



COMITÊ NACIONAL DE INFERTILIDADE

NÚMERO DE EMBRIÕES PARA TRANSFERÊNCIA DURANTE A FIV/ICSI

Sofia Andrade de Oliveira¹ e Giuliano Marchetti Bedoschi²

1. Delegada Regional Nordeste da SBRH/Departamento de Ginecologia e Reprodução Assistida da Universidade do Estado da Bahia (UNEB)
2. Diretor Científico da SBRH/ Doutor em Reprodução Humana pela Universidade de São Paulo (USP)

Este boletim é o resumo traduzido do *Guideline "Number of embryos to transfer during IVF/ICSI"* de 2023 da Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia (ESHRE). O documento original está disponível na íntegra neste endereço eletrônico: <https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Embryo-transfer>

INTRODUÇÃO

A fertilização in vitro (FIV) tem evoluído significativamente ao longo das últimas décadas, permitindo que milhões de pessoas ao redor do mundo alcancem o sonho da parentalidade. No entanto, a transferência de múltiplos embriões durante os procedimentos de FIV aumentou a incidência de gestações múltiplas, o que, por sua vez, está associado a um maior risco de complicações maternas e neonatais.

Nos primeiros anos da fertilização in vitro (FIV) e da injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), os clínicos frequentemente transferiam todos os embriões disponíveis para o útero devido às baixas taxas de implantação e às condições subótimas de cultura e criopreservação de embriões. No entanto, com os avanços médicos e técnicos nas técnicas de reprodução assistida, a transferência de múltiplos embriões resultou em um número maior de gestações múltiplas quando comparado com gestações espontâneas.

A prática de transferência de embrião único (*single embryo transfer*; SET) tem se mostrado eficaz em reduzir as gestações múltiplas, sem comprometer as taxas de sucesso de gravidez. Diversas diretrizes internacionais, como as da Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia (ESHRE), recomendam essa abordagem como uma estratégia segura e eficiente, especialmente com os avanços na tecnologia de criopreservação de embriões.

O *guideline* da ESHRE utiliza uma metodologia rigorosa baseada em **níveis de evidência** e na **força da recomendação** para fornecer recomendações claras e baseadas nas melhores evidências científicas disponíveis. O nível de evidência indica a qualidade dos estudos que fundamentam cada recomendação, variando desde ensaios clínicos randomizados e revisões sistemáticas (nível I) até estudos observacionais ou opiniões de especialistas (níveis inferiores). A força da recomendação, por sua vez, é classificada em diferentes categorias: "A" para recomendações fortes, baseadas em evidências de alta qualidade; "B" para recomendações moderadas, com algumas incertezas; e "C" para recomendações mais fracas, fundamentadas em evidências limitadas ou inconsistentes. Essa abordagem permite que as diretrizes sejam aplicadas de forma eficaz, considerando as necessidades específicas dos pacientes e o contexto clínico.

O desenvolvimento dessas diretrizes é conduzido pelo **Grupo de Desenvolvimento de Diretrizes** (*guideline development group*; GDG), que é composto por especialistas em áreas-chave da medicina reprodutiva, como embriologia, endocrinologia reprodutiva, psicologia, segurança e qualidade na ART, além de representantes de pacientes e outros *stakeholders* relevantes. O GDG tem a responsabilidade de revisar as evidências disponíveis e formular recomendações com base em uma avaliação crítica e multidisciplinar, garantindo que as diretrizes sejam clinicamente relevantes e adaptadas às necessidades dos profissionais de saúde e dos pacientes.

Este boletim da Sociedade Brasileira de Reprodução Humana (SBRH) visa adaptar as recomendações da ESHRE ao contexto brasileiro, fornecendo orientações baseadas em evidências para otimizar a segurança materna e os desfechos neonatais, ao mesmo tempo em que preserva as chances de sucesso na concepção assistida.

CONSEQUÊNCIAS E RISCOS DA GESTAÇÃO MÚLTIPLA

As gestações múltiplas, embora desejadas por muitos casais, estão associadas a um aumento significativo dos riscos médicos para o binômio materno-fetal. Entre os riscos maternos, incluem-se a pré-eclâmpsia, diabetes gestacional, parto prematuro, hemorragias anteparto e pós-parto, e necessidade de cesariana. Para os recém-nascidos, os riscos incluem prematuridade, baixo peso ao nascer, admissão em unidade de terapia intensiva neonatal (UTI) e mortalidade neonatal.

Estudos demonstram que a transferência de dois ou mais embriões eleva substancialmente as taxas de gestação gemelar ou trigemelar, o que acarreta uma série de complicações obstétricas e neonatais. Em contrapartida, a transferência de um único embrião (SET) reduz significativamente esses riscos, sem comprometer as taxas de nascidos vivos, especialmente em pacientes com bom prognóstico.

Diante desses dados, o *guideline* da ESHRE apresenta uma abordagem estruturada para minimizar os riscos relacionados à transferência de múltiplos embriões, fornecendo recomendações baseadas em evidências sobre as melhores práticas para evitar gestações múltiplas de alta ordem. A seguir, detalharemos os principais pontos descritos por essa sociedade, que visam garantir maior segurança materna e neonatal, sem comprometer as taxas de sucesso dos tratamentos de reprodução assistida.

1. Riscos Clínicos Relacionados à Gestação Múltipla

1.1. Quais riscos relacionados à gravidez devem ser considerados antes da transferência de mais de um embrião?

Recomendação: Os riscos médicos que devem ser considerados antes da transferência de mais de um embrião incluem um aumento significativo nas complicações maternas, fetais e neonatais. Entre os principais riscos, destacam-se as maiores taxas de pré-eclâmpsia, diabetes gestacional, parto prematuro, hemorragias anteparto e pós-parto, além de complicações neonatais como baixo peso ao nascer, internação em UTI neonatal e aumento da mortalidade neonatal. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** B.

Recomendação do Grupo de Desenvolvimento de Diretrizes (GDG): Sempre que a transferência de mais de um embrião for cogitada, é imprescindível que o paciente receba informações claras e detalhadas sobre os riscos associados. Além disso, um termo de consentimento adicional deve ser assinado pelos pacientes, garantindo que estejam cientes das possíveis complicações.

2. Questões Financeiras Relacionadas à Gestação Múltipla

2.1. Quais questões financeiras devem ser consideradas por casais ou indivíduos que estão planejando uma gravidez única ou múltipla?

Recomendação 1: Recomenda-se que sejam avaliados os custos diretos adicionais decorrentes dos cuidados obstétricos relacionados a gestações múltiplas, bem como os custos pediátricos para o cuidado de gêmeos ou trigêmeos. Tais despesas podem incluir consultas médicas, exames adicionais, internações e cuidados neonatais. **Nível de evidência: I. Força da recomendação: B**

Recomendação 2: Deve-se considerar o impacto dos custos indiretos em casos de gestações múltiplas, como aumento nos dias de licença médica, maior necessidade de medicamentos e perda de produtividade, especialmente devido a complicações ou enfermidades das crianças. **Nível de evidência: I. Força da recomendação: C**

Recomendação do GDG: As informações sobre os custos, tanto diretos quanto indiretos, devem ser amplamente discutidas com os pacientes durante a fase de planejamento do tratamento, permitindo uma tomada de decisão bem informada.

3. Questões Psicossociais da Gravidez ou Parto Múltiplo

3.1. Quais questões psicossociais devem ser consideradas para casais ou indivíduos que tenham uma gravidez ou parto único ou múltiplo?

Recomendação: Os profissionais de saúde devem estar atentos às potenciais complicações psicossociais decorrentes de gestações múltiplas, como impacto na saúde mental pós-parto, aumento do estresse emocional e possíveis conflitos conjugais. Fatores como características de personalidade, condições sociodemográficas e a dinâmica familiar também influenciam significativamente o bem-estar mental dos pais e filhos, independentemente do número de crianças nascidas. **Nível de evidência: I. Força da recomendação: C**

Recomendação do GDG: As informações sobre as possíveis complicações psicossociais relacionadas às gestações múltiplas devem ser fornecidas aos pacientes durante a fase de planejamento, assegurando que compreendam os desafios emocionais e familiares envolvidos.

CRITÉRIOS CLÍNICOS

A decisão sobre o número de embriões a serem transferidos deve ser cuidadosamente ponderada, levando em conta uma série de fatores clínicos que podem impactar tanto as chances de sucesso quanto os riscos envolvidos no tratamento de fertilização in vitro (FIV). Diversas variáveis influenciam essa decisão, e é fundamental que cada uma delas seja avaliada no contexto individual de cada paciente.

O histórico de tentativas anteriores de FIV é um dos fatores que pode influenciar na decisão, assim como a duração do quadro de infertilidade, que pode suscitar questionamentos sobre a necessidade de transferir mais de um embrião. O histórico reprodutivo prévio da paciente, incluindo gestações anteriores, também é um aspecto a ser analisado durante o processo de tomada de decisão.

A idade da mulher é um critério crucial, uma vez que as chances de sucesso e os riscos associados variam significativamente de acordo com a faixa etária. Além disso, a resposta ovariana, seja ela baixa ou alta, pode ter implicações importantes para a escolha do número de embriões a serem transferidos.

Por fim, as características endometriais, como espessura, morfologia e presença de fluido intracavitário ou aderências, também são fatores que devem ser levados em consideração, especialmente dado o crescente interesse em biomarcadores de receptividade endometrial e seu possível impacto nas taxas de implantação.

Na sequência, serão abordadas as evidências e recomendações presentes no guideline da ESHRE, que fornecem uma base sólida para a tomada de decisão clínica quanto ao número de embriões a serem transferidos.

1. Tratamentos anteriores de ART sem sucesso

1.1. O número de ciclos de FIV sem sucesso deve ser considerado ao decidir entre a transferência de dois embriões (DET) ou de um único embrião (SET)?

Recomendação: A decisão de realizar DET em vez de SET não deve ser baseada no número de tratamentos de ART anteriores sem sucesso. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** D

Recomendação do GDG: O GDG recomenda que a transferência de um único embrião (SET) seja a prática padrão, mesmo em casos de tratamentos anteriores sem sucesso, considerando que não há evidências robustas para apoiar o uso de DET nesses cenários.

2. Duração da infertilidade

2.1. A duração da infertilidade deve ser considerada ao decidir entre DET e SET?

Recomendação: A decisão de realizar DET em vez de SET não deve ser baseada na duração da infertilidade. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** D

Recomendação do GDG: O GDG recomenda que a duração da infertilidade, embora seja um critério importante para iniciar o tratamento de FIV, não seja utilizada como fator para justificar a transferência de múltiplos embriões, mantendo o SET como a prática padrão.

3. Gravidez ou Nascimento Vivo Anterior

3.1. Gravidezes ou nascimentos vivos anteriores provenientes de ART devem ser considerados ao decidir entre DET e SET?

Recomendação: A decisão de realizar DET em vez de SET não deve ser baseada em gravidezes ou nascimentos vivos anteriores provenientes de ART. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** D

Recomendação do GDG: O GDG recomenda que a transferência de um único embrião (SET) seja a abordagem padrão, mesmo em pacientes que tiveram gravidezes ou nascimentos anteriores com sucesso, visando minimizar os riscos de gestações múltiplas.

4. Idade Feminina

4.1. A idade feminina deve ser considerada ao decidir entre DET e SET?

Recomendação 1: A decisão de realizar DET em vez de SET não deve ser baseada exclusivamente na idade da mulher. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** C

Recomendação 2: Para mulheres com menos de 38 anos, o SET deve ser recomendado. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** B

Recomendação 3: Para mulheres com 38 anos ou mais, o SET deve ser a recomendação preferida. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** D

Recomendação do GDG: O GDG recomenda fortemente o uso de SET em todas as faixas etárias para minimizar os riscos de complicações associadas à gravidez múltipla, considerando que o SET é seguro e eficaz em mulheres com menos de 38 anos e, também, em mulheres mais velhas.

5. Resposta Ovariana

5.1. A resposta ovariana deve ser considerada ao decidir entre DET e SET?

Recomendação: Para pacientes com resposta normal, recomenda-se o SET. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** D

Recomendação do GDG: O GDG recomenda o SET em pacientes com baixa ou alta resposta ovariana, visando reduzir os riscos associados a gestações múltiplas, como a síndrome de hiperestimulação ovariana (OHSS), especialmente em pacientes com alta resposta ovariana.

6. Critérios Relacionados ao Endométrio

6.1. Em ciclos de transferência de embriões frescos, os critérios endometriais devem ser considerados ao decidir entre DET e SET?

Recomendação: A decisão de realizar DET em vez de SET em ciclos frescos não deve ser baseada em características endometriais. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** D

Recomendação do GDG: O GDG recomenda que a espessura ou outras características do endométrio não sejam utilizadas como critério decisivo para realizar DET em vez de SET, mantendo a preferência pelo SET, mesmo em ciclos frescos.

6.2. Em ciclos de transferência de embriões congelados, os critérios endometriais devem ser considerados ao decidir entre DET e SET?

Recomendação: A decisão de realizar DET em vez de SET em ciclos de embriões congelados também não deve ser baseada em características endometriais. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** D

Recomendação do GDG: O GDG recomenda que a transferência de embrião único (SET) seja preferida em ciclos de embriões congelados, independentemente das características endometriais.

7. Tratamentos com Oócitos ou Embriões Doados

7.1. Deve-se aplicar uma estratégia diferente de transferência de embriões em pacientes que utilizam oócitos ou embriões doados?

Recomendação 1: Recomenda-se que apenas o SET seja realizado para pacientes submetidas a ART com óvulos doados. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** B

Recomendação 2: Recomenda-se que apenas o SET seja realizado para pacientes submetidas a ART com embriões doados. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** D

Recomendação do GDG: O GDG recomenda o SET em todos os casos de tratamento com oócitos ou embriões doados, devido ao aumento de riscos e complicações nas gestações múltiplas nesses casos.

8. Útero de Substituição

8.1. Deve-se aplicar uma estratégia diferente de transferência de embriões para gestantes de substituição?

Recomendação: Apenas o SET deve ser realizado em gestações de substituição. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** D

Recomendação do GDG: O GDG recomenda que tanto a gestante de substituição quanto os pais pretendidos sejam informados sobre os riscos aumentados de complicações, como parto prematuro e nascimentos múltiplos, associados ao DET. Portanto, o SET é fortemente recomendado.

CRITÉRIOS RELACIONADOS AO EMBRIÃO

A avaliação da qualidade do embrião é essencial para selecionar aquele com maior potencial de implantação. Entre as técnicas não invasivas, a análise morfológica ao longo do desenvolvimento pré-implantacional é amplamente utilizada. O Consenso de Istambul (2011) estabeleceu critérios específicos para embriões em estágio de clivagem e blastocistos (2). No estágio de clivagem, um embrião de boa qualidade deve ter um número adequado de blastômeros, com mínima fragmentação. Para os blastocistos, a classificação envolve o grau de expansão, a qualidade da massa celular interna e do trofotoderma.

Estudos indicam que a transferência de blastocistos pode aumentar as taxas de nascidos vivos (LBR) em comparação com embriões no estágio de clivagem, mas sem diferenças significativas quando se transfere o mesmo número de embriões. Além disso, há um pequeno risco de gemelidade monozigótica (MZT) após a transferência de embriões, sendo mais frequente com blastocistos. Esses critérios são aplicados tanto para embriões frescos quanto congelados.

A seguir, descreveremos as evidências e recomendações do *guideline* da ESHRE sobre esses critérios.

1. Transferência de Embriões Frescos

1.1. Na transferência de embriões frescos no estágio de clivagem, os critérios de qualidade dos embriões devem ser considerados ao optar por DET em vez de SET?

Recomendação: Em ciclos de transferência de embriões frescos no estágio de clivagem, a decisão de realizar DET em vez de SET não deve ser baseada nos critérios dos embriões. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** B

Recomendação do GDG: As evidências analisadas não mostram aumento nas taxas de nascidos vivos (LBR) ao comparar DET com SET em ciclos frescos com embriões de qualidade semelhante. Quando a qualidade do embrião não é levada em consideração, a transferência de dois embriões no estágio de clivagem resulta em um aumento substancial no risco de gestações múltiplas.

1.2. Na transferência de embriões frescos no estágio de blastocisto, os critérios de qualidade dos embriões devem ser considerados ao optar por DET em vez de SET?

Recomendação: Em ciclos de transferência de blastocistos frescos, a decisão de realizar DET em vez de SET não deve ser baseada na morfologia ou qualidade do blastocisto. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** B

Recomendação do GDG: Evidências robustas mostram que a transferência de dois blastocistos em ciclos frescos está associada a taxas mais altas de gravidez múltipla em comparação à transferência de um único blastocisto de boa qualidade. Além disso, dados populacionais da Suécia indicam um risco maior de morte neonatal após DET em comparação com SET.

2. Transferência de Embriões Descongelados

Recomendação do GDG: Recomenda-se a criopreservação de um embrião por dispositivo, visando facilitar a prática de SET e assegurar a rastreabilidade.

2.1. No tratamento com embriões descongelados transferidos no estágio de clivagem, os critérios de qualidade dos embriões devem ser considerados ao optar por DET em vez de SET?

Recomendação: Nos ciclos de transferência de embriões descongelados no estágio de clivagem, a decisão de realizar DET em vez de SET não deve ser baseada nos critérios de qualidade dos embriões. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** B

Recomendação do GDG: Não há justificativa para realizar DET em vez de SET com embriões descongelados no estágio de clivagem, pois o aumento da taxa de nascidos vivos com DET está associado a um aumento significativo nas taxas de gestações múltiplas.

2.2. Em ciclos de transferência de blastocistos vitrificados-aquecidos, os critérios de qualidade dos embriões devem ser considerados ao optar por DET em vez de SET?

Recomendação: Nos ciclos de transferência de blastocistos vitrificados-aquecidos, a transferência de embrião único (SET) deve ser aplicada independentemente da qualidade do blastocisto. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** D

Recomendação do GDG: A morfologia do blastocisto vitrificado-aquecido não justifica a transferência de dois embriões (DET), pois a melhoria da LBR com DET está diretamente associada a um aumento significativo na taxa de gestações múltiplas.

3. Morfocinética com Tempo Real (TL)

3.1. Parâmetros derivados da morfocinética com tempo real (TL) devem ser considerados na escolha entre DET e SET?

Recomendação: Parâmetros derivados da imagem TL para a seleção de embriões não devem ser utilizados para optar por DET em vez de SET. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** D

Recomendação do GDG: Embora laboratórios que utilizam tecnologia TL possam melhorar sua confiança na escolha de embriões para transferência ou criopreservação, não há evidências que sustentem a escolha de DET em vez de SET com base nesses parâmetros.

4. Teste Genético Pré-Implantacional (PGT-A)

4.1. O resultado do PGT-A pode ser considerado ao decidir entre DET e SET?

Recomendação: Os resultados do PGT-A não devem ser usados como critério para optar por DET em vez de SET. **Nível de evidência:** I. **Força da recomendação:** D

Recomendação do GDG: Não há estudos que comparem diretamente os resultados de SET e DET após o PGT-A. No entanto, o PGT-A é considerado uma estratégia compatível com SET, e evidências de baixa a moderada qualidade sugerem que SET após o PGT-A minimiza o risco de gestações múltiplas sem comprometer a taxa de nascidos vivos.

OUTRAS ESTRATÉGIAS PARA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

1. Transferência de mais de dois embriões

1.1. Em qualquer paciente submetida a ART, a transferência de mais de dois embriões deve ser considerada, levando em conta os riscos associados às gestações múltiplas de ordem superior?

Recomendação: A transferência de mais de dois embriões não é recomendada. **Nível de evidência:**

I. Força da recomendação: D

Recomendação do GDG: A transferência de três ou mais embriões em ciclos frescos aumenta de forma significativa e inaceitável o risco de gestações múltiplas de alta ordem, além de estar associada a um maior risco de gestações ectópicas e complicações maternas e fetais. Por esses motivos, a prática de transferir mais de dois embriões não deve ser aplicada.

ORIENTAÇÃO AO PACIENTE SOBRE A TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

1. Orientação ao Paciente

1.1. Quais questões são cruciais para a tomada de decisão sobre o número de embriões a serem transferidos e como devem ser discutidas com os pacientes?

Recomendação do GDG: O GDG recomenda que os profissionais de saúde discutam amplamente com os pacientes as questões envolvidas na decisão sobre o número de embriões a serem transferidos. Os principais tópicos a serem abordados incluem:

- 1) As consequências médicas, econômicas, sociais e psicológicas associadas à transferência de mais de um embrião, como o aumento do risco de gestações múltiplas e suas complicações;
- 2) Os desejos dos pacientes em relação à formação da família, levando em consideração a quantidade de filhos desejados e o impacto dessa decisão em suas vidas pessoais e familiares;
- 3) As recomendações clínicas baseadas nas evidências disponíveis para o caso específico do paciente, visando sempre o equilíbrio entre segurança e eficácia no tratamento.

Recomendação do GDG: É fundamental garantir o envolvimento ativo dos pacientes no processo de tomada de decisão, assegurando que a escolha final reflita tanto o julgamento clínico quanto os valores e o contexto pessoal dos pacientes. Além disso, deve-se assegurar que ambos os membros do casal participem da discussão e da decisão, quando aplicável.

CONCLUSÕES

Não há evidências que mostrem que a taxa de nascidos vivos (LBR) em transferências de embrião único (SET) seja inferior à de transferências de dois embriões (DET). Ao contrário, os dados publicados indicam claramente que a taxa de nascimentos múltiplos após DET excede significativamente a de SET, o que acarreta riscos maternos e neonatais elevados. Com base nisso, o Grupo de Desenvolvimento de Diretrizes (GDG) recomenda que o SET seja considerado o procedimento padrão, sempre que mais de um embrião estiver disponível para transferência.

As seguintes condições justificam estritamente a utilização do SET:

- Receptores de óvulos doados e embriões doados;
- Gestações com útero de substituição;
- Pacientes com risco de síndrome de hiperestimulação ovariana (OHSS), nas quais está planejada uma transferência de embrião fresco;
- Transferências de blastocistos em ciclos frescos.

Nem o estágio de desenvolvimento do embrião, nem sua morfologia na transferência, tampouco a resposta ovariana à estimulação justifica a escolha de DET em vez de SET. Além disso, é

fundamental que questões relacionadas ao número de embriões transferidos sejam discutidas de forma detalhada com os pacientes, abordando aspectos relacionados às taxas de sucesso, bem como os impactos sobre a saúde, finanças e bem-estar a curto e longo prazo, tanto para recém-nascidos únicos quanto para gêmeos.

Os pacientes devem ser informados especificamente sobre os riscos associados a uma gravidez múltipla e suas potenciais consequências no caso de optar pela transferência de dois embriões em vez de um. Quando a decisão for de transferir mais de um embrião, é necessário que um consentimento informado adicional seja obtido, assegurando que os pacientes compreendam plenamente os riscos envolvidos.

Referências:

- 1) The ESHRE guideline group on the number of embryos to transfer during IVF/ICSI, Alteri A., Arroyo G., Baccino G., Craciunas L., De Geyter C., Ebner T., Koleva M., Kordic K., Mcheik S., Mertes H., Pavicic Baldani D., Rodriguez-Wallberg K., Rugescu I., Santos-Ribeiro S., Tilleman K., Woodward B., Vermeulen N., Veleva Z. Evidence-based guideline: Number of embryos to transfer during IVF/ICSI. 2023. ESHRE, <https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Embryo-transfer>.
- 2) Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. Hum Reprod. 2011 Jun;26(6):1270-83.