

Assisted hatching em reprodução assistida: uma meta-análise de ensaios clínicos controlados

Assisted hatching in assisted reproduction: a meta-analysis of clinical controlled trials

Wellington de Paula Martins¹
Isa Alves Rocha²
Carolina Oliveira Nastri³
Rui Alberto Ferriani⁴

Palavras-chave

Técnicas reprodutivas
Zona pelúcida
Transferência embrionária

Keywords

Reproductive techniques
Zona pellucida
Embryo transfer

Resumo

O objetivo desta meta-análise foi avaliar o efeito da *assisted hatching* (AH) sobre os resultados dos ciclos de reprodução assistida: gravidez clínica, nascimento vivo, gestação múltipla, aborto e implantação embrionária, sendo avaliados os artigos publicados em periódicos indexados ao PubMed por dois autores independentes. Foram levantados 51 ensaios clínicos controlados que avaliaram o efeito da AH, sendo 40 excluídos, resultando em 11 artigos completamente avaliados. Não houve diferença significativa na taxa de gestação clínica (44,41 *versus* 41,30%; $p=0,19$, AH *versus* controle, respectivamente) e na taxa de nascimento vivo (36,33 *versus* 34,79%, $p=0,63$), porém, foi identificada uma tendência de aumento na taxa de gestação múltipla (18,44 *versus* 15,02%, $p=0,05$). Também não foi identificada diferença significativa na taxa de aborto (6,66 *versus* 6,21%, $p=0,83$), mas observou-se um aumento significativo na taxa de implantação embrionária (24,32 *versus* 21,23%, $p=0,02$). A partir desses resultados, pode-se concluir que, até o momento, não existe evidência suficiente para suportar o uso da AH de rotina para ciclos de reprodução assistida com transferência de embriões frescos, uma vez que não houve aumento na taxa de gravidez clínica e/ou na taxa de nascimento vivo.

Abstract

The aim of this meta-analysis was to evaluate the effect of assisted hatching on the outcome of assisted reproduction cycles: clinical pregnancy, live birth, multiple pregnancy, abortion and embryonic implantation, by assessing articles published in journals indexed in PubMed by two independent authors. Fifty-one controlled trials that evaluated the effect of assisted hatching were analyzed, and 40 of them were excluded, resulting in 11 articles fully assessed. There was no significant difference in clinical pregnancy rate (44.41 *versus* 41.30%, $p=0.19$, assisted hatching *versus* control, respectively), and in the live birth rate (36.33 *versus* 34.79%, $p=0.63$), but we identified a trend toward increased rate of multiple pregnancies (18.44 *versus* 15.02%, $p=0.05$). We also did not identify any significant difference in the rate of abortion (6.66 *versus* 6.21%, $p=0.83$), but a significant increase in the rate of embryo implantation was observed (24.32 *versus* 21.23%, $p=0.02$). From these results, we have concluded that, until now, there is not sufficient evidence to support the use of assisted hatching for routine assisted reproduction cycles with fresh embryo transfer, since there has not been an increase in clinical pregnancy rate and/or the rate of live birth.

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo (SP), Brasil
¹ Médico assistente no setor de Reprodução Humana da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP; Professor Associado da Escola de Ultrassonografia de Ribeirão Preto (SP), Brasil

² Aluna do curso de pós-graduação (Mestrado) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil

³ Aluna do curso de pós-graduação (Doutorado) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil

⁴ Professor Titular da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP – Ribeirão Preto (SP), Brasil

Endereço para correspondência: Wellington de Paula. Martins – Avenida dos Bandeirantes, 3.900 – Monte Alegre – CEP 14049-900 – Ribeirão Preto (SP), Brasil – E-mail: wpmartins@gmail.com

Introdução

A taxa de implantação de embriões (número de embriões que irão implantar e formar um saco gestacional dividido pelo número de embriões transferidos) em procedimentos de reprodução assistida é de aproximadamente 20%, o que leva a uma pequena taxa de gravidez clínica por ciclo iniciado – algo em torno de 35% – e ainda menor de nascidos vivos: aproximadamente 25%^{1(A)}. Melhorar essas taxas é um dos principais objetivos dos profissionais envolvidos em reprodução assistida, o que os levou a buscar um maior recrutamento folicular e subsequente maior número de embriões para aumentar as chances de gravidez, seja pela transferência de múltiplos embriões ou para o congelamento dos embriões sobressalentes que poderão ser utilizados em futuros ciclos². Acredita-se que problemas com a qualidade do embrião, com a receptividade endometrial ou ambos sejam o principal motivo dessa baixa taxa de implantação. Outra hipótese levantada seria a falha na eclosão embrionária³.

O embrião humano é cercado por uma camada de glicoproteína (zona pelúcida) que, durante a fertilização, previne a entrada de múltiplos espermatozoides. Após a fertilização, a zona pelúcida mantém o embrião compactado, facilitando a passagem deste pelas trompas uterinas até a cavidade endometrial, e protegendo-o de microorganismos e células imunológicas. No estágio de blastocisto o embrião então eclode dessa camada protetora para iniciar o processo de implantação, e a falha nessa etapa pode impedir esse processo. A ruptura artificial da zona pelúcida é conhecida como *assisted hatching* (AH), sendo essa técnica reportada em humanos desde o início da década de 1990 na tentativa de melhorar as chances de implantação e gravidez clínica após um ciclo de reprodução assistida³. Com o uso de meios mecânicos⁴, químicos⁵, enzimáticos⁶ e laser⁷, a AH pode ser realizada seja por meio do afinamento, da realização de um furo ou pela completa remoção da zona pelúcida.

Alguns estudos avaliaram a realização de AH proposta apenas quando as mulheres e/ou os embriões apresentavam características especiais relacionadas com uma menor chance de gravidez (idade acima de 37 anos, FSH elevado, falhas repetidas de implantação, transferência de embriões descongelados e embriões com zona pelúcida espessa). Entretanto, uma série de estudos já avaliou se há benefício em realizar a AH para todas as mulheres submetidas a ciclos de reprodução assistida. A *American Society for Reproductive Medicine* reporta não haver atualmente evidência suficiente para recomendar a aplicação universal dessa técnica em todos os ciclos de reprodução assistida⁸, porém, o tamanho das amostras individuais dos estudos poderia dificultar a demonstração de um pequeno benefício: por exemplo, seria necessária uma amostra de

1.470 mulheres por grupo para se demonstrar um aumento de 35 para 40% na taxa de gravidez clínica com poder de 80%, o que nenhum estudo isolado avaliou até o momento. Esta meta-análise avalia o resultado de 11 ensaios clínicos que compararam o efeito da AH em embriões frescos sobre a taxa de gravidez clínica, nascidos vivos, gestação múltipla, aborto e taxa de implantação em mulheres inférteis que não apresentam características que reduzam a chance de gravidez, submetidas à transferência de embriões frescos, sem características especiais.

Métodos

Para realizar esta meta-análise, tentamos seguir as orientações descritas pelo *Quality of Reporting of Meta-analyses conference* (QUOROM)⁹, obedecendo às normas para publicação da revista *Femina*.

Inclusão dos estudos

Para selecionar os estudos foram utilizados os seguintes critérios de inclusão: ensaios clínicos que compararam ciclos de reprodução assistida nos quais embriões foram submetidos à AH (laser, mecânica, química ou enzimática) e publicados na forma de artigo completo em revista indexada no PubMed (Medline). Não foram incluídas outras meta-análises por não trazerem nenhum dado adicional. Dessa busca retornaram 51 artigos. A pesquisa dos artigos foi realizada via internet por dois autores (IAR e WPM) de forma independente na primeira quinzena de abril de 2010.

Estudos excluídos

Desses 51 artigos, 40 foram excluídos por apresentarem as seguintes características: dez artigos devido à falta de Grupo Controle, nos quais mulheres foram submetidas à transferência de embriões sem manipulação da zona pelúcida; 3 artigos foram excluídos devido à distribuição das mulheres entre os grupos não ter sido aleatória; 18 artigos por terem avaliado mulheres apenas de grupos específicos (idade avançada, não-ocorrência de implantação em ciclos prévios de reprodução assistida, FSH elevado, endometriose) e mais 6 por incluírem somente embriões com características específicas (descongelados ou com zona pelúcida espessa); um estudo foi excluído por não relatar gravidez clínica; outro, por não ter realizado a transferência dos embriões, e mais um devido aos resultados serem contraditórios: o número de implantações embrionárias foi menor que o número de gestações clínicas (16 implantações embrionárias e 21 gestações) no grupo de mulheres cujos embriões foram submetidos à AH, o que seria impossível¹⁰.

Coleta dos dados

Os mesmos dois autores independentes que levantaram os estudos realizaram a coleta dos dados dos 11 ensaios clínicos relacionados à AH que não foram excluídos^{4,5,10-18}. Os seguintes eventos foram avaliados nos dois grupos (mulheres cujos embriões foram submetidos à AH ou controle):

- 1- número total de mulheres alocadas para cada grupo;
- 2- número total de embriões transferidos;
- 3- gestação clínica: número de pacientes que obtiveram gestação evidenciada por meio de exames de ultrassonografia em que eram visualizados embriões com batimentos cardíacos;
- 4- gestação múltipla: número de mulheres com gestação clínica nas quais foi evidenciada a presença de mais de um embrião por meio da ultrassonografia;
- 5- nascimento vivo ou gravidez viável: avaliamos esses dois eventos como única variável, pois ambos se relacionam com gestação clínica que não evolui com aborto;
- 6- abortos: número de mulheres que sofreram perda gestacional após diagnóstico de gestação clínica até a 20ª semana de gestação;
- 7- número de implantações: número de sacos gestacionais evidenciados por meio de exames de ultrassonografia.

Nos estudos que continham dados separados referentes a embriões descongelados e mulheres de grupos específicos, apenas os dados referentes a embriões frescos e a mulheres sem características especiais foram considerados. Todas as discrepâncias quanto à coleta de dados dos estudos foram solucionadas a partir de discussões entre os dois autores que realizaram a coleta dos dados. Os 11 artigos avaliados apresentavam número de gestação clínica^{4,5,10-18}, porém, alguns não relataram dados a respeito de nascidos vivos^{10,12,18}, gestação múltipla^{10,12}, aborto^{10,14} ou número total de embriões transferidos e implantações embrionárias¹⁰. De oito estudos com resultados sobre nascimento vivo/gestação viável, seis reportaram o nascimento vivo^{5,11,13,14,16}, enquanto dois relataram a gravidez viável^{4,15}.

Análise estatística

Para a análise estatística foi utilizado o programa *Review Manager* (RevMan) Versão 5.0. (The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, Copenhagen). Para a avaliação dos dados, expressamos resultados para cada estudo e para a meta-análise como um *Odds Ratio* e seu respectivo intervalo de confiança de 95% por meio do método de Mantel-Haenszel para avaliação do efeito aleatório. A heterogeneidade entre resultados dos diferentes ensaios foi avaliada através do teste χ^2 e I^2 .

Atualmente o I^2 é o teste preferido para avaliar inconsistência entre os estudos, por descrever a porcentagem de variabilidade do efeito estimado que é devido à heterogeneidade ao invés da amostragem (acaso)¹⁹. Um guia para interpretação do I^2 é descrito pela Cochrane¹⁹: I^2 : 0 to 40%: não deve ser relevante; 30 to 60%: pode haver moderada heterogeneidade; 50 to 90%: pode representar heterogeneidade substancial; 75 to 100%: heterogeneidade considerável. Portanto, apesar de serem utilizados diferentes tipos de tratamento (laser, mecânico, químico e enzimático), não foi demonstrada heterogeneidade significativa entre eles, para nenhum dos desfechos clínicos avaliados. Consideramos $p < 0,05$ como nível de significância estatística e um aumento relativo de 20% nos resultados como de relevância clínica, para determinação do poder do teste.

Resultados

Os dados referentes ao método utilizado para a realização da manipulação da zona pelúcida e do procedimento de ocultar a informação sobre a realização ou não da EA dos participantes e/ou dos observadores (quem realizaria a transferência de embriões) dos 11 estudos avaliados estão descritos na Tabela 1. Para nenhum dos parâmetros avaliados foi observada heterogeneidade significativa entre os resultados dos estudos incluídos (Figura 1-5).

Quanto ao efeito da AH sobre os parâmetros avaliados, não foi observada diferença significativa na taxa de gestação clínica (481 gestações em 1.083 mulheres=44,41 *versus* 418 gestações em 1.012 mulheres=41,30%, $p=0,19$, grupo de mulheres submetidas à EA *versus* controle, respectivamente, Figura 1), nem na taxa de nascimento vivo (291 nascimentos em 801 mulheres=36,33 *versus* 255 nascimentos em 733 mulheres=34,79%, $p=0,63$, grupo de mulheres submetidas à EA *versus* controle, respectivamente, Figura 2), porém, sendo identificada uma tendência de aumento na taxa de gestação múltipla (170 gestações múltiplas em 922 mulheres=18,44 *versus* 128 gestações múltiplas em 852 mulheres=15,02%, $p=0,05$, grupo de mulheres submetidas a EA *versus* controle, respectivamente (Figura 3).

Também não foi identificada diferença significativa entre os grupos na taxa de aborto (39 abortos em 586 mulheres=6,66 *versus* 33 abortos em 531 mulheres=6,21%, $p=0,83$, grupo de mulheres submetidas à EA *versus* controle, respectivamente (Figura 4); porém, foi observado um aumento significativo na taxa de implantação embrionária (633 sacos gestacionais resultantes de 2.599 embriões transferidos=24,32% *versus* 521 sacos gestacionais resultantes de 2.454 embriões transferidos=21,23%, $p=0,02$, embriões submetidos à EA *versus* embriões controle, respectivamente (Figura 5).

Tabela 1 – Descrição do método utilizado para a realização da assisted hatching (AH) e sobre o cuidado de ocultar as informações sobre a realização dessa intervenção aos participantes do estudo (casais submetidos ao ciclo de reprodução assistida) e aos observadores do estudo (médicos que iriam realizar a transferência dos embriões)

Estudo	Método para AH	Realização de AH oculta	
		Participantes	Observadores
Balakier et al. ¹¹	Laser	sim	sim
Baruffi et al. ¹²	Laser	não/incerto	não/incerto
Cohen et al. ¹³	Ácido (Tyrode)	sim	sim
Ge et al. ¹⁴	Laser	sim	sim
Hellebaut et al. ⁴	Mecânica	não/incerto	não/incerto
Hurst et al. ⁵	Ácido (Tyrode)	não/incerto	não/incerto
Isik et al. ¹⁵	Enzimático (pronase)	não/incerto	não/incerto
Ma et al. ¹⁶	Ácido (Tyrode)	sim	sim
Sagoskin et al. ¹⁷	Laser	não/incerto	sim
Tucker et al. ¹⁰	Ácido (Tyrode)	não/incerto	não/incerto
Urman et al. ¹⁸	Enzimático (pronase)	não/incerto	não/incerto

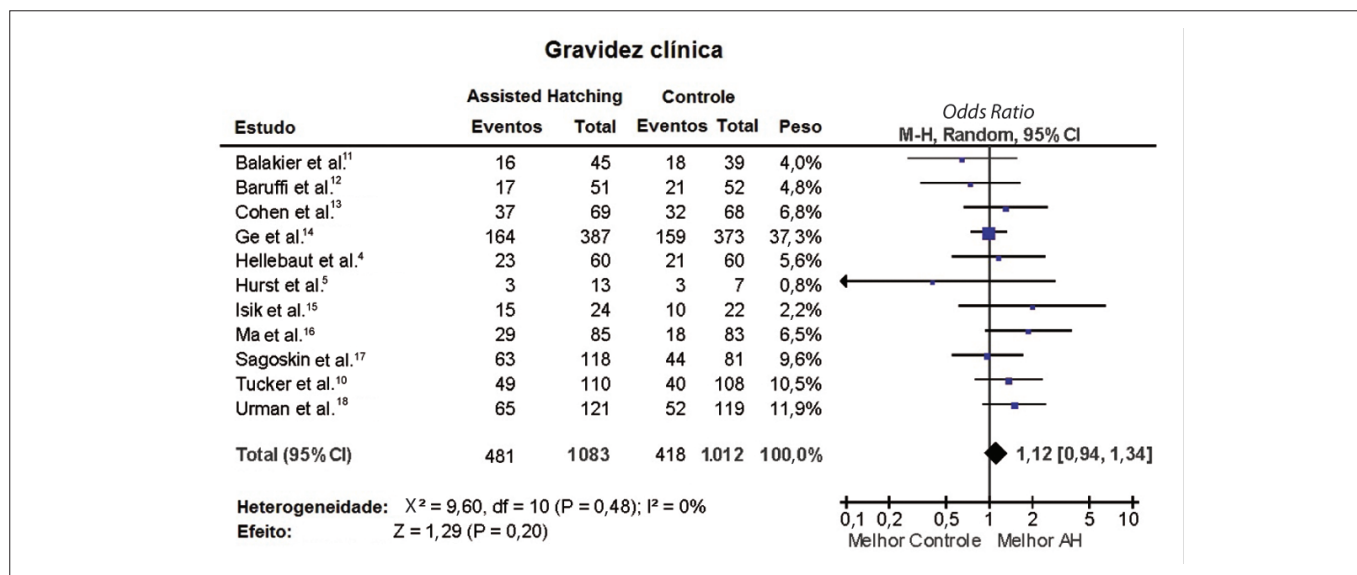


Figura 1 - Comparação do número de gestação clínica entre o Grupo Submetido a Assisted Hatching (AH) e o Grupo Controle.

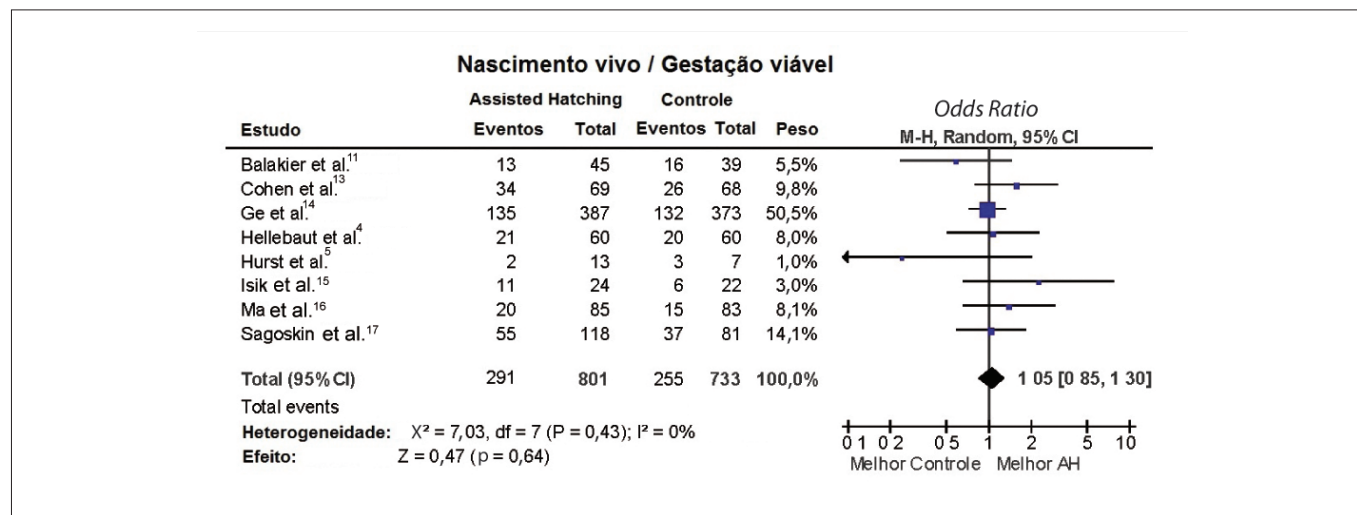


Figura 2 - Comparação do número de nascimentos vivos/gravidez viável entre o Grupo Submetido a Assisted Hatching (AH) e o Grupo Controle.

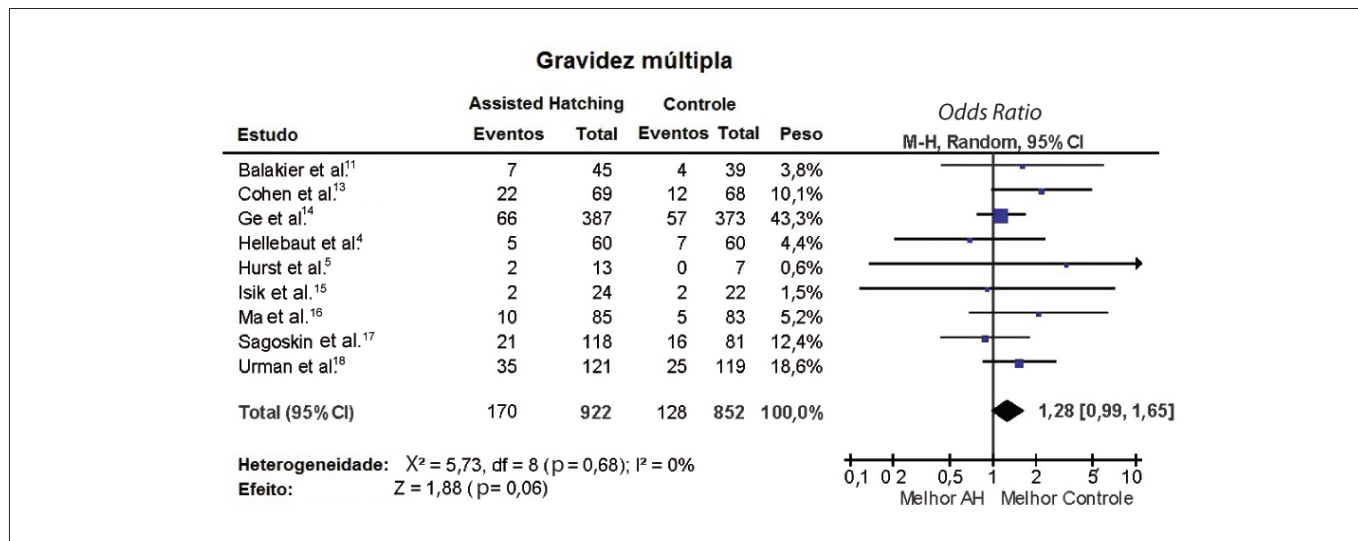


Figura 3 - Comparação do número de gravidez múltipla entre o grupo submetido a assisted hatching (AH) e o Grupo Controle.

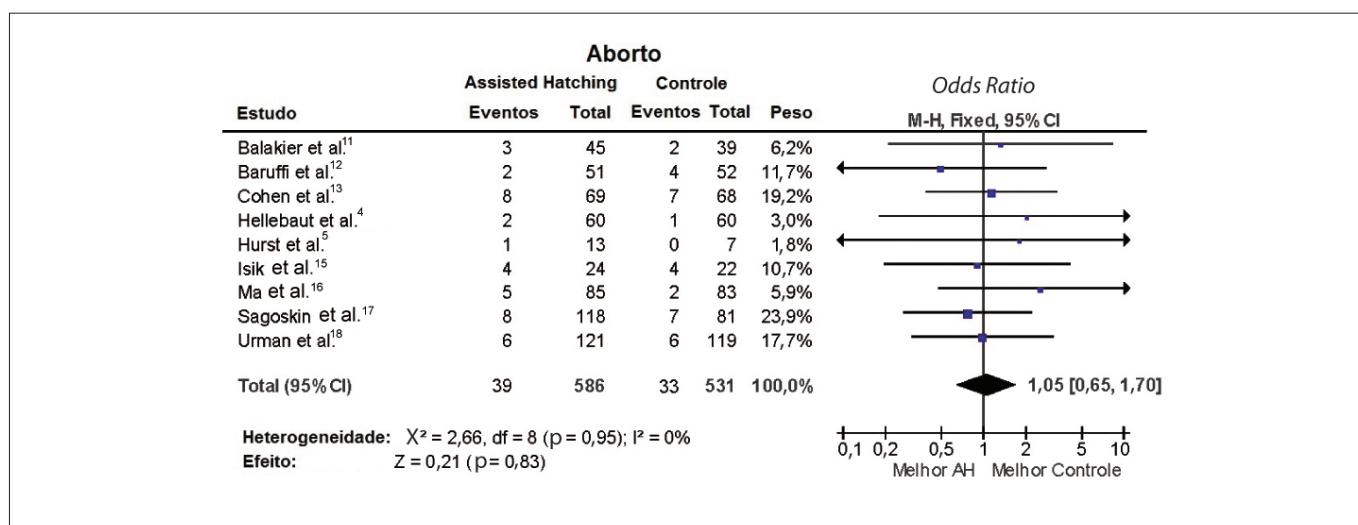


Figura 4 - Comparação do número de abortos entre o grupo submetido a assisted hatching (AH) e o Grupo Controle.

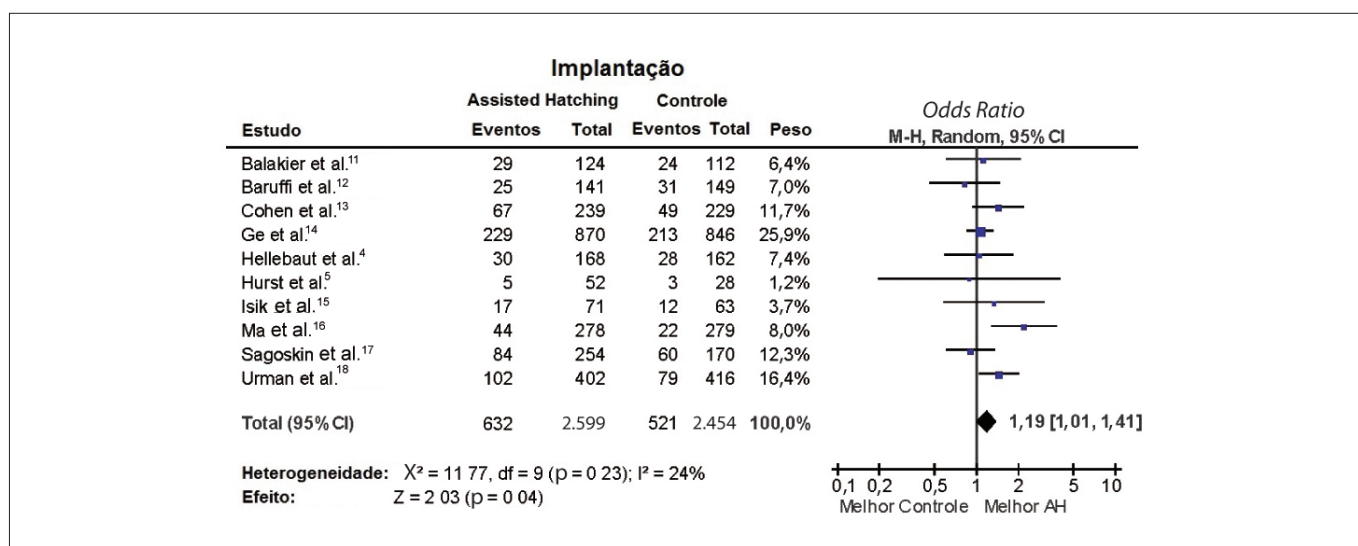


Figura 5 - Comparação do número de implantações embrionárias entre o grupo submetido a assisted hatching (AH) e o Grupo Controle

Discussão

Existem três possíveis mecanismos pelos quais a AH poderia melhorar a implantação do embrião: a própria fertilização e cultivo celular²⁰(B) ou a criopreservação²¹(B) poderiam endurecer a zona pelúcida dificultando a eclosão, e essa dificuldade poderia ser resolvida por meio da realização de AH; pois esta demonstrou estar associada a uma antecipação da eclosão em humanos²²(B), o que é particularmente relevante, uma vez que o curto período no qual o endométrio apresenta a sua melhor receptividade (ou “janela de implantação”) parece ser antecipado em 1-2 dias nos ciclos de reprodução assistida, quando se utilizam gonadotrofinas exógenas, se comparado aos ciclos naturais²³(B); a abertura artificial também poderia servir como um canal para a troca de metabólitos, fatores de crescimento e mensagens entre embriões e o endométrio¹³(D).

Apesar dessas explicações biologicamente plausíveis, mesmo após 20 anos o efeito da realização da AH sobre os principais resultados da fertilização *in vitro* ainda permanece controverso, principalmente para mulheres com boas chances de engravidar. A *American Society for Reproductive Medicine* reporta não haver atualmente evidência suficiente para recomendar a aplicação universal dessa técnica em todos os ciclos de reprodução assistida⁸(A), porém, o tamanho das amostras individuais dos estudos poderia dificultar a demonstração de um pequeno benefício: por exemplo, seria necessária uma amostra de 1.470 mulheres por grupo para se demonstrar um aumento de 35% para 40% na taxa de gravidez clínica com poder de 80%, o que nenhum estudo isolado avaliou até o momento. Dessa maneira, muitos centros de reprodução assistida oferecem essa técnica como uma abordagem para melhorar a chance de sucesso.

Buscando uma resposta para essa dúvida, uma recente meta-análise publicada em 2009 avaliou o efeito da AH sobre os resultados de reprodução assistida²⁴(A). Mesmo assim, resolvemos repetir tal meta-análise devido aos seguintes pontos:

1. A meta-análise anterior considerou a realização de AH tanto em embriões congelados quanto frescos, e tanto em mulheres com características específicas (idade avançada, mais de duas falhas prévias) quanto com chances normais de engravidar. Tal heterogeneidade dificulta muito a interpretação dos resultados. Nesta meta-análise foi avaliado apenas o efeito da AH realizada em embriões frescos transferidos em mulheres com chances normais de engravidar.
2. Uso de um teste estatístico mais adequado: utilizamos o cálculo do *Odds Ratio* pelo Mantel-Haenszel considerando efeito aleatório (e não efeito fixo, como na meta-análise anterior), o que é mais adequado, visto que a AH pode ser

realizada por meio de vários métodos distintos (laser, químico, enzimático, mecânico), e o teste de Mantel-Haenszel, de efeito fixo, assume que a intervenção é a mesma em todos os estudos.

3. Exclusão de um estudo com dados contraditórios¹⁰ em que o número de implantações embrionárias foi menor que o número de gestações clínicas.
4. Inclusão de novos estudos^{11,14,16} com grande número de sujeitos avaliados, o que aumentou muito o poder do teste. Esses três estudos representaram, por exemplo, 47% do peso dos estudos considerando o evento gravidez clínica e 63% do peso considerando o evento nascimento vivo/gravidez viável.

Gestação clínica

Os 11 estudos avaliados apresentaram resultados a respeito de gestação clínica e nenhum deles apresentou melhora significativa nessas taxas com a realização de AH, não sendo observada heterogeneidade significativa entre os resultados. Alguns estudos mais recentes e com grande número de ciclos avaliados ainda realizaram divisão em subgrupos de pacientes abaixo de 35 anos ou ≥ 35 anos e, ainda assim, não apresentaram diferença nos resultados de gestação clínica em nenhum desses subgrupos^{14,16}(A). Os resultados desta meta-análise também não mostraram diferença significativa entre os grupos para esse desfecho clínico, não sendo também observada heterogeneidade significativa entre os estudos.

Considerando-se a taxa de gravidez clínica observada no Grupo Controle de 41% e um aumento mínimo com relevância clínica de 20%, a realização de EA somente teria real impacto positivo caso elevasse a taxa de gravidez clínica para 49% ou mais. Para se ter um poder de 80% de se detectar tal diferença, seria necessário avaliar aproximadamente 600 ciclos por grupo. Em nossa meta-análise, tivemos mais de 1.000 ciclos por grupo considerando este desfecho clínico, o que leva a um poder de 95% de se detectar tal diferença, caso ela exista. Podemos concluir, então, que é muito improvável que a realização de AH leve a tal melhora.

Nascidos vivos /gravidez viável

Oito estudos descreveram esse resultado – seis para nascimento vivo^{5,11,13,14,16} e dois para gravidez viável^{4,15} – não havendo diferença significativa entre eles. Também não foi observada heterogeneidade significativa entre os resultados desses oito estudos. Os resultados de nossa meta-análise também não mostraram diferença significativa entre os grupos para esse desfecho clínico, não sendo observada heterogeneidade significativa entre os estudos.

Considerando-se a taxa de nascimento vivo/gravidez viável observada no Grupo Controle (35%) e um aumento mínimo com relevância clínica de 20%, a realização de AH somente teria real impacto positivo caso elevasse a taxa de nascimento vivo/gravidez viável para 42% ou mais. Para se ter um poder de 80% de se detectar tal diferença, seria necessário avaliar aproximadamente 750 ciclos por grupo, que foi exatamente o número avaliado para esse desfecho clínico. Podemos concluir, então, que é pouco provável que a realização de AH leve a tal melhora.

Gestação múltipla

Resultados quanto à gestação múltipla foram descritos em nove estudos, sem diferença significativa em nenhum deles. Porém, na avaliação global, nota-se uma tendência a uma maior taxa desse evento no grupo submetido à AH (15,0 *versus* 18,4%, $p=0,05$, Grupo Controle *versus* AH respectivamente). Não foi observada heterogeneidade significativa entre os resultados dos nove estudos avaliados.

Considerando a taxa de gestação múltipla observada no Grupo Controle (15%) e um aumento mínimo com relevância clínica de 20%, a realização de AH somente teria real impacto negativo caso elevasse a taxa de gestação múltipla para 18% ou mais, que foi exatamente o observado em nossa meta-análise. Entretanto, para ter um poder de 80% de se detectar tal diferença, seria necessário avaliar aproximadamente 2.400 ciclos por grupo, enquanto apenas aproximadamente 900 ciclos por grupo foram avaliados em nossa meta-análise. Isso nos leva a pensar que, caso o número de casos fosse um pouco maior, provavelmente haveria diferença estatisticamente significativa. Podemos concluir que é relativamente provável que a realização de AH aumente, de maneira clinicamente relevante, o número de gestações múltiplas.

Aborto

Nove estudos avaliados apresentaram resultados referentes à taxa de aborto sem diferença estatisticamente significativa em nenhum deles, o que também foi o resultado de nossa meta-análise. Também para o aborto não foi observada diferença significativa entre os resultados dos nove estudos avaliados.

Entretanto, o número de casos avaliados foi muito pequeno para se ter qualquer conclusão a respeito de mudanças com relevância clínica nesse evento. Considerando a taxa de aborto observada no Grupo Controle, de 6,2%, e um aumento mínimo com relevância clínica de 20%, a realização de AH somente teria real impacto negativo caso elevasse a taxa de aborto para 7,4% ou mais. Entretanto, para ter um poder de 80% de se detectar tal diferença, seria necessário avaliar aproximadamente 6.700 ciclos por grupo, enquanto apenas aproximadamente 550 ciclos

por grupo foram avaliados em nossa meta-análise, o que não permite nenhuma conclusão acerca desse desfecho clínico.

Implantação embrionária

Na revisão realizada, dez estudos apresentaram resultados de taxas de implantação. Considerando os estudos de maneira isolada, encontramos aumento significativo na taxa de implantação em apenas dois^{16,18}(A), o qual também foi o resultado encontrado em nossa meta-análise, não sendo observada heterogeneidade significativa entre os resultados dos estudos avaliados.

Considerando a taxa de implantação embrionária observada no Grupo Controle, de 21,2%, e um aumento mínimo com relevância clínica de 20%, a realização de AH somente teria real impacto positivo caso elevasse a taxa de implantação para 25,4% ou mais. Para ter um poder de 80% de se detectar tal diferença, seria necessário avaliar aproximadamente 1.700 embriões transferidos. Em nossa meta-análise, tivemos aproximadamente 2.500 embriões transferidos por grupo, o que levaria a um poder de 95% de se detectar tal diferença. Em nossa meta-análise houve um aumento estatisticamente significativo, porém discretamente abaixo do mínimo com relevância clínica (de 21,2% para 24,3%; $p=0,04$; aumento relativo=14,6%). Podemos concluir, então, que a AH aumenta a taxa de implantação embrionária, porém, com pouca relevância clínica, uma vez que o aumento relativo foi inferior a 20%.

Considerações finais

Apesar de a reprodução assistida ser uma técnica relativamente recente, tem sofrido diversas modificações sempre no intuito de obter melhora nos resultados desejados. Com a realização desta meta-análise, podemos concluir que, até o momento, não existe evidência suficiente para suportar o uso rotineiro de AH para ciclos de reprodução assistida com transferência de embriões frescos, pois apesar de aumentar discretamente a taxa de implantação, o aumento absoluto observado foi pequeno (e associado a uma tendência à maior taxa de gestação múltipla, não repercutindo em um aumento significativo na taxa de gravidez clínica e/ou na taxa de nascimento vivo/gravidez viável. Ainda devemos considerar a elevação dos custos associados a tal procedimento e a elevação do risco gestacional com possível aumento no número de gestações múltiplas. Outro ponto interessante foi que, apesar da AH poder ser realizada por vários métodos distintos, quando consideramos apenas mulheres sem características especiais e a AH sendo realizada apenas em embriões frescos, os resultados não são muito diferentes, uma vez que não foi notada heterogeneidade significativa entre os resultados dos diferentes trabalhos para nenhum dos parâmetros avaliados.

Leituras suplementares

1. Gunby J, Bissonnette F, Librach C, Cowan L. Assisted reproductive technologies (ART) in Canada: 2006 results from the Canadian ART Register. *Fertil Steril*. 2010;93(7):2189-201.
2. Jungheim ES, Ryan GL, Levens ED, Cunningham AF, Macones GA, Carson KR, et al. Embryo transfer practices in the United States: a survey of clinics registered with the Society for Assisted Reproductive Technology. *Fertil Steril*. Epub 2009.
3. Cohen J, Elsner C, Kort H, Malter H, Massey J, Mayer MP, et al. Impairment of the hatching process following IVF in the human and improvement of implantation by assisting hatching using micromanipulation. *Hum Reprod*. 1990;5(1):7-13.
4. Hellebaut S, De Sutter P, Dozortsev D, Onghena A, Qian C, Dhont M. Does assisted hatching improve implantation rates after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection in all patients? A prospective randomized study. *J Assist Reprod Genet*. 1996;13(1):19-22.
5. Hurst BS, Tucker KE, Awoniyi CA, Schlaff WD. Assisted hatching does not enhance IVF success in good-prognosis patients. *J Assist Reprod Genet*. 1998;15(2):62-4.
6. Sifer C, Sellami A, Poncelet C, Kulski P, Martin-Pont B, Bottero J, et al. A prospective randomized study to assess the benefit of partial zona pellucida digestion before frozen-thawed embryo transfers. *Hum Reprod*. 2006;21(9):2384-9.
7. Obruca A, Strohmer H, Sakkas D, Menezes Y, Kogosowski A, Barak Y, et al. Use of lasers in assisted fertilization and hatching. *Hum Reprod*. 1994;9(9):1723-6.
8. The role of assisted hatching in in vitro fertilization: a review of the literature. A Committee opinion. *Fertil Steril*. 2008;90(5 Suppl):S196-8.
9. Moher D, Cook DJ, Eastwood S, Olkin I, Rennie D, Stroup DF. Improving the quality of reports of meta-analyses of randomised controlled trials: the QUOROM statement. Quality of Reporting of Meta-analyses. *Lancet*. 1999;354(9193):1896-900.
10. Tucker MJ, Luecke NM, Wiker SR, Wright G. Chemical removal of the outside of the zona pellucida of day 3 human embryos has no impact on implantation rate. *J Assist Reprod Genet*. 1993;10(3):187-91.
11. Balakier H, Mandel R, Sojecki A, Motamedi G, Zaver S, Librach C. Laser zona thinning in women aged ≤ 37 years: a randomized study. *Fertil Steril*. 2009;91(4 Suppl):1479-82.
12. Baruffi RL, Mauri AL, Petersen CG, Ferreira RC, Coelho J, Franco JG, Jr. Zona thinning with noncontact diode laser in patients aged ≤ 37 years with no previous failure of implantation: a prospective randomized study. *J Assist Reprod Genet*. 2000;17(10):557-60.
13. Cohen J, Alikani M, Trowbridge J, Rosenwaks Z. Implantation enhancement by selective assisted hatching using zona drilling of human embryos with poor prognosis. *Hum Reprod*. 1992;7(5):685-91.
14. Ge HS, Zhou W, Zhang W, Lin JJ. Impact of assisted hatching on fresh and frozen-thawed embryo transfer cycles: a prospective, randomized study. *Reprod Biomed Online*. 2008;16(4):589-96.
15. Isik AZ, Vicdan K, Kaba A, Dagli G. Comparison of zona manipulated and zona intact blastocyst transfers: a prospective randomized trial. *J Assist Reprod Genet*. 2000;17(3):135-9.
16. Ma S, Rowe T, Yuen BH. Impact of assisted hatching on the outcome of intracytoplasmic sperm injection: a prospective, randomized clinical trial and pregnancy follow-up. *Fertil Steril*. 2006;85(4):895-900.
17. Sagoskin AW, Levy MJ, Tucker MJ, Richter KS, Widra EA. Laser assisted hatching in good prognosis patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer: a randomized controlled trial. *Fertil Steril*. 2007;87(2):283-7.
18. Urman B, Balaban B, Alatas C, Aksoy S, Mumcu A, Isiklar A. Zona-intact versus zona-free blastocyst transfer: a prospective, randomized study. *Fertil Steril*. 2002;78(2):392-6.
19. Higgins JP, Green S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.0.2 [updated September 2009]. The Cochrane Collaboration. Available from: www.cochrane-handbook.org. 2009.
20. DeMeestere I, Barlow P, Leroy F. Hardening of zona pellucida of mouse oocytes and embryos in vivo and in vitro. *Int J Fertil Womens Med*. 1997;42(3):219-22.
21. Carroll J, Depypere H, Matthews CD. Freeze-thaw-induced changes of the zona pellucida explains decreased rates of fertilization in frozen-thawed mouse oocytes. *J Reprod Fertil*. 1990;90(2):547-53.
22. Liu HC, Cohen J, Alikani M, Noyes N, Rosenwaks Z. Assisted hatching facilitates earlier implantation. *Fertil Steril*. 1993;60(5):871-5.
23. Nikas G, Develioglou OH, Toner JP, Jones HW, Jr. Endometrial pinopodes indicate a shift in the window of receptivity in IVF cycles. *Hum Reprod*. 1999;14(3):787-92.
24. Das S, Blake D, Farquhar C, Seif MM. Assisted hatching on assisted conception (IVF and ICSI). *Cochrane Database Syst Rev*. 2009(2):CD001894.