

Técnicas de Reprodução Assistida

Assisted Reproduction Techniques

Juliana Polisseni¹
Martha de Oliveira Guerra²
Wanderlei Ferreira de Sá³

POLISSENI, J.; GUERRA, M. O.; SÁ, W. F. Técnicas de Reprodução Assistida. Bol. Centr. Biol. Reprod., UFJF, v. 25, p. 95-103, 2005

Resumo: Apresenta uma revisão sobre as técnicas de reprodução assistida.

Palavras-chave: Técnicas, reprodução assistida.

Introdução

A infertilidade, incapacidade de conceber, após um ano de intercurso sexual, sem uso de qualquer tipo de contraceptivo (EDWARDS; BRODY, 1995); ou dois anos quando se trata de casais jovens, na ausência de outros fatores de risco; ou antecipada para apenas seis meses em mulheres acima de 35 anos (CAMARGOS; MELO, 2001), afeta um em cada sete casais, atingindo 15 - 25% da população mundial. Estima-se que 35% das causas estejam ligadas ao fator feminino, 30% ao fator masculino, 20% relacionadas a ambos os parceiros e 15% dos casos permanecem sem um diagnóstico etiológico (EDWARDS; BRODY, 1995).

A fecundidade tem sido prejudicada pela tendência progressiva da mulher em retardar a maternidade em favor do sucesso na vida socioeconômica; pelo envelhecimento da população (CAMARGOS; MELO, 2001); mudanças no perfil social e sexual do casal; maior exposição a fatores ambientais (tabagismo,

¹ Estagiária do Centro da Biologia da Reprodução – UFJF/ Bolsista Apoio Técnico a pesquisa (CNPQ) – Embrapa Gado de Leite.

² Pesquisadora do Centro da Biologia da Reprodução – UFJF.

³ Pesquisador Embrapa Gado de Leite.

SP 3646
P. 130

B-N 1,5

10

álcool, drogas) e incidência de doenças sexualmente transmissíveis, além do aumento do uso de contraceptivos (SKULL, 2004). Trata-se de um problema médico e social grave para o qual, em algumas situações o tratamento alopático e cirúrgico é eficaz, mas quando se trata de casos de infertilidade severa o único recurso é a fertilização assistida.

Fertilização Assistida

O termo Fertilização Assistida refere-se aos procedimentos que facilitam o encontro do ovócito com o espermatozóide. Considerando-se de uma maneira mais ampla, a Fertilização Assistida engloba a Inseminação Intra-Uterina (IIU), a Fertilização *in vitro* (FIV) e Injeção Intracitoplasmática do espermatozóide (ICSI) (PASSOS, 2004).

A possibilidade de cultura do ovócito foi reconhecida no final do século dezenove, mas somente no início de 1930 utilizaram-se modelos animais (camundongos e ratos) para realização de cultura de ovócitos e capacitação espermática. Resultados positivos obtidos com fertilização e formação de zigotos permitiram a transferência de embriões para o útero, contribuindo para o estabelecimento da técnica (FRANCO JUNIOR et al., 1997). Mais tarde, métodos de coleta ovular foram propostos, enfatizando a vantagem do acompanhamento ultrassonográfico.

Ao longo da evolução da Reprodução Assistida, o conhecimento da dinâmica folicular e o uso de drogas (gonadotrofinas) permitiram o estabelecimento de diversos protocolos de estimulação ovariana e multiovulação. A supressão do hormônio endógeno luteinizante (LH) se tornou necessário nos protocolos de indução. Esquemas envolvendo longo tempo de supressão de LH, iniciando-se no estágio folicular do ciclo anterior foram denominados protocolos longos e outros, que seriam iniciados no mesmo ciclo foram denominados "Flare up" (CAMARGOS; MELO, 2001; PASSOS, 2004).

O nascimento do primeiro bebê de proveta, em 1978, na Inglaterra foi o marco inicial do sucesso das Técnicas de Reprodução Assistida (TRA). Nas duas décadas que se seguiram houve um rápido avanço científico com o desenvolvimento de complexas técnicas laboratoriais (EDWARDS; BRODY, 1989). Em 1991, a

injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) começou a ser utilizada e revolucionou o tratamento dos casais inférteis, nos quais a infertilidade estava relacionada com infertilidade masculina severa. O congelamento dos espermatozoides e, depois, do embrião tomou o tratamento mais flexível. Métodos para congelar tecido gonadal e ovócitos, ainda estão sendo investigados (KAARIANEN; EVERS-KIEBOOMS; COVIELLO, 2005). Apesar do avanço tecnológico, as taxas de implantação de gametas continuam baixas nas técnicas de Reprodução Assistida (5-30%).

Inseminação Intra-uterina (IIU)

A inseminação artificial veio com a finalidade de facilitar a chegada dos espermatozoides nas trompas num período adequado para a fertilização dos ovócitos (FIGURA 1).

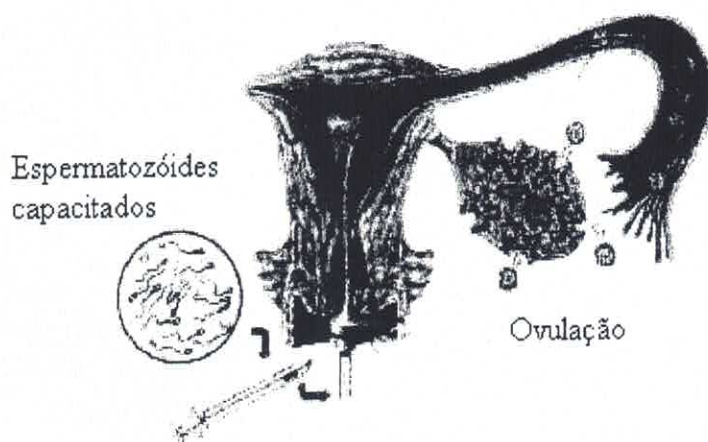


FIGURA 1- Inseminação Intra - Uterina (IIU). (Adaptado de ABC da saúde, 2006).

Desta forma, alguns problemas de infertilidade como muco cervical de baixa qualidade, presença de anticorpos antiespermatozoides no muco cervical ou no líquido seminal, oligoastenozoospermia, defeitos nos mecanismos de ejaculado e até mesmo os casos de infertilidade sem causa aparente poderiam ser corrigidos (CAMARGOS; MELO, 2001).

A aplicação da IUU aprimorou-se através das técnicas de capacitação espermática que deixam os espermatozoides livres de prostaglandinas, agentes infecciosos, proteínas antigênicas; removem leucócitos, células germinativas imaturas e espermatozoides imóveis, reduzem a formação dos radicais oxidantes e melhoram a habilidade de fertilização dos espermatozoides (FRANCO JUNIOR et al., 1997).

As taxas de gravidez por ciclo variam entre 8% a 22%. A variabilidade é explicada pela pequena amostra para estudo e diferenças nos protocolos de estimulação e técnicas de inseminação (NUOJUA-HUTTUNEN et al., 1999).

Fertilização *in vitro*

A Fertilização *in vitro* (FIV) é basicamente utilizada de modo a se recriar, artificialmente, a função das tubas uterinas. Para isto usam-se técnicas de estimulação ovariana, capacitação dos espermatozoides, aspiração folicular para coleta dos ovócitos, inseminação com os espermatozoides capacitados, cultivo de embriões até as fases iniciais de clivagem e transferência de embriões (FIGURA 2) (WONCHOCKIER et al., 2004).

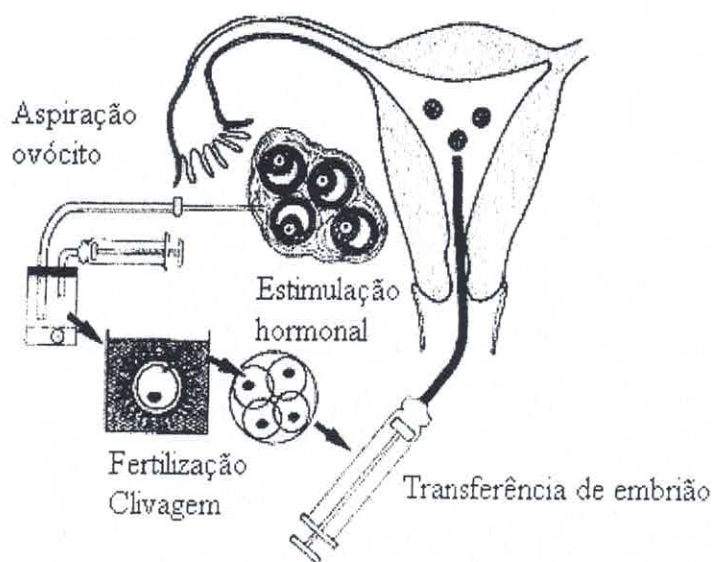


FIGURA 2 - Fertilização *in vitro* (FIV). (Adaptado de KKH, 2006).

As indicações da fertilização "in vitro" têm sido rapidamente expandidas para incluir uma variedade de condições como infertilidade inexplicável, defeitos na ovulação, endometriose e aborto (CHAN, 2006).

Um dos problemas na fertilização "in vitro" é a indisponibilidade do efeito filtrante do muco cervical e junção útero tubária como acontece "in vivo", provocando um aumento do risco de penetração de mais de um espermatozóide por ovócito, ou a penetração por espermatozoides anormais. O mecanismo do bloqueio da zona pelúcida não é eficiente, podendo causar sérios problemas clínicos (SPEROFF;GLASS;KASE, 1989).

Injeção Intracitoplasmática do Espermatozóide (ICSI)

Há quase um século a micromanipulação tem sido empregada em invertebrados e em outros animais. Em 1914, Kite realizou a primeira tentativa de injeção de espermatozoides em ovócitos de peixe estrela (KITE, 1914 apud FRANCO JUNIOR et al; 1997). Em 1962, Hiramoto microinjetou espermatozoides de ouriço do mar em ovócitos homólogos (HIRAMOTO, 1962 apud FRANCO JUNIOR et al., 1997). Desde então vários processos de micromanipulação têm sido praticados com gametas e embriões, através de dissecções da zona pelúcida (ZP) e inserção subzonal do espermatozóide (SUZI) em compartimentos de ovócito (PATRAT et al., 1999).

A introdução da ICSI, em 1990, como uma nova técnica em Reprodução Assistida, proporcionou aos casais nos qual a infertilidade estava relacionada com fator de infertilidade masculino severo (azoospermia obstrutiva e não obstrutiva), a possibilidade de ter filhos anteriormente descartada com a FIV convencional. A taxa de sucesso de bebês nascidos pela técnica de ICSI é similar a FIV (24,1% e 23,7%) (ASRM, 2001; WEN et al., 2004).

A indicação da ICSI não se limita apenas aos casos de fator masculino severo de infertilidade, onde pode ser utilizado espermatozóide oriundo de punção do epidídimo ou biópsia testicular, mas atinge também casos de falhas repetidas na fertilização após a FIV convencional, na presença de altas concentrações de anticorpos antiespermatozoides, em pacientes com alterações ejaculatórias, como, por exemplo, ejaculação retrograda (CHAN, 2006).

A técnica segue as etapas de hiperestimulação ovariana, punção folicular, remoção mecânico-enzimático das células do cumulus-corona, identificação dos ovócitos em metáfase II, através da presença do corpúsculo polar e injeção dos ovócitos. O ovócito é imobilizado utilizando a pipeta de fixação (*holding*) que o prenderá com o corpúsculo polar na posição de seis horas e a pipeta de injeção com diâmetro de 61µm (*"injection"*) é utilizada para aspirar um único espermatozóide com morfologia aparentemente normal. A taxa de fertilização, com espermatozóide oriundo de azoospermia não obstrutiva, é em torno de 50%. Porém mais de 80% dos ovócitos fertilizados normalmente evoluem para embriões (DEVROEY; STEIRTEGHEM, 2004) (FIGURA 3).

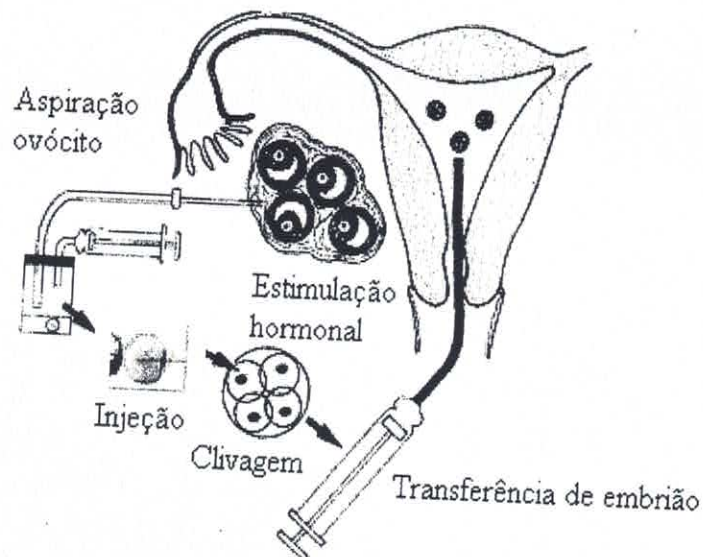


FIGURA 3 - Injeção intracitoplasmática do espermatozóide (ICSI). (Adaptado de KKH, 2006)

Entretanto, a ICSI vem sendo associada com aumento nos riscos de defeitos genéticos em recém-nascidos. Isso porque a fertilização natural e a FIV requerem que o espermatozóide realize a fertilização através de passagens por camadas de células, interação com a zona pelúcida e glicoprotéinas acelulares, além do processo de reação acrossômica, resultando na liberação de enzimas, tornando possível a digestão da zona pelúcida e fusão dos gametas.

A ICSI descarta a seleção natural do processo, podendo transmitir material com defeito genético de pai para filho, sabendo-se que 24% da infertilidade masculina são associadas com anormalidade no cromossoma Y (GRECO et al., 2004; LEWIS; HILLARY; KLONOFF-COHEN, 2005). Mas, como a maturação final do ovócito ocorre depois de sua ativação, a técnica de manipulação do gameta pode alterar a maturação e produzir anormalidades cromossômicas (WEN et al., 2004).

Em conclusão, a fertilização assistida revolucionou o tratamento de casos de infertilidade masculina e feminina, anteriormente sem solução, possibilitando a geração de bebês saudáveis. Entretanto, apesar da alta tecnologia empregada, as taxas de sucesso e possibilidade de ocorrência de defeitos genéticos se assemelham a uma geração natural.

POLISSENI, J.; GUERRA, M. O.; SÁ, W. F. Assisted reproduction techniques. *Bol. Centr. Biol. Reprod., UFJF*, v. 25, p. 95-103, 2005

Abstract: A review about assisted reproduction techniques is presented.

Key words: Techniques, assisted reproduction.

Referências Bibliográficas

01. ABC da SAÚDE: <<http://www.abcdasaude.com.br/artigo.php?262> > Acessado em www.google.com.br. 2006.
02. AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTION MEDICINE. *Formely The American Fertility Society*: Alabama. 2001.
03. CAMARGOS, A. F.; MELO, V. H. 2001. *Ginecologia Ambulatorial*: Coopmed. Belo Horizonte, Brasil, p.505-533.
04. CHAN, C. C. W. Infertility, assisted reproduction and rights. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, v. 20, n. 3, p. 1-12, 2006.
05. DEVROEY, P.; STEIRTEGHEM, A. V. A review of ten years experience of ICSI. *Human Reproduction*, v. 10, n. 1, p. 19-28, 2004.

06. EDWARDS, R. G.; BRODY, S. A. 1995. *Assisted Human Reproduction*. W. B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, p.677.
07. FRANCO JUNIOR, J. G.; BARUFFI, R. L. R.; MAURI, A. L. et al. 1997. *Reprodução Assistida: Revinter*. Rio de Janeiro, Brasil, p. 49-107.
08. GRECO, E.; SCARSELLI, F.; IACOBELLI, M. et al. Efficient treatment of infertility due to sperm DNA damage by ICISI with testicular spermatozoa. *Human Reproduction*, v. 20, n. 11, p. 226 – 230, 2005.
09. HIRAMOTO, Y. Microinjection of live spermatozoa into sea urchins eggs. *Exp. Cell. Res.*, v. 27, p. 416-426, 1962, apud FRANCO JUNIOR, J. G.; BARUFFI, R. L. R.; MAURI, A. L. et al. 1997. *Reprodução Assistida: Revinter*. Rio de Janeiro, Brasil, p. 49-107.
10. KKH <<http://www.kkh.com.sg>> Acessado em www.google.com.br. 2006.
11. KAA RIAINEN, H.; EVERS-KIEBOOMS, G.; COVIELLO, D. Medically assisted reproduction and ethical challenges. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 207, p. 684-688, 2005.
12. KITE, G. L. Studies of Fertilization VI. The mechanism of fertilization in Arbacia. *J. Exp. Zool.*, v. 16, p. 523-590, 1914, apud FRANCO JUNIOR, J. G.; BARUFFI, R. L. R.; MAURI, A. L. et al. 1997. *Reprodução Assistida: Revinter*. Rio de Janeiro, Brasil, p. 49-107.
13. LEWIS, S.; COHEN-KLONOFF, H. What factors affect intracytoplasmic sperm injection outcomes? *Obstetrical and Gynecological Survey*, v. 60, n. 2, p. 111-123, 2005.
14. NUOJUO-HUTTUNEN, S.; TOMAS, C.; BLOIGU, R. et al. Intrauterine insemination treatment in subinfertility: an analysis of factors affecting outcome. *Human Reproduction*, v. 14, n. 3, p. 698-703, 1999.
15. PASSOS, E. P. History of assisted reproduction: lessons learned and future challenges. *Reviews in Gynaecological Practice*, v. 4, p. 199-202, 2004.
16. PATRAT, C.; WOLF, P. J.; EPELBOIN, S. et al. Pregnancies, growth and development of children conceived by subzonal injection of spermatozoa. *Human Reproduction*, v. 14, n. 9, p. 2404-2410, 1999.
17. SKULL, J. The subfertile couple. *Current Obstetrics & Gynaecology*, v. 14, n. 2, p. 132-141, 2004.
18. SPEROFF, L.; GLASS, R. H.; KASE, N. G. Investigation of the infertile couple. Male infertility. In: *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*, 4 ed., Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins. 1989, p. 513-621.

19. WEN, S. W.; WALKER, M. C.; LÉVEILLÉ, M. C. et al. Canadian Medical Association or its licensors, v.12, p. 845-846, 2004.
20. WONCHOCKIER, R.; MIZRAHI, F. E.; SOARES, J. B. et al. 2004. Primeiro Consenso Brasileiro de Embriologia em Medicina Reprodutiva: Pronúcleo. São Paulo, Brasil, p. 153.

ISSN 0101-9783



Boletim do
Centro de
Biologia da
Reprodução


EDITORA
UFJF


ufjf

Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

BOLETIM DO CENTRO DE BIOLOGIA DA REPRODUÇÃO

V.25

Nº ÚNICO

2006

Universidade Federal de Juiz de Fora
Centro de Biologia da Reprodução
Caixa Postal 328
36001-970 - Juiz de Fora - Minas Gerais
BRASIL