção, recorreram com maior frequência à transferência no estadio de blastocisto e obtiveram uma maior taxa de implantação, conseguindo manter a taxa de nascimento de nados vivos ajustada à clínica respetiva (12).

Outro estudo realizado nos EUA recolheu dados de diferentes clínicas de fertilidade entre os anos de 2000 e 2012, estratificou as pacientes de acordo com o seu prognóstico, dado o tamanho da amostra ser considerável, e objetivou determinar quais os fatores preditivos da implantação embrionária a considerar na adoção da técnica de eSET. Os autores deste

estudo apoiaram uma implementação mais ampla desta técnica em mulheres com prognóstico favorável ou médio que sejam jovens (idade inferior a 35 anos) ou que tenham blastocistos disponíveis para transferência e acrescentaram que um número de oócitos recolhidos superior a 10 era um fator preditivo útil a considerar no aconselhamento de mulheres com prognóstico médio (30).

Passando à análise da eSET por grupo etário, um estudo retrospectivo publicado em 2015 procurou avaliar a eficácia geral desta abordagem de acordo com o valor obtido de taxa cumulativa de nascimento de nados vivos. Para mulheres com idade inferior a 37 anos, a eSET no estadio de clivagem alcançou uma taxa maior do que a transferência de múltiplos embriões, enquanto que a partir dos 37 anos a taxa obtida foi semelhante entre as duas abordagens. Nos dois grupos etários foi registada uma redução da taxa de nascimentos múltiplos após eSET (31).

Mancuso et al. (12) recolheram dados de clínicas de fertilidade dos EUA que incluíram 914 mulheres com menos de 38 anos de idade e mostraram uma redução acentuada e linear na taxa de nascimentos múltiplos e pouco ou nenhum efeito na taxa de nascimento de nados vivos após a adoção da eSET. Em 2018, outro grupo de investigadores confirmou que esta faixa etária beneficiava com a realização de duas eSET sequenciais em vez de uma DET, dada a manutenção da taxa cumulativa de gravidez clínica e apoiou a promoção da eSET em casais com bom prognóstico (16).

Dois estudos publicados em 2017, realizados em mulheres com idades compreendidas entre os 40 e os 43 anos, reconheceram que a decisão sobre o número de blastocistos a transferir deve ser tomada de acordo com o número e a qualidade dos blastocistos disponíveis (32, 33). Curiosamente, um dos estudos, que incluiu 411 mulheres, mostrou que para esta faixa etária, quando a cultura embrionária é prolongada até ao estadio de blastocisto, a idade materna e o número de oócitos recolhidos não eram considerados fatores preditivos da taxa de nascimento de nados vivos. A par disso, após serem comparados os resultados da eSBT com os resultados da DBT obtiveram-se taxas cumulativas de nascimento de nados vivos semelhantes e uma redução significativa da taxa de nascimentos múltiplos com a eSBT (32). O outro estudo incluiu 310 mulheres e apontou que na presença de blastocistos supranumerários disponíveis para criopreservação, a DBT e eSBT alcançaram taxas de nascimento de nados vivos semelhantes (33). Estes resultados foram consistentes com outros estudos que atestaram os benefícios da concretização da eSET (31, 34).

Alasmari et al. (34) constataram ainda que, na faixa etária mais avançada, são principalmente as mulheres de 40 e 41 anos a manter um risco elevado de gravidez múltipla e apoiaram a adoção de eSET nestes casos. A partir dos 42 anos não foi obtido nenhum nascimento múltiplo, embora em 13% das gestações de mulheres com 42 anos se tenham detetado dois

batimentos cardíacos fetais, todos eles espontaneamente reduzidos a gestações únicas. Com base nesta premissa, os autores sugeriram que a partir dos 43 anos se possa transferir mais do que um embrião com maior segurança (34).

Nos últimos anos, a investigação tem demonstrado que embora a idade reprodutiva avançada seja um fator de risco relevante para resultados obstétricos e neonatais adversos, um subconjunto das mulheres que pertencem a esta faixa etária e são submetidas a tratamentos de infertilidade pode ter um bom prognóstico e beneficiar da prática de eSET, principalmente quando a extensão da cultura embrionária gera blastocistos de boa qualidade (32, 33).

A decisão sobre o número de embriões a transferir deve ser ponderada caso a caso depois de um aconselhamento adequado e individualizado, tendo em consideração os antecedentes da paciente e após esclarecimento das taxas de gravidez alcançadas com as tecnologias atuais (34). Muitos casais optam por DET sendo bons candidatos a eSET, pelo que a estratificação destes por grupos de prognóstico também deve ser um dado obrigatório a comunicar durante o aconselhamento (30).

2.2 O debate em torno da eSET

A solicitação dos casais para a transferência de dois ou mais embriões pode representar o maior desafio na adoção da eSET como abordagem padrão (9, 15) e gerar alguma discussão, na medida em que a aceitação do desejo do casal pode expor a mãe e o RN a um conjunto de possíveis complicações que poderiam ser evitadas com a transferência de um único embrião (15, 18). Por outro lado, é difícil prever a verdadeira eficácia clínica da eSET pelo que, no processo de tomada de decisão, se deve priorizar quer questões de segurança, quer questões de eficácia (18).

Em 2016, *Gleicher et al.* (35) publicaram uma revisão da literatura onde apresentaram vários argumentos importantes para o debate eSET vs. DET. Posteriormente, em 2017, uma outra revisão resumiu um debate oral ocorrido na Conferência Anual de 2016 da Fundação de Medicina Reprodutiva em Biologia Reprodutiva Translacional e Endocrinologia Reprodutiva Clínica, em Nova Iorque, onde foram apresentados argumentos a favor e argumentos contra o alargamento da aplicação da eSET (8). Tendo como base os argumentos já apresentados na revisão de 2016 (35), *Adashi et al.* (8) reconheceram que a opção mais adequada é a adoção de uma política flexível de eSET, uma vez que a decisão final deve ser acordada entre o médico e os pacientes.

Os autores das duas revisões concordam que a adoção da eSET não deve ser uma decisão paternalista e antiética relativamente aos pacientes elegíveis para DET e que o respeito pela autonomia do casal, a infertilidade prolongada e o avanço da idade materna e/ou declínio da

reserva ovárica são fatores legítimos que podem exigir a eleição da DET (8, 35). Quando esta abordagem é considerada a estratégia mais apropriada ou desejada pelo casal, inevitavelmente deve-se ponderar a aceitabilidade das gestações múltiplas e o casal deve estar preparado para assumir os riscos maternos, neonatais e infantis associados. (8) No entanto, em situações em que a eficácia, à partida, é menor, poder-se-á ponderar promover uma maior segurança, pois a probabilidade global de gravidez é mais reduzida. Por outro lado, perante o argumento apresentado por *Gleicher et al.* (35) de que duas eSET sucessivas podem condicionar maiores custos financeiros, a revisão de 2017 apontou que são necessários mais estudos para que se possam tirar conclusões (8).

Uma das questões que gerou mais discussão foi a veracidade do aumento dos riscos perinatais da gravidez múltipla na sequência de uma DET, uma vez que, se isto se provasse ser falso, a eSET não apresentaria benefícios compensatórios e as indicações restantes a favor desta abordagem seriam a contra-indicação médica da gravidez múltipla ou se esse não fosse o desejo do casal interveniente. Para fundamentar esta ideia, *Gleicher et al.* (35) contestaram a maioria dos estudos que compararam os riscos de uma gravidez gemelar com uma gravidez única, defendendo que a análise estatística considerada mais correta é a comparação dos riscos de uma gravidez gemelar com duas gestações consecutivas únicas, dado que ambas levam ao nascimento de dois filhos.

Por outro lado, o conceito de seleção de embriões para eSET está intimamente relacionado com a manutenção em cultura até ao estadio de blastocisto e transferência de embrião criopreservado (FET) subsequente. Contudo, dados apresentados no debate levantam questões sérias sobre a rápida expansão da prática de manter o embrião em cultura até ao estadio de blastocisto, apontando um aumento significativo dos riscos perinatais para as gestações únicas. Este aparente paradoxo fornece suporte adicional ao argumento de que os riscos da gravidez gemelar podem ser superestimados em comparação com os riscos de gravidez única (35).

Perante as várias questões introduzidas, os autores apresentam dúvidas significativas sobre a validade médica e económica da eSET e advogam que é essencial uma melhor compreensão das vantagens e desvantagens desta abordagem, dada a sua futura preponderância nos resultados da FIV, a nível mundial (35).

3. O IMPACTO NA SAÚDE MATERNA, NEONATAL E INFANTIL

As gestações concebidas após FIV apresentam um risco aumentado de complicações maternas, neonatais e infantis importantes, sendo grande parte desse risco atribuível às gestações múltiplas (4, 7). Consequentemente, esta situação requer uma maior monitorização

e contacto com profissionais de saúde conduzindo a um potencial aumento do encargo financeiro para o próprio sistema de saúde (7).

Algumas das complicações maternas significativas incluem diabetes gestacional, pré-eclâmpsia, placenta prévia, descolamento da placenta, necessidade de cesariana e aumento da probabilidade de hemorragia pré e pós-parto (7, 17). Em relação ao RN, este corre um maior risco de restrição de crescimento, baixo peso ao nascer e parto prematuro (4, 7, 17), este último, a consequência perinatal relatada com maior frequência. A prematuridade está ainda associada a um maior risco de complicações graves que incluem hemorragia intraventricular, retinopatia, síndrome de dificuldade respiratória, enterocolite necrotizante, sépsis e icterícia (7, 17). Tais complicações aumentam o risco de internamento nos cuidados intensivos neonatais (17). A par disso, os nascimentos múltiplos condicionam um maior risco de mortalidade perinatal e um risco aumentado de complicações a longo prazo, como defeitos cardíacos congénitos, paralisia cerebral, atrasos no desenvolvimento e dificuldades de aprendizagem (7, 17).

Um estudo publicado em 2016 comparou os resultados reprodutivos e perinatais de duas gestações únicas consecutivas com uma única gravidez gemelar e confirmou que, apesar da gravidez gemelar apresentar uma maior probabilidade de nascimento de nados vivos, este benefício reprodutivo é contrabalançado com um maior risco de complicações. Os gémeos apresentaram maior morbidade, traduzida em idade gestacional média de cerca de 35 semanas, aumento da incidência de baixo peso ao nascer de cerca de 70% e aumento da incidência de cesariana de cerca de 60%. Contudo, esta maior morbidade não se traduziu em aumento da mortalidade fetal intrauterina, mortalidade neonatal e perinatal ou num maior número de internamentos nos cuidados intensivos neonatais, o que, segundo os autores, sugere que a gravidez múltipla não deva ser etiquetada de evento "catastrófico" (18). *Klenov et. al.* (19) analisaram os dados disponíveis de clínicas de fertilidade dos EUA relativos aos anos de 2013 e 2014 no âmbito da doação de oócitos e também constataram que com a adoção da eSET e consequente redução das gestações múltiplas, os parâmetros peso ao nascer e idade gestacional registaram melhores resultados: em média, o nascimento destes bebés ocorreu uma semana e meia mais tarde, o seu peso médio foi cerca de 600 g superior e a taxa de nascimentos prematuros foi significativamente menor (redução de 48,1% para 14,7%). Está também publicado um outro estudo que comprovou que o risco de efeitos adversos das gestações únicas concebidas após eSET ou após DET é proporcional ao número de embriões transferidos e que a magnitude dos riscos perinatais após a DET é superior quando esta resulta em nascimento múltiplo (36).

Embora os estudos citados tenham demonstrado uma associação entre a gemelaridade e o risco de prematuridade, um estudo americano de 2015 refutou esta conclusão (2). Este

estudo, que avaliou 3125 eSET, demonstrou que o risco elevado de parto prematuro pode persistir ou ser maior com a eSET, sugerindo que algum aspecto relacionado com o tratamento de FIV ou com a infertilidade das próprias pacientes possa ser responsável pelo risco diferencial. Os autores deste estudo destacam a importância crítica destas observações e concluem que é necessário um acompanhamento contínuo das técnicas de PMA, sugerindo ainda a realização de novos estudos que permitam compreender melhor o mecanismo da prematuridade (2). Curiosamente, de acordo com o último relatório anual da ESHRE, enquanto a proporção de parto prematuro entre gémeos e trigémeos permaneceu igual a anos anteriores, a proporção de partos prematuros após eSET aumentou de 0,96% em 2006 para 1,79% em 2014 (23).

Alguns estudos procuraram avaliar e comparar os resultados perinatais entre as gestações concebidas naturalmente e as gestações concebidas com recurso às técnicas de PMA (4, 36, 37). Em 2017, *Martin et al.* (36) avaliaram os resultados perinatais entre 2000 e 2010, de forma a adquirir um tamanho amostral adequado. Após a análise dos resultados, provaram não existir um risco acrescido de resultados perinatais adversos após a eSET comparativamente com os resultados obtidos nas gestações sem recurso à PMA. A par disso, os RN que nasceram após a eSET foram menos propensos a ter um índice de Apgar aos 5 minutos inferior a 7 do que os RN concebidos de forma natural. Contudo, uma investigação publicada em 2019 constatou que as gestações concebidas após a eSET, comparativamente com as concepções espontâneas, registaram riscos acrescidos de diabetes gestacional, hipertensão induzida pela gravidez, colestase intra-hepática da gravidez, pré-eclâmpsia, hemorragia pós-parto, parto prematuro e baixo peso ao nascer (37). Estes resultados corroboram os resultados apresentados numa revisão sistemática e meta-análise publicada em 2012 que estabeleceu a mesma comparação (4).

Apesar de a evidência científica atual ser ainda pouco robusta, os autores das duas investigações mais recentes (36, 37) também consideram que as mulheres que recorrem às técnicas de PMA podem ter, por si só, fatores associados à infertilidade que podem contribuir para um risco aumentado de resultados obstétricos e perinatais adversos. Contudo, como a gestação múltipla explica parcialmente esses riscos, a eSET é uma estratégia que deve continuar a ser promovida (37).

A redução fetal seletiva foi descrita como uma solução potencial para as gestações múltiplas, principalmente as de ordem superior, sendo associada a uma maior probabilidade de alcançar pelo menos um nascimento com redução dos riscos maternos e perinatais. No entanto, como ainda existe alguma controvérsia sobre o tema, as evidências sobre a eficácia desta abordagem são limitadas e os resultados a longo prazo são desconhecidos, os casais devem ser aconselhados individualmente (7).

Por fim, no sentido de estudar e comparar a relação de custo-efetividade entre as diferentes estratégias de transferência embrionária, um estudo publicado em 2015, registou que a eSET seguida de FET não é superior à DET e concluiu que a falta de superioridade dos resultados corrobora que a escolha da estratégia a adotar deve ser determinada pelo contexto do sistema de saúde, pelo prognóstico individual e pelas preferências dos casais (38). Em 2016, *J. van Heesch et. al.* (39) realizaram uma avaliação económica das diferentes estratégias a médio e longo prazo, sendo considerado o horizonte temporal de 1, 5 e 18 anos pós-parto. Para isso, desenvolveram um modelo de Markov que permitiu comparar a realização de eSET a todas as pacientes, a realização de DET a todas as pacientes e a política de tratamento padrão (realização de eSET em pacientes com menos de 38 anos se tiverem disponível pelo menos um embrião de boa qualidade e DET nas restantes). Determinou-se um máximo de 3 a 5 tentativas consecutivas de transferência embrionária e, pela primeira vez, foram incorporadas no modelo os custos e consequências na vida futura dos RN (entendidas como QALYs - *quality-adjusted life years*). Verificou-se que para um horizonte temporal de um ano, a estratégia preferida foi a realização de 3 ciclos de eSET (probabilidade de custo-benefício de 99,9%) enquanto que para 5 ou 18 anos, a estratégia considerada mais rentável foi a realização de 3 ciclos de DET (probabilidade de custo-benefício de 77,3 e 93,2%, respetivamente). Todavia, adotando uma abordagem equilibrada, a perspetiva de planeamento familiar deveria ser preferível com realização de ciclos adicionais para os casais que desejam ter outro filho. Embora a DET seja a abordagem mais eficaz a longo prazo, está associada a um maior número de nascimentos múltiplos, o que leva os autores a questionarem se é eticamente correto gerar “propositadamente” crianças com uma potencial menor qualidade de vida relacionada com a saúde, mesmo que isso represente um maior custo-benefício.

4. O RISCO DA GRAVIDEZ MÚLTIPLA COM eSET

Apesar da tendência atual ser a adoção da técnica de eSET de forma a reduzir o número de embriões a ser transferidos, o risco de gravidez múltipla permanece e é importante informar os casais desse facto (3, 40-42).

A eSET tem conduzido, inadvertidamente, a um aumento da gravidez gemelar monocoriónica, condição que apresenta um perfil de risco muito maior que as gestações dicoriónicas ou gestações únicas, principalmente devido aos riscos inerentes aos fenómenos de partilha placentar, como é o caso do maior comprometimento neurológico (3). Considerando que na maioria destas gestações a redução fetal não é uma possibilidade realista, uma revisão sistemática publicada em 2017 considera que os casais que recorrem às técnicas de PMA devem ter a oportunidade de optar por eSET ou por DET (3).

Foram descritos dois casos clínicos, um deles em 2018, de uma gravidez triamniótica monocoriônica, numa mulher de 37 anos, submetida a eSBT após congelamento (40) e outro caso de uma mulher de 40 anos com diagnóstico de reserva ovárica diminuída que recorreu à doação de oócitos e foi submetida a duas eSBT consecutivas de blastocisto congelado (43). Neste último caso, em ambas as transferências o exame ecográfico revelou uma gravidez gemelar monozigótica que acabou por não progredir, depois de ser detetada uma redução da atividade cardíaca de ambos os fetos (43).

Uma revisão da literatura de 2016 também reportou dois casos de gestações monocoriônicas após eSET que foram sujeitas a redução fetal com sucesso e declarou que os possíveis fatores de risco subjacentes ao aumento da taxa de divisão zigótica iatrogénica incluíam a manipulação da zona pelúcida (incubação assistida, injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), biópsia embrionária) e a cultura prolongada de embriões (44), este último fator confirmado em estudos posteriores (3, 41). Em 2017, um estudo americano que analisou um conjunto de dados nacionais de 2010 a 2013, desconsiderou a manipulação embrionária como fator de risco e mencionou que a transferência a fresco apresentou um maior risco comparativamente com a transferência de embrião criopreservado (42). Em 2018, um grupo de investigadores japoneses analisou a prevalência de gravidez múltipla com divisão zigótica após a transferência de um embrião e obteve o valor de 1,36%, o que os levou a considerar que o contínuo aperfeiçoamento das técnicas de PMA e das condições de cultura pode ter diminuído o stress embrionário com conseqüente decréscimo do risco de divisão zigótica. Contrariamente aos registos anteriores, este estudo refutou o facto de a ICSI aumentar a taxa de divisão zigótica e identificou como fatores de risco a FET e a eSBT, nomeando esta última como o principal fator (41).

Os efeitos das gestações monozigóticas justificam uma investigação contínua das suas possíveis causas e fatores de risco (43). Apesar de estes casos serem raros, os casais devem ser aconselhados sobre o pequeno aumento do risco de gravidez múltipla associado às técnicas de manipulação embrionária que são aplicadas aquando da adoção da eSET e deve-se ponderar se existe ou não necessidade de evitar estas técnicas na seleção do embrião mais viável (41).

5. A EDUCAÇÃO E PERSPETIVAS DO CASAL INFÉRTIL

A incapacidade de gerar filhos representa um sério problema médico, psicológico e social, quer para a mulher quer para o seu parceiro (11). Em conseqüência, são vários os fatores que podem afetar a decisão do casal relativamente ao número de embriões a transferir, incluindo a idade da paciente, a duração da infertilidade, o desejo de limitar o stress físico e

psicológico de vários ciclos de FIV, o nível de conhecimento sobre os riscos associados, a existência de outros filhos e o rendimento familiar (9).

O processo de tomada de decisão centrada no paciente é o paradigma atual, incluindo nas técnicas de PMA no qual os médicos têm a responsabilidade de comunicar de forma completa as opções disponíveis, ética e medicamente válidas, para que os casais tomem uma decisão adequadamente informada e autónoma, de acordo com os seus valores, cultura, preferências e condição sócio-económica (15, 22, 29).

Uma revisão sistemática reuniu a informação de 6 artigos para analisar as evidências atuais sobre a eficácia do acesso a informações educacionais sobre as gestações múltiplas por parte de casais submetidos ao seu primeiro tratamento de PMA. A educação dos casais foi aplicada em vários formatos desde folhetos educacionais com descrição dos riscos materno-fetais, a DVDs ou discussão de tópicos. A educação audiovisual e a apresentação de cenários de médio e alto risco relativos a complicações das gestações múltiplas, como pré-eclâmpsia, baixo peso ao nascer e depressão pós-parto foram duas intervenções que se revelaram muito eficazes (45). Em 2012, na Holanda já tinha sido avaliada a relação entre a adesão a eSET e a adoção de uma estratégia de aconselhamento multifacetada. Os casais foram sujeitos a questionários para avaliarem as suas experiências e classificaram as sessões de aconselhamento clínico e o auxílio na decisão como os elementos mais importantes na tomada de decisão, enquanto o aconselhamento telefónico adicional e a oferta de reembolso foram considerados menos importantes. Este último ponto pode ser explicado porque o sistema nacional de saúde holandês reembolsa os custos dos primeiros três ciclos de FIV (46).

No sentido de investigar as motivações que levam à realização de eSET entre pacientes e especialistas da medicina reprodutiva, uma pesquisa na Argentina constatou que os casais que discutiam mais detalhadamente sobre o número de embriões a transferir, selecionavam a eSET com maior frequência do que os menos informados. Relativamente aos médicos entrevistados, a maioria não ofereceu eSET a todas as suas pacientes, por assumirem que esta estava associada a uma menor taxa de nascimento de nados vivos em comparação com a DET e com base na suposição que as pacientes valorizavam mais o efeito positivo de engravidar do que o efeito negativo da ocorrência de complicações na gravidez. Quase 30% dos médicos decidiram o número de embriões a ser transferidos sem consultar a paciente e mais de um terço referiram desconhecer se esta preferia uma gestação única ou múltipla. Constatou-se ainda que a maioria dos médicos desconhecia os auxiliares de decisão, apesar de grande parte assumir que gostaria de ter um disponível (22).

Em Portugal, a decisão sobre o número de embriões a ser transferidos não seria possível sem consultar a paciente. Todos os centros portugueses de PMA têm a obrigação de entregar ao

casal os exames realizados e o relatório com os dados clínicos e laboratoriais do tratamento efetuado, no qual deve constar o tipo de estimulação ovárica realizada; o número dos ovócitos inseminados ou microinjetados (em caso de FIV ou ICSI); o número de ovócitos fecundados; o número total de embriões obtidos, transferidos e congelados; eventuais técnicas específicas realizadas e todos os restantes elementos úteis para a futura condução da situação clínica. A adoção desta política é particularmente útil em caso de mudança do casal entre os centros de PMA (26).

Um estudo publicado em 2019 foi desenvolvido com o objetivo de compreender as atitudes dos casais relativamente à tendência recente da criopreservação embrionária e constatou que, embora o atraso na transferência de embriões associado a esta prática seja uma preocupação para muitos casais, eles também estão preocupados com questões de segurança e com o seu potencial resultado (13). Quase 60% dos participantes do estudo preferiram a FET em comparação com a transferência de embriões a fresco, assumindo que a taxa de gravidez clínica era equivalente entre as duas abordagens enquanto que quase 90% preferiu a FET se isso implicasse uma redução dos riscos para a mãe e/ou criança. No final, os resultados também demonstraram que quando o casal tem acesso a informações objetivas e relevantes antes do tratamento (no sentido de ajustar as suas expectativas, prepará-los para as diferentes possibilidades de abordagem e reforçar a sua sensação de controlo no processo), fica mais recetivo a mudanças na estratégia de tratamento se for necessário (13).

Sunderam et al. (45) constataram que a aceitabilidade da eSET depende da perceção do seu êxito, pois os casais que acreditavam que as taxas de gravidez eram semelhantes entre a DET e a eSET aceitaram a eSET em maior proporção. Contudo, se por um lado a compreensão dos riscos da gravidez múltipla tem um impacto significativo em alguns casais, levando-os a ter uma menor preferência por gémeos, outros casais, e em particular mulheres, optam pela abordagem mais arriscada, no sentido de garantir o maior sucesso do tratamento (45). Esta situação pode ser promovida quando os médicos comunicam às suas pacientes apenas a taxa de gravidez obtida depois de uma eSET. No entanto, os dados que são apresentados devem ser consistentes com os objetivos principais das técnicas de PMA, que são o nascimento de uma criança saudável e uma maternidade segura (47). Tendo em conta esta premissa, as pacientes devem ser também informadas sobre as taxas cumulativas de gravidez, dada a possibilidade de ser realizada mais do que uma transferência durante o mesmo ciclo. Estas taxas de sucesso fornecerão às pacientes uma medida mais precisa da eficácia da eSET e podem ajudá-las a compreender melhor os benefícios desta técnica (20, 47, 48).

Combinando os resultados obtidos, compreende-se a necessidade de um aconselhamento personalizado antes de dar início ao tratamento de infertilidade. É crucial que os casais sejam

orientados relativamente à taxa de sucesso das diferentes técnicas de transferência, complicações maternas e perinatais da gravidez múltipla e riscos da prematuridade na saúde física e mental a longo prazo (6, 20). Só depois de estarem na posse de todas as informações importantes sobre as diferentes abordagens e de verem esclarecidas todas as suas dúvidas é que os casais estarão em condições de tomar uma decisão, consciente e informada. Além disso, no sentido de promover uma abordagem personalizada, as estratégias adotadas devem ser ajustadas no decurso do tratamento (13).

Em caso de insucesso da eSET, a necessidade de uma nova transferência, o consequente atraso na obtenção de gravidez e os custos associados (48) podem gerar na paciente alguma pressão emocional, física e financeira e uma maior relutância em recorrer novamente a esta técnica (9, 27, 29). O casal tende a tornar-se um pouco mais impaciente e disposto a aceitar maiores riscos, o que acentua a importância da gestão das expectativas numa fase inicial do processo (13).

6. CONSIDERAÇÕES FINANCEIRAS

No sentido de promover a eSET, há autores que preconizam um eficaz aconselhamento personalizado do casal em combinação com ajudas financeiras que atenuem ou removam as barreiras económicas associadas ao recurso a esta técnica entre pacientes com bom prognóstico (9, 45).

Os elevados custos e as limitadas opções de financiamento existentes em países como os EUA, Japão e Nova Zelândia constituem grandes barreiras ao tratamento da infertilidade, em contraste com países que possuem financiamento público universal, como a Dinamarca, Suécia e Holanda, onde os efeitos dos incentivos financeiros são mais limitados (45, 49). Dados europeus da ESHRE confirmam existir grandes diferenças no acesso aos tratamentos entre os vários países, de acordo com a existência ou não de cobertura dos custos associados (23).

Uma análise feita nos EUA entre 2004 e 2012 confirmou que o recurso a eSET é mais provável quando existe cobertura de seguro, pois em circunstâncias de menor risco financeiro os pacientes e médicos estão mais dispostos a optar por esta abordagem. A expansão da cobertura de seguro para FIV facilitaria o uso mais amplo da eSET e reduziria a morbilidade e os custos de saúde associados à gravidez múltipla (21). De facto, uma das situações que justifica a relutância de alguns casais em adotar esta técnica é o desejo destes em reduzir os custos de múltiplos ciclos de FIV, principalmente em países onde estes tratamentos não são financiados (1, 33). No entanto, embora a eSET possa conduzir a um aumento dos custos devido à necessidade de um ciclo subsequente quando a gravidez não é alcançada na

primeira tentativa, os custos a longo prazo podem aumentar consideravelmente quando se opta pela DET e o resultado é uma gravidez múltipla (48).

Em 2010, a introdução do programa de financiamento de FIV no Canadá estipulou a adoção da eSET, à exceção das mulheres com idade igual ou superior a 36 anos, nas quais se podia transferir até dois ou três embriões, respetivamente. Cada paciente tinha direito ao financiamento de três ciclos de tratamento, sendo contabilizados apenas os que resultavam em transferência embrionária. Com apenas um ano de cobertura universal de FIV, a taxa de eSET aumentou 30% e a de gravidez múltipla reduziu 23%, tendo sido observado uma maior proporção de mulheres a partir dos 40 anos a aceder aos tratamentos. As taxas de gravidez múltipla diminuíram para todas as idades em consequência da técnica de eSET, enquanto a taxa de criopreservação de embriões aumentou, o que permitiu a FET nas mulheres cuja transferência a fresco falhou (50). Já em 2016, numa investigação conduzida em 40 estados dos EUA também se verificou que, na presença de seguro, mulheres com menos de 35 anos submetidas à transferência no dia 5 apresentaram uma taxa significativamente menor de gravidez múltipla associada a uma maior aplicação da eSET. Curiosamente, uma das constatações desta investigação foi que o número médio de embriões transferidos por ciclo e a taxa de nascimentos múltiplos têm vindo a diminuir nos diferentes estados, independentemente da implementação do seguro. Segundo este grupo de investigadores, esta conclusão assinala uma transição gradual para práticas mais conservadoras de transferência de embriões ao longo do tempo (51).

Um outro estudo publicado em 2018 confirmou um maior acesso a FIV e ICSI após o financiamento do governo, em particular por parte de pacientes que estavam a recorrer ao tratamento pela primeira vez. Com o aumento significativo do recurso a eSET, demonstrou-se ser possível reduzir distintamente a taxa de gravidez múltipla (redução de 13,1% para 3,5%), sem afetar a taxa de gravidez clínica. Uma limitação a apontar neste estudo foi a não avaliação da taxa cumulativa de gravidez quando se efetuou a FET após a primeira transferência a fresco (52).

Os estudos descritos avaliaram a influência da cobertura financeira dos tratamentos de FIV e confirmaram um aumento da aplicação da técnica de eSET associada a uma redução da taxa de gravidez múltipla (50-52). Por outro lado, os resultados apresentados sustentam que embora a cobertura de seguro não resolva por completo o problema das gestações múltiplas, a remoção de barreiras financeiras garante uma maior igualdade de acesso ao tratamento e pode fazer com que a eSET seja uma opção aceitável para os pacientes (50, 51).

No sentido de compreender melhor as atitudes dos membros da Sociedade de Tecnologia de Reprodução Assistida relativamente à expansão da cobertura de seguro, em 2018 foi desenvolvido um questionário dirigido a estes. 78% dos entrevistados apoiaram o

financiamento das técnicas de FIV para quem exige o tratamento de infertilidade, enquanto que 76,7% apoiaram a expansão da cobertura de seguro perante o recurso a eSET adequado à idade. Uma evidência interessante foi que 68% dos entrevistados apoiaram simultaneamente estas duas estratégias, o que sugere que aqueles que apoiam a expansão do seguro para as técnicas de FIV estão dispostos a adotar uma abordagem responsável relativamente ao número de embriões transferidos (49).

7. A TENDÊNCIA DA CRIOPRESERVAÇÃO EMBRIONÁRIA

Nos últimos anos, a transferência de embriões congelados tornou-se uma alternativa viável e promissora à transferência de embriões a fresco (13).

O desenvolvimento e o aperfeiçoamento contínuo das técnicas de criopreservação embrionária permitiram a preservação de embriões supranumerários para uso em ciclos subsequentes (1). Isto foi fundamental em PMA, visto poderem contribuir para a redução do número de embriões implantados por transferência com conseqüente diminuição da ocorrência de nascimentos múltiplos (53, 54). Dados europeus comprovaram que a tendência da transferência de embriões criopreservados está em ascensão, quando, em 2014, esta prática excedeu pela primeira vez o número de tratamentos a fresco (23).

Após a criopreservação do blastocisto, a maior taxa de implantação que se obtém pode envolver três fatores e a sua interação: um embrião com maior competência de implantação, um endométrio mais recetivo e uma melhor sincronia entre o desenvolvimento do embrião e endométrio (53). Durante um ciclo de transferência de embrião criopreservado, o ambiente endometrial é mais favorável porque mimetiza o processo natural de implantação embrionária e possibilita a recuperação do endométrio que deixa de estar exposto à estimulação ovárica. Conseqüentemente, evita os efeitos prejudiciais das concentrações hormonais supra-fisiológicas e reduz a incidência da síndrome de hiperestimulação ovárica (53, 55). O último relatório anual da ESHRE testemunhou que apesar desta síndrome ter sido a principal complicação decorrente da PMA, se verificou uma redução da sua incidência com a criopreservação (23).

Com o objetivo de fornecer aos médicos dados que comprovem os benefícios da FET no estadio de blastocisto, de forma a puderem aconselhar adequadamente as suas pacientes, cinco investigadores analisaram, num laboratório particular de FIV, os resultados obtidos em mulheres de idade inferior a 38 anos submetidas a DBT ou a eSBT. A taxa de nascimento de nados vivos com DBT foi equivalente ou ligeiramente superior à taxa obtida com eSBT, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Para além disso, investigaram se o insucesso prévio de uma transferência a fresco tinha alguma influência nos

resultados da transferência subsequente e concluíram não existir qualquer relação, pelo que não deve ser desencorajada uma nova tentativa de eSBT (27). Uma investigação conduzida em 2016 não encontrou diferenças significativas entre os grupos eSBT e DBT a fresco ou após vitrificação, quando não considerou o fator idade, no entanto, para mulheres com idade igual ou superior a 35 anos, a transferência de blastocisto vitrificado levou a uma taxa de aborto significativamente maior no grupo eSBT do que no grupo DBT (28).

Outros estudos avaliaram e compararam os resultados obtidos entre a eSBT num ciclo a fresco e a eSBT num ciclo após criopreservação (53, 54). Um dos estudos confirmou a vantagem da criopreservação em pacientes de idade igual ou inferior a 39 anos, ao obter taxas de gravidez e de nascimento de nados vivos significativamente mais altas em comparação com a transferência a fresco. Os autores deste estudo assumem ainda que com o recurso a programas de criopreservação de blastocistos bem-sucedidos, a transferência de blastocistos permite diminuir o número de embriões a implantar e maximizar as taxas de gravidez (54).

Wei et al. (53) analisaram os dados de 21 centros de fertilidade na China e verificaram que a FET no estadio de blastocisto gerou taxas de implantação e de nascimento de nados vivos mais elevadas do que a transferência a fresco enquanto que a taxa de perda de gravidez e o risco da síndrome de hiperestimulação ovárica moderada ou grave foi semelhante nos dois grupos. Foi ainda registado um maior risco de pré-eclâmpsia materna após transferência de blastocisto congelado, resultado este que foi confirmado por outros estudos (56, 57).

Barsky et al. (56) consideram que o acréscimo em 3,1 vezes do risco de pré-eclâmpsia após criopreservação de embriões não justifica desencorajar esta prática e recomendam a realização de novos estudos que investiguem a etiologia da pré-eclâmpsia materna após criopreservação. *Shavit et al.* (57) indicaram que o aumento do risco de pré-eclâmpsia pode ser devido a alterações no endométrio durante a preparação endometrial habitualmente realizada nestes ciclos ou devido a alterações epigenéticas e propuseram a realização de novas investigações para esclarecer melhor qual o impacto da criopreservação no resultado feto-materno.

Em termos de resultados neonatais, *Wei et al.* (53) apuraram que a criopreservação conduziu a um maior peso ao nascer e a um risco acrescido de RN grande para a idade gestacional, o que pode favorecer a sobrevivência de RN prematuros. Tais resultados corroboram os resultados de estudos prévios (56-58). De facto, uma meta-análise publicada em 2018 confirmou ser reduzido o risco de RN pequeno para a idade gestacional, baixo peso ao nascer e parto prematuro após o congelamento eletivo de todos os embriões. No entanto, reconhece que é necessária cautela relativamente a esta técnica devido ao risco acrescido de distúrbios hipertensivos durante a gravidez e de RN grande para a idade gestacional, concluindo que o

congelamento eletivo deve idealmente ser realizado em casos específicos, como é o caso da síndrome de hiperestimulação ovárica (58).

Foi levantada a hipótese de a criopreservação ser benéfica em doentes com hipogonadismo hipogonadotrófico (59). Estas doentes necessitam de uma estimulação ovárica ideal para o desenvolvimento folicular, algo difícil de definir e que conduz frequentemente a níveis supra-fisiológicos de hormonas esteroides, com risco de perturbar a recetividade uterina e a consequente implantação dos embriões. A transferência de múltiplos embriões em ciclos a fresco tem sido a prática comum nestas doentes, contudo devido às taxas elevadas de gravidez múltipla obtidas e ao interesse em otimizar a sincronia embrião-endométrio, um estudo analisou retrospectivamente os resultados clínicos após a FET. Os resultados demonstraram que esta abordagem, num ambiente endócrino ajustado ao ciclo de substituição hormonal, é um tratamento eficaz para mulheres com esta patologia, melhora a taxa de nascimento de nados vivos e diminui a incidência de gravidez múltipla (59).

8. O MOMENTO IDEAL DE TRANSFERIR O EMBRIÃO

Nos últimos anos, com os avanços nos meios de cultura, tem-se verificado uma crescente tendência em prolongar a cultura embrionária até ao estadio de blastocisto (dias 5 ou 6 de desenvolvimento) enquanto que o procedimento padrão inicial de transferência no estadio de clivagem tem sido abandonado (25, 32, 47, 60, 61).

Uma revisão da literatura publicada em 2016 indicou que a extensão da cultura embrionária até ao estadio de blastocisto seria uma boa estratégia a adotar na eSET porque permite a seleção do embrião com maior potencial de implantação (1). Mais tarde, uma revisão sistemática comprovou a vantagem desta abordagem ao mostrar que esta promovia uma redução do número de embriões a ser transferidos, com manutenção da taxa de gravidez (3).

À luz da informação atual, existem diferenças relevantes na condição uterina e nas características embrionárias entre as duas fases de desenvolvimento embrionário. Em 2015, *Maheshwari et al.* (47) reuniram as razões que motivam o prolongamento da cultura embrionária até ao estadio de blastocisto e analisaram os riscos e benefícios dessa estratégia. A favor temos uma melhor sincronia embrião-endométrio e, portanto, uma maior probabilidade de implantação, pois esta ocorre num ambiente uterino mais fisiológico, que reproduz melhor a sequência de eventos da concepção natural. A par disso, como a ativação do genoma embrionário ocorre ao 3º dia de desenvolvimento, na ausência desta, é improvável que o embrião sobreviva e se implante (47). Sendo os embriões com anomalias genéticas menos propensos a continuarem o seu desenvolvimento, esta abordagem permite a permanência e

posterior identificação dos embriões mais viáveis, com melhor morfologia e geneticamente mais competentes resultando numa maior taxa de nascimento de nados vivos (32, 47).

Em 2016, um grupo de investigadores comparou os resultados clínicos entre pacientes submetidas a transferência de embriões no estadio de clivagem e no estadio de blastocisto após criopreservação. Os resultados obtidos indicaram que não houve diferença significativa na taxa cumulativa de gravidez entre as duas abordagens. No fim, os investigadores sustentam que a eSBT após vitrificação é a melhor estratégia clínica para as pacientes que têm pelo menos 4 embriões disponíveis no dia 3, porque permite uma seleção mais restrita dos embriões com melhor potencial de desenvolvimento, e com isso uma redução dos custos médicos, uma redução do tempo de tratamento e a garantia de uma boa taxa de gravidez (55).

Apesar dos benefícios descritos e da aceitação quase universal da transferência no estadio de blastocisto, um debate publicado em 2015 sugere que existem fatores que criam dúvidas relativamente à prática de prolongar a cultura embrionária, sem a devida definição da população de pacientes adequadas para tal (25). Por um lado, a extensão da cultura embrionária até ao estadio de blastocisto adiciona custos ao processo de FIV, por si só já dispendioso. Por outro, afirmam que o benefício de eSBT é, em parte, falso, porque apenas se verifica em pacientes com "bom prognóstico". Como não existe uma definição exata deste grupo de pacientes, defendem que para uma razoável segurança, apenas as mulheres jovens com mais de 6 a 8 embriões de alta qualidade no dia 3 irão beneficiar da eSBT. Assim, pacientes com "mau prognóstico", geralmente caracterizadas por uma reserva ovárica funcional baixa correm um risco significativo de serem prejudicadas com a eSBT, pelo que se deve desconsiderar esta abordagem (25).

Em 2014 já tinha sido publicado um estudo prospetivo randomizado realizado numa clínica privada em Espanha, incluindo 199 mulheres, no qual se obtiveram taxas de nascimento de nados vivos semelhantes entre a transferência de embriões no estadio de blastocisto e a transferência no estadio de clivagem. Os autores deste estudo concluíram não existir vantagem significativa em transferir o embrião no estadio de blastocisto (48). *Maheshwari et al.* (47) demonstraram que o prolongamento da cultura embrionária conduziu a uma maior taxa de gravidez, enquanto que a taxa cumulativa de nascimento de nados vivos obtida foi menor. Uma explicação plausível para este facto é que os embriões que não atingem o estadio de blastocisto são excluídos e não elegíveis para transferência, enquanto que se forem congelados no estadio de clivagem e transferência após um descongelamento bem-sucedido podem resultar em nascimento. A par disso, estes investigadores verificaram que a eSBT estava associada a um maior risco de prematuridade, bebés grandes para a idade gestacional, gémeos monozigóticos e anomalias congénitas. Por fim, existem ainda

preocupações quanto à relação desta abordagem com modificações epigenéticas e com potenciais riscos aumentados para a saúde fetal (47).

Tendo em conta os resultados descritos, considera-se pertinente repensar na política atual de transferência de blastocistos, pelo que são necessários novos estudos que forneçam evidências mais conclusivas (47).

Em 2017, um estudo procurou analisar se existia alguma diferença na eSBT a fresco realizada entre o dia 5 ou 6 e concluiu que a transferência realizada no dia 6 teve uma taxa de implantação significativamente menor (redução para 1/3). O estudo não forneceu respostas definitivas sobre a causa específica desta redução, mas aponta como explicações plausíveis a assincronia entre o desenvolvimento embrionário e o endométrio estimulado ou um possível impacto negativo da própria extensão da cultura embrionária. No final, com base nos resultados obtidos, os autores recomendam a realização da eSBT no dia 5 e se esta não for possível de executar, é preferível a criopreservação do blastocisto e posterior transferência eletiva (62).

Genericamente, quando são realizadas transferências a fresco, tem-se dado prioridade à transferência de blastocistos de crescimento rápido, porque parece que estes geram uma maior taxa de gravidez clínica. Contudo, quando apenas estão disponíveis blastocistos de crescimento lento, uma questão que se tem tornado importante na era da eSET é definir qual a melhor estratégia a adotar para alcançar a gravidez. Assim, numa tentativa de perceber se o adiamento da transferência de um blastocisto de crescimento lento poderia potencialmente melhorar os resultados, devido ao estabelecimento de uma melhor sincronia embrião-endométrio, um estudo comparou os resultados obtidos entre a transferência no dia 5 de blastocistos de crescimento lento a fresco e a transferência no dia 6 de blastocistos formados no mesmo ciclo, mas congelados e posteriormente transferidos. Os resultados dependeram do dia em que os embriões iniciam a blastulação: os embriões que iniciaram a blastulação mas não atingiram a expansão total no dia 5 apresentaram resultados semelhantes aos blastocistos totalmente expandidos que foram vitrificados e posteriormente transferidos no dia 6 enquanto que os embriões que não iniciaram a blastulação no dia 5 (ainda em estado de mórula) apresentaram uma taxa de nascimento de nados vivos significativamente menor. Esta taxa pode ser explicada pelo facto de que 28% desses embriões não iriam continuar o seu desenvolvimento (60). Estes resultados foram consistentes com outro estudo (33). Nestes casos de blastocistos de crescimento lento, é recomendado como estratégia viável a manutenção da cultura embrionária para além do dia 6 e posterior transferência do blastocisto criopreservado (33, 60).

9. A SELEÇÃO DO MELHOR EMBRIÃO

No passado, o potencial de implantação embrionária era menor devido aos meios de cultura pouco desenvolvidos, às características das próprias incubadoras e a técnicas inadequadas de seleção de embriões. Consequentemente, para compensar essas dificuldades e aumentar as taxas de implantação, transferia-se um maior número de embriões (20).

Com o advento da técnica de eSET, incentivada em muitas clínicas por motivos de segurança, tornou-se imperativo enfatizar os critérios de seleção e avaliação da qualidade dos embriões (10-12, 14, 25). O desenvolvimento de biomarcadores não invasivos, objetivos e precisos, capazes de identificar os embriões mais competentes para posterior transferência eletiva é uma das grandes apostas da medicina reprodutiva, contudo, estes métodos precisam de ser cuidadosamente reavaliados, de forma a ser reconhecido o seu exato benefício (25). De facto, existe uma preocupação significativa em relação à aplicação indiscriminada de técnicas de seleção embrionária como estratégia de rotina, devido ao risco de estas interferirem no processo de fertilização e desenvolvimento embrionário e desencadear alguns efeitos adversos (25, 37). Desta forma, as estratégias de seleção embrionária a adotar devem ser individualizadas, considerando as características da paciente em questão, com particular destaque para a sua idade e reserva ovárica funcional, no sentido de promover a maior segurança durante o tratamento (25, 37).

9.1 Avaliação Morfológica

Numa fase de pré-implantação, a identificação dos embriões com maior potencial de implantação pode ser feita por vários métodos, invasivos e não invasivos. Quanto aos métodos não invasivos, a seleção pode ser feita com técnicas de análise de componentes moleculares ou com base na morfologia do embrião (11, 14).

Na maioria dos centros de FIV, a avaliação morfológica é considerada o procedimento padrão na seleção embrionária, sendo realizada microscopicamente em momentos predeterminados (10, 63), no entanto apresenta algumas limitações (11). Por um lado, devido à sua natureza um pouco subjetiva, os embriões podem ser classificados de forma distinta nos diferentes laboratórios (6, 11, 64) e por outro, mesmo os embriões classificados com maior qualidade podem não se implantar (11, 64).

Um artigo publicado em 2018 descreveu um método de seleção de pacientes para eSET, considerando a avaliação embrionária exclusivamente numa perspetiva morfológica. Foram comparados dois níveis diferentes de precisão a adotar na seleção das pacientes e verificou-se que diminuir a pressão de seleção reduziu a gravidez gemelar de 40% para 22% sem uma redução significativa nas taxas de gravidez (58,3% para 54,6%), o que comprovou o benefício

da implementação de um programa de eSET após uma avaliação morfológica rigorosa combinada com o cálculo do potencial de implantação embrionário adequado ao seu grau (64).

Em 2018, um grupo de investigadores chineses procurou avaliar se o grau de desenvolvimento embrionário no dia 3 poderia prever os resultados da eSBT no dia 5. Observaram que os blastocistos apresentaram taxas de gravidez clínica semelhantes, independentemente do grau de desenvolvimento definido no dia 3, o que lhes permitiu concluir que a avaliação morfológica no estadio de clivagem não era significativa para a seleção dos blastocistos transferidos (65). Outro estudo semelhante avaliou o efeito da blastulação embrionária precoce no dia 4 nos resultados da eSET a realizar no dia 5. Este estudo incluiu 81 mulheres com menos de 38 anos submetidas ao seu primeiro ciclo de FIV/ICSI. No final demonstrou-se que os embriões com blastulação precoce originaram blastocistos com melhor morfologia e maior taxa de euploidia, o que confirmou a sua utilidade como fator preditivo da qualidade embrionária (66).

No estado de zigoto, verificou-se que certos padrões de pronúcleos se correlacionam com o resultado do tratamento de FIV e ICSI, constituindo uma possível ferramenta prognóstica antes da clivagem (14). Um estudo de 2015 investigou se a incidência de zigotos com três pronúcleos podia ser um indicador prognóstico. A taxa de gravidez clínica foi significativamente menor nas pacientes que apresentavam zigotos com três pronúcleos, o que sugeriu que a sua incidência tem um efeito negativo nos resultados da gravidez (67).

A par dos critérios morfológicos, outras medidas foram sugeridas como potenciais fontes precisas de informação de forma a facilitar a seleção dos embriões para eSET. Uma das abordagens propostas foi examinar as diferenças metabólicas entre os embriões, por exemplo recorrendo à espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) para prever o potencial de implantação. Contudo, a adição desta técnica à classificação morfológica não foi considerada vantajosa, sendo desconsiderada como marcador objetivo da viabilidade embrionária (14).

9.2 Avaliação Morfocinética

Tradicionalmente, a avaliação embrionária consistiu na remoção dos embriões da incubadora para avaliação diária sob um microscópio ótico (11, 14). Em 2009, a introdução de sistemas de imagem e de monitorização por *time-lapse* (TLM) nas práticas de laboratório permitiram o estudo morfocinético do desenvolvimento embrionário, um controlo mais detalhado da sua evolução (11, 14, 61, 63) e, inclusive, correlacionar o crescimento do embrião com a sua ploidia (66). Estes equipamentos filmam em contínuo o desenvolvimento dos embriões, permitindo a avaliação de vários critérios sem ter que os remover da incubadora para a

visualização ao microscópio. O ambiente de cultura estável limita assim a exposição dos embriões a mudanças na composição, temperatura e movimento de gases (14, 61, 63).

Quando a disponibilidade dos equipamentos de TLM aumentou, a atenção foi inicialmente dirigida à avaliação da sua segurança clínica. Depois do estabelecimento desta, várias pesquisas têm sido feitas no sentido de determinar a eficácia desta abordagem no aumento das taxas de gravidez (63). Um estudo publicado em 2016 avaliou se a TLM pode ser usada como uma ferramenta de seleção para a eSBT a realizar no dia 5. Para isso, as pacientes submetidas a eSBT foram comparadas às que foram submetidas a DBT, sendo incluídas na análise um total de 108 pacientes. As taxas de gravidez foram semelhantes entre os grupos à exceção da taxa de gravidez múltipla que foi significativamente maior no grupo DET, o que confirmou a utilidade desta tecnologia (61).

Outros estudos compararam os resultados da transferência de embriões se a seleção embrionária fosse com TLM ou com critérios morfológicos convencionais (63, 65, 68). Um deles considerou a realização de eSET no dia 5 e apurou que a tecnologia TLM tinha uma pequena vantagem, em termos de taxas de gravidez clínica e de gravidez em curso, comparativamente com a seleção baseada apenas na morfologia embrionária (65). Outro estudo, de *Adamson et al.* (68) avaliou prospectivamente a transferência no dia 3 e reconheceu o valor da TLM, ao obter taxas de implantação e de gravidez clínica significativamente mais altas no grupo em que se associou o teste de TLM aos critérios morfológicos tradicionais.

Apesar destes estudos afirmarem o benefício da seleção embrionária com TLM, um estudo americano prospectivo mostrou que com esta tecnologia o aumento geral das taxas de implantação e de gravidez clínica após transferência no estágio de blastocisto não era estatisticamente significativo (63). Outras duas descobertas deste estudo foram que a taxa de gravidez clínica após transferência no dia 5 foi três vezes maior do que a transferência no dia 3 e que o momento em que se inicia a blastulação, a ausência de multinucleação e o uso de um *score* baseado em critérios morfológicos e cinéticos são fatores preditivos significativos de implantação.

Em 2019, outro grupo de trabalho investigou se o colapso do blastocisto poderia ser um marcador preditivo negativo para a implantação de embriões. A avaliação morfológica e o cálculo da redução do volume do blastocisto foram realizados com recurso a um software de TLM (*EmbryoViewer™*), definindo-se como colapso uma redução de volume superior a 50% e contração uma redução de volume inferior a 50%. Na incubadora *EmbryoScope* monitorizou-se a cultura embrionária *in vitro*, tendo sido realizadas medições quando o blastocisto estava em expansão máxima e, em caso de episódio de colapso, quando o blastocisto ocupava o menor volume. Foram relatadas taxas de implantação e de gravidez em curso significativamente mais baixas no grupo dos blastocistos transferidos que exibiram um

episódio de colapso durante o seu desenvolvimento. Não se registaram diferenças nas características das pacientes de ambos os grupos nem no evento de colapso tendo em conta a técnica de inseminação adotada (FIV vs. ICSI) (69). Em 2016, *Bodri et al.* (70), já tinham estudado o colapso dos blastocistos, através da TLM, em pacientes submetidas à eSBT após criopreservação e obtiveram resultados semelhantes. Os autores de ambos os estudos assumem que o padrão de colapso do blastocisto é um indicador relevante que pode ser usado na seleção embrionária (69, 70), contudo é sugerido que este elemento não seja avaliado de forma isolada, sem ter em consideração outras variáveis como a idade da mulher ou outros parâmetros morfocinéticos, importantes fatores preditivos do resultado reprodutivo (70).

Retomando o caso clínico da gravidez triamniótica monocoriónica resultante de uma eSBT após congelamento (pág. 18), como o blastocisto foi cultivado numa incubadora de TLM, pode observar-se a divisão da massa celular interna durante o período de desenvolvimento embrionário. Segundo os autores deste estudo, esta observação deve ser introduzida como rotina para a seleção dos embriões a transferir a fim de evitar gestações múltiplas (40).

Um crescente número de estudos tem sugerido que a TLM é uma ferramenta não invasiva promissora cuja adoção pode aumentar a confiança na prática de eSET, dado o seu potencial em determinar as condições ideais do desenvolvimento embrionário e em definir padrões preditivos de um maior potencial de implantação (61, 68) e sugerem a realização de mais estudos que confirmem os achados atuais (63).

9.3 Testes genéticos pré-implantação

Os métodos invasivos de seleção embrionária abrangem técnicas como os testes genéticos pré-implantação (PGT), que incluem o rastreio de aneuploidias (PGT-A), a pesquisa de doenças monogénicas (PGT-M) e a pesquisa de anomalias cromossómicas estruturais (PGT-SR) (11, 71).

Os PGT usados no âmbito da FIV representam um grande avanço científico para os casais que têm um risco acrescido de transmissão de patologia génica ou cromossómica, ao permitir a seleção dos embriões geneticamente normais no que respeita à patologia estudada (71-73). Esta abordagem constitui um método muito precoce de diagnóstico e uma alternativa aos métodos invasivos de diagnóstico pré-natal (73, 74), dado que muitos casais preferem conceber embriões saudáveis testados *in vitro* antes da implantação e, assim, evitar o difícil dilema de interromper ou não a gravidez (72).

No enquadramento legal português, podemos recorrer a PGT-M e a PGT-SR nas seguintes situações: identificação de embriões não portadores de anomalia grave antes da transferência

embrionária quando existe um risco acrescido de transmissão à descendência de doença grave; identificação do sexo, perante risco acrescido de doença genética ligada ao sexo e obtenção do grupo HLA compatível para efeitos de tratamento de doença grave (71).

Em 2019, *Beyer et al.* (74) publicaram o caso de um casal que pretendia ter um filho com recurso a eSET e cujo elemento masculino apresentava uma translocação recíproca entre os cromossomas 10 e 19. Devido ao risco acrescido de má segregação cromossómica, o casal prosseguiu com o teste de viabilidade Karyomapping, um teste capaz de detetar anomalias cromossómicas segmentares e, por isso, uma opção viável de PGT-SR. Com recurso à FIV foram obtidos 11 embriões, 3 dos quais sem alterações cromossómicas detetadas que foram criopreservados. Um destes embriões foi transferido eletivamente sendo alcançada uma gravidez clínica (confirmação ecográfica do batimento cardíaco fetal) com 12 semanas de evolução até ao momento da publicação.

Em 2012 foi descrito o primeiro caso do uso de PGT no Reino Unido em que foi realizada uma biópsia embrionária para o diagnóstico de fenilcetonúria. Esta condição genética foi considerada suficientemente grave por requerer tratamento para toda a vida, a fim de evitar alterações comportamentais, atraso mental e implicações na capacidade de aprendizagem, pelo que foi aprovada para PGT. O casal em análise já tinha um filho com fenilcetonúria e decidiu optar pela eSET para evitar a possibilidade de terem outro filho com a doença e o advento da gravidez múltipla. Após a análise genética, verificou-se que 3 dos 12 embriões obtidos não apresentavam mutações relacionadas com a doença e um deles foi transferido ao 5º dia de desenvolvimento. Da transferência resultou uma gravidez clínica e, posteriormente, o nascimento de um bebé saudável, confirmado pelos testes pós-natais (73).

A aneuploidia é a anomalia mais comum nos embriões humanos derivados da FIV, um problema que pode contribuir substancialmente para o insucesso reprodutivo (75). O PGT-A tem como objetivo identificar os embriões euploides numa fase precoce do desenvolvimento embrionário, previsivelmente mais capazes de originar uma gravidez evolutiva (10, 76), contudo a sua utilidade é atualmente muito debatida (71, 76, 77). Por um lado, o PGT-A é mais benéfico para o casal, na medida em que melhora a seleção embrionária, possibilita a realização de menos transferências de embriões e previne um maior número de abortos, evitando as prováveis consequências psicológicas destes. Por outro lado, é uma técnica exigente, com potencial risco de afetar a viabilidade do embrião, confere custos adicionais ao tratamento e pode fazer um diagnóstico incorreto, impedindo assim a transferência de um embrião que na verdade era saudável (76).

Segundo o último relatório anual da ESHRE, tem-se verificado um aumento constante da oferta de PGT na Europa, em particular do rastreio de aneuploidias, cujo acesso aumentou de 4% em 2010 para 20% em 2013 (23).

Em Portugal, o PGT-A é uma técnica que só dispensa o pedido de autorização ao Conselho Nacional de PMA perante indicações específicas, como a idade feminina avançada (igual ou superior a 39 anos), abortos de repetição de causa desconhecida, insucessos repetidos de implantação embrionária após FIV/ICSI (pelo menos três), antecedente de gestação anterior com anomalia genética ou se já autorização prévia de biópsia para PGT-M (71).

De acordo com estudos relatados numa revisão de 2018, em pacientes com prognóstico favorável, o PGT-A seguido da adoção de eSET conduziu a uma taxa de nascimento de nados vivos mais elevada, o que sugere o potencial desse teste em ampliar o recurso a eSET e em reduzir ainda mais a incidência de gestações múltiplas (77).

Para além das ferramentas genéticas empregues, a taxa de nascimento de nados vivos após PGT pode ser afetada por outros 2 parâmetros críticos: o momento da biópsia e a biópsia ser realizada em embriões frescos ou criopreservados. Previamente ao avanço da amplificação genética, não era possível a realização de biópsia de um embrião fresco no estadio de blastocisto para rastreio de alterações genéticas e posterior transferência porque os embriões não criopreservados não sobreviveriam *in vitro* até 7 dias após a fertilização e o relatório genético dificilmente estaria pronto em menos de um dia. Por outro lado, como foi considerado existir um maior benefício em realizar a biópsia embrionária no estadio de blastocisto, a prática padrão da maioria dos centros de FIV consistiu na criopreservação dos blastocistos biopsiados seguida de FET (78). No sentido de avaliar a viabilidade clínica de um embrião fresco sujeito ao rastreio genético, um estudo piloto publicado em 2016 analisou os resultados obtidos após um protocolo mais rápido de PGT-A no dia 5 seguido de uma eSBT a fresco no dia 6. Com o rastreio genético obteve-se uma taxa de aneuploidia de 53,5% e após a eSBT a fresco registaram-se uma taxa de gravidez clínica de 87,5% e uma taxa de gravidez em curso de 62,5%. Estes dados confirmaram a viabilidade do uso do protocolo rápido de PGT-A na seleção dos blastocistos, contudo os autores deste estudo salientam a necessidade de investigações adicionais que corroborem estes resultados (78).

Em 2019, um grupo de investigadores averiguou se a morfologia do blastocisto se correlaciona com o status de ploidia dos embriões analisados com PGT-A em pacientes com mais de 37 anos de idade. Os resultados mostraram que os blastocistos classificados morfológicamente com excelente e boa qualidade têm maior probabilidade de serem euploides, sendo 42 a 53% destes selecionados por PGT-A enquanto que a taxa de euploidia dos embriões de pior qualidade atingiu valores próximos de 17%. Todavia, a taxa de implantação dos blastocistos euploides e a taxa de nascimento de nados vivos revelaram ser independentes da morfologia do blastocisto, o que permitiu concluir que mesmo os embriões de menor qualidade em termos morfológicos podem fornecer garantias, quer para o casal quer para os médicos, da obtenção de um bom desfecho (10). Em 2013, já tinha sido feito um

estudo piloto prospectivo para investigar a aplicabilidade da avaliação cromossômica em mulheres de idade inferior a 35 anos. Após randomização das pacientes em 2 grupos, detetou-se uma taxa de aneuploidia de 44,9% no grupo dos blastocistos biopsiados e, após transferência dos blastocistos euploides avaliados por PGT-A obteve-se uma maior taxa de gravidez clínica e uma menor taxa de aborto (75).

Um estudo realizado numa clínica chinesa em mulheres com mais de 35 anos confirmou existir um maior sucesso da técnica de eSET após a seleção embrionária com PGT-A, alcançando-se uma maior taxa de nascimento de nados vivos associada a uma menor taxa de nascimentos múltiplos e uma redução significativa da taxa de aborto espontâneo. Considerando que estas pacientes têm um risco acrescido de gerar embriões aneuploides e que estes são o fator mais importante envolvido nos abortos espontâneos, demonstrou-se o benefício potencial da aplicação desta tecnologia em minorar um dos principais eventos adversos dos ciclos de FIV (79).

Com o objetivo de avaliar o potencial benefício económico do PGT-A, um estudo italiano publicado em 2019 comparou o perfil de custo-efetividade de mulheres submetidas a eSBT sequenciais com e sem teste genético prévio. Os resultados obtidos sustentaram que este teste pode ser rentável e superar a abordagem convencional depois dos 35 anos de idade, contudo não foi possível inferir limites universais de idade e qual o número recomendado de blastocistos disponíveis uma vez que estes dados podem variar com os contextos clínicos locais e grupos populacionais específicos. Por razões de precaução, os autores decidiram favorecer a abordagem convencional e apontam que as análises de custo-efetividade merecem a máxima consideração no debate sobre a utilidade clínica do PGT-A (76).

A combinação dos vários estudos citados fornece perspectivas importantes sobre o valor do PGT-A. Vários autores afirmam existir uma maior imprecisão na seleção embrionária quando apenas é usada a morfologia convencional (10, 75, 79), testemunhando a utilidade dos testes genéticos em promover um maior sucesso da eSET, em particular nas mulheres com prognóstico comprometido, como a idade materna avançada (79). Todavia, o PGT-A é ainda uma tecnologia de aplicação clínica limitada, que deve ser introduzida de forma gradual e cuidadosamente monitorizada (72, 77, 79). Ainda não existem evidências suficientes que recomendem esta abordagem para todas as pacientes submetidas a FIV, o que justifica a necessidade de novos estudos que abordem uma seleção mais ampla de pacientes de forma a tirar adequadas conclusões sobre a sua aplicabilidade futura (77, 79). Por outro lado, também é sugerido a realização de estudos que avaliem a combinação de várias abordagens para uma seleção embrionária mais fidedigna (77).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

De um modo geral, este artigo de revisão procurou sistematizar a literatura atual e reunir as principais evidências sobre a eSET, tendo em consideração os fatores que orientam a adoção desta abordagem, as estratégias propostas para aumentar a sua implementação e os resultados maternos, neonatais e infantis subsequentes.

Ao longo dos últimos anos foram descritos avanços notáveis nas técnicas de PMA, possibilitando a concretização do desejo de inúmeros casais inférteis de alcançar uma gravidez bem-sucedida. Todavia, em paralelo, emergiu um problema que abalou a perspectiva de sucesso destes tratamentos: o aumento da incidência de gestações múltiplas.

No mundo atual, a consciencialização dos riscos inerentes à gravidez múltipla tem sofrido uma tremenda atenção, quer por parte dos profissionais de saúde, quer por parte dos casais inférteis que recorrem aos tratamentos de FIV. Na verdade, o seu impacto na saúde materna, neonatal e infantil está comprovado, a curto e a longo prazo, pelo que cada vez mais se fomenta a prática de transferir eletivamente um embrião, de forma a escapar de um mau desfecho e tentar assegurar o objetivo final da medicina reprodutiva que é a obtenção de um recém-nascido de termo, único e saudável.

A adoção da eSET tem sido um processo difícil e moroso. Inicialmente verificou-se alguma subvalorização desta abordagem devido à preocupação que esta não mantivesse taxas de sucesso semelhantes à transferência múltipla ou dupla de embriões. No entanto, vários estudos que compararam as diferentes abordagens confirmaram o benefício em transferir um menor número de embriões, com uma redução distinta da taxa de gravidez múltipla e manutenção das taxas de gravidez e de nascimento de nados vivos.

Apesar dos progressos alcançados, a identificação das melhores candidatas para uma eSET eficaz permanece ainda um desafio. A idade feminina é já considerada um dos fatores preditivos de sucesso mais fortes a ponderar em quaisquer abordagens de transferência embrionária, contudo, existe alguma controvérsia e dados insuficientes que determinem o limite superior de idade apropriado para a técnica de eSET.

Por um lado, a implementação de normas e recomendações médicas que estabeleçam um padrão de quais as pacientes que devem ser selecionadas para eSET é considerado benéfico porque promove uma maior igualdade nos cuidados atribuídos às pacientes que recorrem às técnicas de PMA. No entanto, a adoção desta política pode implicar a perda do aconselhamento personalizado e dirigido ao casal de acordo com o seu prognóstico, antecedentes, valores e preferências. Por outro lado, considera-se que a abordagem a adotar deve ser planeada entre o médico e o casal, ambos com “voz ativa” no processo de tomada

de decisão. Neste contexto, antes de dar início ao tratamento de infertilidade, é fundamental gerir as expectativas do casal e, para isso, os profissionais de saúde devem fornecer todas as informações relevantes e responder a todas as questões apresentadas, de forma precisa e objetiva. Só depois deste processo de partilha é que o casal estará em condições de tomar uma decisão, consciente e informada.

No âmbito da técnica de eSET, existem outros aspetos que merecem especial cuidado e ponderação. Devemos ter presente a ideia que a adoção desta abordagem não exclui por completo a possibilidade de ocorrerem gestações múltiplas e que existem riscos acrescidos de efeitos adversos que estão associados às técnicas da PMA e, por isso, são transversais às diferentes metodologias de transferência embrionária. A par disso, em caso de adoção da eSET, o insucesso da primeira transferência pode condicionar um atraso na obtenção de gravidez, maior tempo de tratamento e custos associados. Consequentemente, as perspetivas e experiências do casal, associadas à sua condição emocional e física podem torná-lo mais relutante em repetir a mesma abordagem. Esta situação pode ser particularmente evidente nos países onde não existe cobertura financeira das técnicas de PMA, o que destaca a influência desta no acesso aos tratamentos e na aceitabilidade da técnica de eSET.

Muita da atual investigação está centrada no desenvolvimento de métodos eficazes e precisos que possibilitem a seleção do embrião mais competente para transferência. Nesse sentido, é imperativo reconhecer a influência que os aperfeiçoamentos contínuos das técnicas de criopreservação, dos sistemas de cultura e de seleção embrionária tiveram no crescimento consistente do recurso a eSET.

A incidência crescente de transferência após criopreservação embrionária foi das estratégias que mais contribuiu para o alargamento da adoção da eSET, cujo ponto forte assenta na possibilidade de preservar os embriões supranumerários para uso em ciclos futuros. Esta prática apresenta vantagens basilares descritas como a promoção de uma melhor sincronia embrião-endométrio e uma melhor mimetização do processo de implantação natural, sendo particularmente favorável nas situações em que se pretende evitar a exposição à estimulação ovárica habitualmente realizada nos ciclos a fresco. Contudo, como as mulheres submetidas à transferência de embrião criopreservado têm vindo a apresentar um risco acrescido de pré-eclâmpsia materna, justifica-se a realização de novas investigações para uma melhor compreensão dos efeitos da criopreservação.

Relativamente à fase de desenvolvimento em que se sugere transferir o embrião, os resultados até agora demonstrados não foram inequivocamente conclusivos. Embora haja uma tendência crescente em prolongar a cultura embrionária até ao estadio de blastocisto, pela possibilidade de excluir os embriões com menor potencial de implantação, esta

abordagem não parece ser benéfica em todas as pacientes sujeitas a FIV, o que sustenta a necessidade de evidências mais conclusivas.

Passando aos métodos de seleção embrionária, é interessante ter presente a própria evolução da investigação científica até à atualidade. Para além da avaliação morfológica tradicional dos embriões, a descoberta de novas áreas de atuação tem sido notável, com particular destaque para as técnicas mais recentes que incluem a avaliação morfocinética e os testes genéticos pré-implantação. Não obstante, deve ser tido em consideração que a crescente oferta e incessante procura de novos e melhores métodos de seleção embrionária pode tornar-se uma preocupação, devido a uma maior facilidade de acesso e um presumível recurso a estes métodos sem ser necessário e devido aos possíveis riscos inerentes, como é o caso dos testes genéticos pré-implantação. Desta forma, os estudos que investigam estas estratégias não se devem limitar a comprovar a sua eficácia, mas também a sua segurança, com inclusão de análises de risco-benefício, ainda escassas nos dias de hoje. Neste âmbito, também seria oportuno o desenvolvimento de novos estudos que permitam avaliar a combinação de múltiplas abordagens de seleção embrionária.

Em conclusão, as evidências recolhidas com esta revisão são bastante promissoras e fundamentam que a eSET tem vantagens inegáveis que a podem tornar no potencial padrão de atendimento dos casais que recorrem às técnicas de PMA. No entanto, como o sucesso desta abordagem depende de múltiplos fatores, a sua adoção deve ser programada com cautela e de forma individualizada. O reconhecimento e nomeação de quais as melhores candidatas a eSET deverá ser, sem dúvida, uma área a merecer grande destaque nas investigações dos próximos anos. Questões de eficácia e de segurança aliadas ao contexto em que a eSET é implementada, o perfil prognóstico do casal infértil e as suas condições emocionais, físicas e financeiras são outros tópicos nucleares que devem permanecer nas novas e futuras investigações.

De forma global, e considerando o atual debate em torno da eSET, são ainda necessários mais estudos que comprovem os achados encontrados e que introduzam novas informações e recomendações no sentido de maximizar o sucesso desta abordagem.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Doutora Margarida Silvestre, pela disponibilidade permanente, pelo inestimável apoio, espírito crítico e pelos esclarecimentos e orientações facultados ao longo deste percurso.

Aos meus pais, pilares na minha formação, pelo apoio incondicional e pelos valores que me transmitem diariamente.

Ao meu irmão André, por estar sempre presente, pela infinita paciência e afeto.

À minha família, em especial à minha madrinha Fernanda, por todos os conselhos, motivação e dedicação.

Por fim, aos meus amigos por todas as partilhas, conselhos, palavras de incentivo e pela compreensão e carinho diários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lee AM, Connell MT, Csokmay JM, Styer AK. Elective single embryo transfer- the power of one. *Contracept Reprod Med.* 2016;1:11.
2. Fechner AJ, Brown KR, Onwubalili N, Jindal SK, Weiss G, Goldsmith LT, et al. Effect of single embryo transfer on the risk of preterm birth associated with in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet.* 2015;32(2):221-4.
3. Dziadosz M, Evans MI. Re-Thinking Elective Single Embryo Transfer: Increased Risk of Monochorionic Twinning - A Systematic Review. *Fetal Diagn Ther.* 2017;42(2):81-91.
4. Grady R, Alavi N, Vale R, Khandwala M, McDonald SD. Elective single embryo transfer and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2012;97(2):324-31.
5. Practice Committee of Society for Assisted Reproductive Technology, Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Elective single-embryo transfer. *Fertil Steril.* 2012;97(4):835-42.
6. Gelbaya TA, Tsoumpou I, Nardo LG. The likelihood of live birth and multiple birth after single versus double embryo transfer at the cleavage stage: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2010;94(3):936-45.
7. Murray SR, Norman JE. Multiple pregnancies following assisted reproductive technologies--a happy consequence or double trouble? *Semin Fetal Neonatal Med.* 2014;19(4):222-7.
8. Adashi EY, Gleicher N. Is a Blanket Elective Single Embryo Transfer Policy Defensible? *Rambam Maimonides Med J.* 2017;8(2).
9. Tobias T, Sharara FI, Franasiak JM, Heiser PW, Pinckney-Clark E. Promoting the use of elective single embryo transfer in clinical practice. *Fertil Res Pract.* 2016;2:1.
10. Vinals Gonzalez X, Odia R, Naja R, Serhal P, Saab W, Seshadri S, et al. Euploid blastocysts implant irrespective of their morphology after NGS-(PGT-A) testing in advanced maternal age patients. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(8):1623-9.
11. Bjelica A, Subanovic S. ASSESSMENT OF THE EMBRYO QUALITY IN THE PROCEDURE OF IN VITRO FERTILIZATION. *Med Pregl.* 2016;69(7-8):241-6.
12. Mancuso AC, Boulet SL, Duran E, Munch E, Kissin DM, Van Voorhis BJ. Elective single embryo transfer in women less than age 38 years reduces multiple birth rates, but not live birth rates, in United States fertility clinics. *Fertil Steril.* 2016;106(5):1107-14.

13. Stormlund S, Schmidt L, Bogstad J, Lossl K, Praetorius L, Zedeler A, et al. Patients' attitudes and preferences towards a freeze-all strategy in ART treatment. *Hum Reprod.* 2019;34(4):679-88.
14. Tiitinen A. Single embryo transfer: Why and how to identify the embryo with the best developmental potential. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2019;33(1):77-88.
15. Ezugwu E, der Burg SV. Debating Elective Single Embryo Transfer after in vitro Fertilization: A Plea for a Context-Sensitive Approach. *Ann Med Health Sci Res.* 2015;5(1):1-7.
16. Monteleone PAA, Peregrino PFM, Baracat EC, Serafini PC. Transfer of 2 Embryos Using a Double-Embryo Transfer Protocol Versus 2 Sequential Single-Embryo Transfers: The Impact on Multiple Pregnancy. *Reprod Sci.* 2018;25(10):1501-8.
17. Sazonova A, Källén K, Thurin-Kjellberg A, Wennerholm UB, Bergh C. Neonatal and maternal outcomes comparing women undergoing two in vitro fertilization (IVF) singleton pregnancies and women undergoing one IVF twin pregnancy. *Fertil Steril.* 2013;99(3):731-7.
18. La Sala GB, Morini D, Gizzo S, Nicoli A, Palomba S. Two consecutive singleton pregnancies versus one twins pregnancy as preferred outcome of in vitro fertilization for mothers and infants: a retrospective case-control study. *Curr Med Res Opin.* 2016;32(4):687-92.
19. Klenov VE, Boulet SL, Mejia RB, Kissin DM, Munch E, Mancuso A, et al. Live birth and multiple birth rates in US in vitro fertilization treatment using donor oocytes: a comparison of single-embryo transfer and double-embryo transfer. *J Assist Reprod Genet.* 2018;35(9):1657-64.
20. Mehta VP, Patel JA, Gupta RH, Shah SI, Banker MR. One Plus One Is Better Than Two: Cumulative Reproductive Outcomes Are Better after Two Elective Single Blastocyst Embryo Transfers Compared to One Double Blastocyst Embryo Transfer. *J Hum Reprod Sci.* 2018;11(2):161-8.
21. Styer AK, Luke B, Vitek W, Christianson MS, Baker VL, Christy AY, et al. Factors associated with the use of elective single-embryo transfer and pregnancy outcomes in the United States, 2004-2012. *Fertil Steril.* 2016;106(1):80-9.
22. Glujovsky D, Sueldo CE, Coscia A, De Carvalho P, Lancuba S, Martinez G, et al. Physicians and patients' motivations to perform elective single or double-embryo transfers: A nationwide survey. *Patient Educ Couns.* 2018;101(5):945-50.
23. De Geyter C, Calhaz-Jorge C, Kupka MS, Wyns C, Mocanu E, Motrenko T, et al. ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE: The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum Reprod.* 2018;33(9):1586-601.

24. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology. Guidance on the limits to the number of embryos to transfer: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2017;107(4):901-3.
25. Gleicher N, Kushnir VA, Barad DH. Is it time for a paradigm shift in understanding embryo selection? *Reprod Biol Endocrinol*. 2015;13:3.
26. Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida. Requisitos e Parâmetros de Funcionamento dos Centros de PMA; 2018 [Visitado a 29 de outubro de 2019] Disponível em: [http://www.cnpma.org.pt/profissionais/Documents/Profissionais_Requisitos_CentrosPMA_2018 .pdf](http://www.cnpma.org.pt/profissionais/Documents/Profissionais_Requisitos_CentrosPMA_2018.pdf).
27. Freeman MR, Hinds MS, Howard KG, Howard JM, Hill GA. Guidance for elective single-embryo transfer should be applied to frozen embryo transfer cycles. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(5):939-46.
28. Eum JH, Park JK, Kim SY, Paek SK, Seok HH, Chang EM, et al. Clinical outcomes of single versus double blastocyst transfer in fresh and vitrified-warmed cycles. *Clin Exp Reprod Med*. 2016;43(3):164-8.
29. Monteleone PA, Mirisola RJ, Goncalves SP, Baracat EC, Serafini PC. Outcomes of elective cryopreserved single or double embryo transfers following failure to conceive after fresh single embryo transfer. *Reprod Biomed Online*. 2016;33(2):161-7.
30. Martin C, Chang J, Boulet S, Jamieson DJ, Kissin D. Factors predicting double embryo implantation following double embryo transfer in assisted reproductive technology: implications for elective single embryo transfer. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(10):1343-53.
31. Fujimoto A, Morishima K, Harada M, Hirata T, Osuga Y, Fujii T. Elective single-embryo transfer improves cumulative pregnancy outcome in young patients but not in women of advanced reproductive age. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32(12):1773-9.
32. Tannus S, Cohen Y, Son WY, Shavit T, Dahan MH. Cumulative live birth rate following elective single blastocyst transfer compared with double blastocyst transfer in women aged 40 years and over. *Reprod Biomed Online*. 2017;35(6):733-8.
33. Tannus S, Son WY, Dahan MH. Elective single blastocyst transfer in advanced maternal age. *J Assist Reprod Genet*. 2017;34(6):741-8.
34. Alasmari NM, Son WY, Dahan MH. The effect on pregnancy and multiples of transferring 1-3 embryos in women at least 40 years old. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(9):1195-202.
35. Gleicher N, Kushnir VA, Barad DH. Risks of spontaneously and IVF-conceived singleton and twin pregnancies differ, requiring reassessment of statistical premises favoring elective single embryo transfer (eSET). *Reprod Biol Endocrinol*. 2016;14(1):25.

36. Martin AS, Chang J, Zhang Y, Kawwass JF, Boulet SL, McKane P, et al. Perinatal outcomes among singletons after assisted reproductive technology with single-embryo or double-embryo transfer versus no assisted reproductive technology. *Fertil Steril*. 2017;107(4):954-60.
37. Lei LL, Lan YL, Wang SY, Feng W, Zhai ZJ. Perinatal complications and live-birth outcomes following assisted reproductive technology: a retrospective cohort study. *Chin Med J (Engl)*. 2019;132(20):2408-16.
38. Hernandez Torres E, Navarro-Espigares JL, Clavero A, Lopez-Regalado M, Camacho-Ballesta JA, Onieva-Garcia M, et al. Economic evaluation of elective single-embryo transfer with subsequent single frozen embryo transfer in an in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection program. *Fertil Steril*. 2015;103(3):699-706.
39. van Heesch MM, van Asselt AD, Evers JL, van der Hoeven MA, Dumoulin JC, van Beijsterveldt CE, et al. Cost-effectiveness of embryo transfer strategies: a decision analytic model using long-term costs and consequences of singletons and multiples born as a consequence of IVF. *Hum Reprod*. 2016;31(11):2527-40.
40. Sutherland K, Leitch J, Lyall H, Woodward BJ. Time-lapse imaging of inner cell mass splitting with monochorionic triamniotic triplets after elective single embryo transfer: a case report. *Reprod Biomed Online*. 2019;38(4):491-6.
41. Ikemoto Y, Kuroda K, Ochiai A, Yamashita S, Ikuma S, Nojiri S, et al. Prevalence and risk factors of zygotic splitting after 937 848 single embryo transfer cycles. *Hum Reprod*. 2018;33(11):1984-91.
42. Vega M, Zaghi S, Buyuk E, Jindal S. Not all twins are monozygotic after elective single embryo transfer: analysis of 32,600 elective single embryo transfer cycles as reported to the Society for Assisted Reproductive Technology. *Fertil Steril*. 2018;109(1):118-22.
43. Roberts AD, Schmidt R, Shah M. Split happens: a case of consecutive monozygotic twin pregnancies following elective single-embryo transfer in a 40-year old woman using donor oocytes. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35(8):1529-32.
44. Saravelos SH, Zhang T, Chung JP, Sun LM, Sun Y, Li TC, et al. Monochorionic quadramniotic and triamniotic pregnancies following single embryo transfers: two case reports and a review of the literature. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(1):27-32.
45. Sunderam S, Boulet SL, Jamieson DJ, Kissin DM. Effects of patient education on desire for twins and use of elective single embryo transfer procedures during ART treatment: A systematic review. *Reprod Biomed Soc Online*. 2018;6:102-19.
46. Kreuwel IA, van Peperstraten AM, Hulscher ME, Kremer JA, Grol RP, Nelen WL, et al. Evaluation of an effective multifaceted implementation strategy for elective single-embryo transfer after in vitro fertilization. *Hum Reprod*. 2013;28(2):336-42.

47. Maheshwari A, Hamilton M, Bhattacharya S. Should we be promoting embryo transfer at blastocyst stage? *Reprod Biomed Online*. 2016;32(2):142-6.
48. Prados N, Quiroga R, Caligara C, Ruiz M, Blasco V, Pellicer A, et al. Elective single versus double embryo transfer: live birth outcome and patient acceptance in a prospective randomised trial. *Reprod Fertil Dev*. 2015;27(5):794-800.
49. Seifer DB, Wantman E, Sparks AE, Luke B, Doody KJ, Toner JP, et al. National survey of the Society for Assisted Reproductive Technology membership regarding insurance coverage for assisted reproductive technologies. *Fertil Steril*. 2018;110(6):1081-8.e1.
50. Vélez MP, Connolly MP, Kadoch IJ, Phillips S, Bissonnette F. Universal coverage of IVF pays off. *Hum Reprod*. 2014;29(6):1313-9.
51. Provost MP, Thomas SM, Yeh JS, Hurd WW, Eaton JL. State Insurance Mandates and Multiple Birth Rates After In Vitro Fertilization. *Obstet Gynecol*. 2016;128(6):1205-14.
52. Ilnitsky S, Hughes L, Tekpetey F, Abu Rafea B, Vilos G, Vilos A. Elective Single Embryo Transfer in the Setting of Funded In Vitro Fertilization: Two Years' Experience in an Ontario Hospital-Based Fertility Clinic. *J Obstet Gynaecol Can*. 2019;41(4):421-7.
53. Wei D, Liu JY, Sun Y, Shi Y, Zhang B, Liu JQ, et al. Frozen versus fresh single blastocyst transfer in ovulatory women: a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*. 2019;393(10178):1310-8.
54. Gomaa H, Baydoun R, Sachak S, Lapana I, Soliman S. Elective single embryo transfer: Is frozen better than fresh? *JBRA Assist Reprod*. 2016;20(1):3-7.
55. He QH, Wang L, Liang LL, Zhang HL, Zhang CL, Li HS, et al. Clinical outcomes of frozen-thawed single blastocyst transfer in patients requiring whole embryo freezing. *Syst Biol Reprod Med*. 2016;62(2):133-8.
56. Barsky M, St Marie P, Rahil T, Markenson GR, Sites CK. Are perinatal outcomes affected by blastocyst vitrification and warming? *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(5):603.e1-.e5.
57. Shavit T, Oron G, Weon-Young S, Holzer H, Tulandi T. Vitrified-warmed single-embryo transfers may be associated with increased maternal complications compared with fresh single-embryo transfers. *Reprod Biomed Online*. 2017;35(1):94-102.
58. Maheshwari A, Pandey S, Amalraj Raja E, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Is frozen embryo transfer better for mothers and babies? Can cumulative meta-analysis provide a definitive answer? *Hum Reprod Update*. 2018;24(1):35-58.
59. Kuroda K, Ezoe K, Kato K, Yabuuchi A, Segawa T, Kobayashi T, et al. Infertility treatment strategy involving combined freeze-all embryos and single vitrified-warmed embryo

transfer during hormonal replacement cycle for in vitro fertilization of women with hypogonadotropic hypogonadism. *J Obstet Gynaecol Res.* 2018;44(5):922-8.

60. Tannus S, Cohen Y, Henderson S, Al Ma'mari N, Shavit T, Son WY, et al. Fresh transfer of Day 5 slow-growing embryos versus deferred transfer of vitrified, fully expanded Day 6 blastocysts: which is the optimal approach? *Hum Reprod.* 2019;34(1):44-51.

61. Haikin Herzberger E, Ghetler Y, Tamir Yaniv R, Berkovitz A, Gonen O, Cohen I, et al. Time lapse microscopy is useful for elective single-embryo transfer. *Gynecol Endocrinol.* 2016;32(10):816-8.

62. Poulsen V, Ingerslev HJ, Kirkegaard K. Elective embryo transfers on Day 6 reduce implantation compared with transfers on Day 5. *Hum Reprod.* 2017;32(6):1238-43.

63. Goodman LR, Goldberg J, Falcone T, Austin C, Desai N. Does the addition of time-lapse morphokinetics in the selection of embryos for transfer improve pregnancy rates? A randomized controlled trial. *Fertil Steril.* 2016;105(2):275-85.e10.

64. Deniz FP, Encinas C, Fuente J. Morphological embryo selection: an elective single embryo transfer proposal. *JBRA Assist Reprod.* 2018;22(1):20-5.

65. Li M, Wang Y, Shi J. Do day-3 embryo grade predict day-5 blastocyst transfer outcomes in patients with good prognosis? *Gynecol Endocrinol.* 2019;35(1):36-9.

66. Hsieh CE, Lee RK, Sun FJ, Li RS, Lin SY, Lin MH, et al. Early blastulation (EB) of day 4 embryo is predictive of outcomes in single embryo transfer (SET) cycles. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2018;57(5):705-8.

67. Li M, Zhao W, Li W, Zhao X, Shi J. Prognostic value of three pro-nuclei (3PN) incidence in elective single blastocyst-stage embryo transfer. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(11):21699-702.

68. Adamson GD, Abusief ME, Palao L, Witmer J, Palao LM, Gvakharia M. Improved implantation rates of day 3 embryo transfers with the use of an automated time-lapse-enabled test to aid in embryo selection. *Fertil Steril.* 2016;105(2):369-75.e6.

69. Sciorio R, Thong KJ, Pickering SJ. Spontaneous blastocyst collapse as an embryo marker of low pregnancy outcome: A Time-Lapse study. *JBRA Assist Reprod.* 2019.

70. Bodri D, Sugimoto T, Yao Serna J, Kawachiya S, Kato R, Matsumoto T. Blastocyst collapse is not an independent predictor of reduced live birth: a time-lapse study. *Fertil Steril.* 2016;105(6):1476-83.e3.

71. Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida. Deliberação sobre Testes genéticos pré-implantação; 2019 [Visitado a 29 de outubro de 2019] Disponível em: http://www.cnpma.org.pt/profissionais/Documents/Deliberacao_PGT_MAI02019.pdf.

72. Tur-Kaspa I. Clinical management of in vitro fertilization with preimplantation genetic diagnosis. *Semin Reprod Med.* 2012;30(4):309-22.

73. Lavery S, Abdo D, Kotrotsou M, Trew G, Konstantinidis M, Wells D. Successful Live Birth following Preimplantation Genetic Diagnosis for Phenylketonuria in Day 3 Embryos by Specific Mutation Analysis and Elective Single Embryo Transfer. *JIMD Rep.* 2013;7:49-54.
74. Beyer CE, Lewis A, Willats E, Mullen J. Preimplantation genetic testing using Karyomapping for a paternally inherited reciprocal translocation: a case study. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(5):951-63.
75. Yang Z, Liu J, Collins GS, Salem SA, Liu X, Lyle SS, et al. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. *Mol Cytogenet.* 2012;5(1):24.
76. Somigliana E, Busnelli A, Paffoni A, Vigano P, Riccaboni A, Rubio C, et al. Cost-effectiveness of preimplantation genetic testing for aneuploidies. *Fertil Steril.* 2019;111(6):1169-76.
77. Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology, Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. The use of preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A): a committee opinion. *Fertil Steril.* 2018;109(3):429-36.
78. Ma GC, Chen HF, Yang YS, Lin WH, Tsai FP, Lin CF, et al. A pilot proof-of-principle study to compare fresh and vitrified cycle preimplantation genetic screening by chromosome microarray and next generation sequencing. *Mol Cytogenet.* 2016;9:25.
79. Ubaldi FM, Capalbo A, Colamaria S, Ferrero S, Maggiulli R, Vajta G, et al. Reduction of multiple pregnancies in the advanced maternal age population after implementation of an elective single embryo transfer policy coupled with enhanced embryo selection: pre- and post-intervention study. *Hum Reprod.* 2015;30(9):2097-106.