

## **Técnicas de Reprodução Assistida**

### **Assisted Reproduction techniques**

POLISSENI, Juliana \*

GUERRA, Martha de Oliveira\*\*

SÁ, Wanderlei Ferreira de \*\*\*

---

POLISSENI, J.; GUERRA, M.O.; SÁ, W. F. Técnicas de Reprodução Assistida. **Bol. Centr. Biol. Reprod.**, UFJF, v. , p.

**Resumo: Apresenta uma revisão sobre técnicas de Reprodução Assistida**

Autores:

Juliana Polisseni

Martha de Oliveira Guerra

Wanderlei Ferreira de Sá

Revisão bibliográfica:

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, 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.

O termo Fertilização Assistida refere-se aos procedimentos que facilita o encontro do ovócito com o espermatozóide. 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 dezanove, 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., 2004). 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 tornou o tratamento mais flexível. Métodos para congelar tecido gonadal e ovócitos, ainda estão sendo investigados (KAARIAINEN; EVERS-KIEBOOMS; COVIELLO, 2005). Apesar do avanço tecnológico, as taxas de implantação de gametas continuam baixas nas técnicas de Reprodução Assistida (5-30%).

### **1.0 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 (FIG.1).

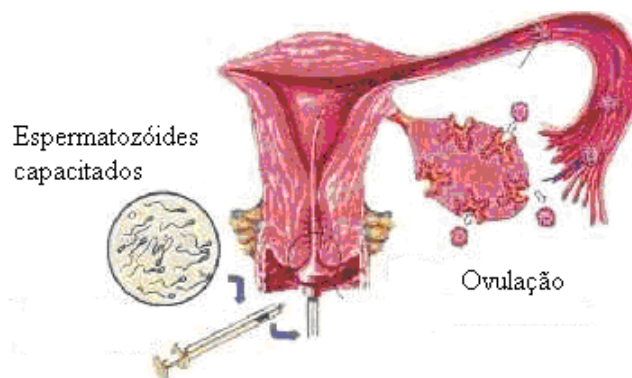


FIG. 1. Inseminação Intra – Uterina (IIU)

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 IIU 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., 2004).

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).

## 2.0 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 (FIG. 2) (CBEMR, 2004).

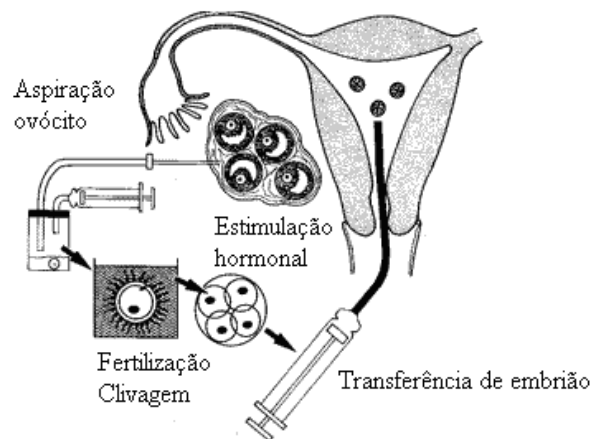


FIG. 2. : Fertilização *in vitro* (FIV):

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 espermatozoide 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).

### **3.0 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; 2004). Em 1962, Hiramoto microinjetou espermatozoides de ouriço do mar em ovócitos homólogos (HIRAMOTO, 1962 apud FRANCO JUNIOR et al., 2004). 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 6µm (*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) (FIG. 3).

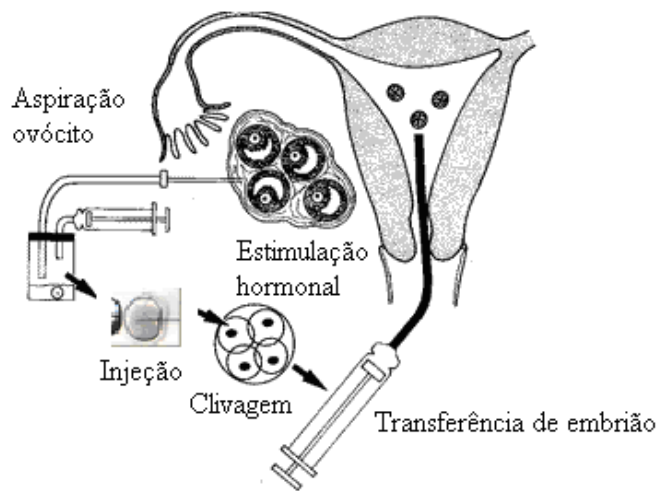


FIG. 3. Injeção Intracitoplasmática do espermatozóide (ICSI):

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 glicoprotéínas acelulares, além do processo de reação acrossômica, resultando na liberação de enzimas, tornando possível a digestão da zona 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 resumo: a fertilização assistida conseguiu, em muitos casos de infertilidade masculina e feminina, anteriormente sem solução, a geração de bebês saudáveis. As técnicas foram se aprimorando com o tempo, entretanto, apesar da alta tecnologia empregada, as taxas de sucesso ainda são baixas e existem problemas como o de transferências de gametas masculinos com defeitos genéticos, até o momento de solução difícil.



Revisão Bibliográfica:

AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTION MEDICINE, 2001.

CAMARGOS, A. F.; MELO, V. H. 2001. **Ginecologia Ambulatorial**: Coopmed.

CHAN, C.C.W. Infertility, assisted reproduction and rights. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 20, n. 3, p. 1-12, 2006.

DEVROEY, P.; STEIRTEGHEM, A. V. A review of ten years experience of ICSI. **Human Reproduction**, v. 10, n. 1, p. 19-28, 2004.

EDWARDS, R. G.; BRODY, S. A. 1995. **Assisted Human Reproduction**: W. B. SAUNDERS COMPANY.

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.

HIRAMOTO, 1962, apud JUNIOR, J. G. F.; BARUFI, R. L. R.; MAURI, A. L. **Reprodução Assistida**, 2004.

JUNIOR, J. G. F.; BARUFI, R. L. R.; MAURI, A. L. **Reprodução Assistida**, 2004.

KAARIAINEN, H.; EVERS-KIEBOOMS, G.; COVIELLO, D. Medically assisted reproduction and ethical challenges. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 207, p. 684-688, 2005.

KITE, 1914 apud JUNIOR, J. G. F.; BARUFI, R. L. R.; MAURI, A. L. **Reprodução Assistida**, 2004.

LEWIS, S.; COHEN-KLONOFF, H. What factors affect intracytoplasmic sperm injection outcomes? **Obstetrical and Gynecological Survey**, v. 60, n. 2, p. 111-123, 2005.



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.

PASSOS, E.P. History of assisted reproduction: lessons learned and future challenges. **Reviews in Gynaecological Practice**, v. 4, p. 199-202, 2004.

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.

PRIMEIRO CONSENSO BRASILEIRO DE EMBRIOLOGIA EM MEDICINA REPRODUTIVA, 2004.

SKULL, J. The subfertile couple. **Current Obstetrics & Gynaecology**, v. 14, n. 2, p. 132-141, 2004.

SPEROFF, L.; GLASS, R. H.; KASE, N. G. 1989. Investigation of the infertile couple. Male infertility. In **Clinical Gynaecologic endocrinology and infertility**, ed. 4, USA, 513-547; 565-583. USA: Williams & Wilkins.

WEN, S. W.; WALKER, M. C.; LÉVEILLÉ, M. C. et al. **Canadian Medical Association or its licensors**, v.12, p. 845-846, 2004.