

Aspectos Atuais em Reprodução Assistida

João Pedro Junqueira Caetano

Geovana Cotta Avelar

Juliano Augusto Brum Scheffer

Leonardo Augusto Meyer de Moraes

Ricardo Mello Marinho

Clínica Pró-Criar / Mater Dei

Rua Alvarenga Peixoto 1365 - Santo Agostinho - Belo Horizonte, MG.

CEP: 30180-121. Telefax: (031) 292-5299

E-mail: pro-criar@fiv.com.br

I - Injeção Intracitoplasmática de Espermatozóide (ICSI)

A ICSI tem revolucionado o tratamento da infertilidade masculina, porém é um método que pode também ser utilizado no tratamento de outras causas de infertilidade. A principal indicação da ICSI é a má qualidade do sêmen, seguida pela má fertilização em um ciclo prévio de fertilização *in vitro* (FIV) e pela azoospermia obstrutiva.

Devido à utilização cada vez mais freqüente da ICSI, necessita-se de uma avaliação acurada da eficácia e segurança dessa nova técnica. A Sociedade Européia de Reprodução Humana e Embriologia (ESHRE) Task Force está reunindo anualmente dados dos resultados clínicos, resultados de gravidez e acompanhamento das crianças concebidas através da ICSI utilizando espermatozóides do ejaculado, epididimários e testiculares, na intenção de tornar possível a obtenção de informações relevantes para estudos futuros.

Como observado no estudo “Analysis of ICSI results (1993-1995) collected by the ESHRE ICSI Task Force”, as indicações de ICSI estão aumentando a cada ano. Durante três anos (1993-1995), o número de centros que realizam o ICSI aumentou de 35 para 101, e o número total de ciclos de ICSI realizados por ano aumentou de 3157 para 23932. As taxas de fertilização obtidas com espermatozóides do ejaculado, epididimários e testiculares em 1995 foram de 64, 62,5 e 52%, respectivamente. Em aproximadamente 90% dos ciclos realizou-se a transferência de pelo menos um embrião.

Neste estudo, as taxas de gravidez (-hCG positivo) foram de 28,2% por ciclo com espermatozóides obtidos do ejaculado, de 31% com espermatozóides do epidídimo e de 26,2% com espermatozóides obtidos do testículo. As taxas de gravidez ectópica foram de 1,5% (n=132) com espermatozóides obtidos do ejaculado, 0,6% (n=3) do epidídimo e 0,7%

(n=2) do testículo. As incidências de abortamento clínico foram de 14,5% (n=1278) com espermatozóides obtidos do ejaculado, 11,2% (n=56) do epidídimo e 16,4% (n=47) do testículo. Esta incidência de abortamento após ICSI é similar à incidência após FIV, mas a incidência de gravidez ectópica após ICSI é inferior à incidência após FIV, talvez pelo fato de que a maioria das mulheres submetidas à ICSI apresentam tubas uterinas normais, uma vez que a principal indicação de ICSI é o fator masculino grave.

Utilizando-se embriões congelados, as taxas de gravidez por ciclo (-hCG positivo) foram de 16,7% com espermatozóides obtidos do ejaculado, 15,3% com espermatozóides do epidídimo e de 11% com espermatozóides obtidos do testículo. As taxas de abortamento foram de 15,8% (n=83) com espermatozóides obtidos do ejaculado, 9,1% (n=2) com espermatozóides do epidídimo e 15,6% (n=34) com espermatozóides obtidos do testículo. As taxas de gravidez ectópica foram de 1,9 % (n=10) com espermatozóides obtidos do ejaculado, 0% com espermatozóides do epidídimo e 0,5% (n=1) com espermatozóides obtidos do testículo.

As incidências de gravidez múltipla após ICSI utilizando espermatozóides obtidos do ejaculado, epidídimo ou testículo foram similares (28,6%, 30,2% e 32,7%, respectivamente). O prognóstico perinatal das crianças nascidas após ICSI foi semelhante ao da população geral, independentemente se os embriões eram congelados ou não, seja utilizando sêmen do ejaculado, testículo ou epidídimo. A média da idade gestacional e do peso ao nascimento de gestações únicas pós-ICSI foram similares às de gestações únicas da população geral.

A incidência de malformações congênicas entre 2486 crianças nascidas da ICSI com espermatozóide do ejaculado foi de 1,9% (n=47) de malformações maiores e 7,4% (n=185)

de malformações menores. Nenhuma malformação maior e 2,5% (n=3) de malformações menores foram observadas utilizando-se espermatozóides do epidídimo (n=199). Utilizando-se espermatozóides obtidos do testículo (n=63), houve uma incidência de 4,8% (n=3) de malformações maiores e 3,2% (n=2) de malformações menores. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as incidências de malformações congênicas com embriões frescos ou congelados. Comparando-se as incidências de malformações maiores (com função alterada e que requerem cirurgia corretiva) e menores após ICSI com as incidências na população geral observa-se similaridade entre elas.

Porém, segundo Bonduelle e cols. (1998), a taxa de aberrações cromossômicas sexuais e autossômicas em crianças nascidas de ICSI parece ser mais alta que a da população geral. Esta maior incidência de aberrações cromossômicas pode ser decorrente da idade materna mais elevada em casais submetidos à ICSI e das alterações cromossômicas presentes em homens com infertilidade. Por esta razão, recomenda-se a realização de cariótipos em pacientes com graves alterações no sêmen, com o intuito de se detectar estas aberrações cromossômicas.

Wisanto e cols. (1995), avaliando 424 gestações após ICSI, observaram 104 casos de insucesso (24,5%), incluindo 48 abortos clínicos (11,3%), 47 gestações subclínicas (11,1%), quatro gestações ectópicas (0,9%), uma gestação interrompida devido à presença de oligohidrânio e quatro abortos espontâneos. Um total de 320 gestações resultaram em pelo menos uma criança: 222 gestações únicas (69,3%), 93 gestações gemelares (29,1%) e cinco gestações trigemelares (1,6%). Dentre as 423 crianças nascidas, houve 3 casos de natimortalidade e 5 casos de mortalidade neonatal. Os resultados deste estudo demonstram que o prognóstico obstétrico parece ser similar entre gestações advindas de ICSI ou FIV.

Nos casos de infertilidade masculina, a taxa de fertilização após a ICSI é superior à obtida com a FIV clássica, mesmo nos casos em que o esperma encontra-se severamente alterado, e independente da fonte do espermatozóide. Além disso, a grande maioria dos oócitos fertilizados pela ICSI dão origem a embriões de boa qualidade. Uma aparente desvantagem da ICSI seria com relação à perda de oócitos danificados durante o procedimento (geralmente menos de 10%), fato que é compensado pela ótima taxa de fertilização e desenvolvimento de embriões de boa qualidade, sendo que a perda de oócitos pode melhorar com o aprimoramento e treinamento da técnica. O processo parece ser seguro, porém um maior acompanhamento das crianças nascidas após ICSI será necessário a fim de se avaliar mais precisamente esta segurança.

II - Idade e Reprodução Assistida

Considerando que a idade da mulher exerce uma influência fundamental na taxa de fertilidade espontânea; é esperado que haja também uma influência nos resultados de todas as formas de tratamento da infertilidade.

A estimulação ovariana e a inseminação intrauterina (IIU) como tratamento alternativo para casais cuja parceira tem 40 anos ou mais e tubas pérvias apresenta resultados bastante insatisfatórios. Esta informação é importante para o aconselhamento deste grupo de pacientes, às quais pode-se oferecer técnicas de reprodução assistida (TRA). Porém, de acordo com a análise do registro australiano de 1990, mulheres entre 35-39 anos foram responsáveis por 25,4% e 22,6% das gestações clínicas por FIV e GIFT (transferência intra-tubária de gametas), respectivamente. Foram perdidas 34,2% das gestações obtidas por FIV e 33,2% das gestações pós-GIFT, seja por aborto espontâneo ou outras causas.

Segundo o registro australiano de 1992, a taxa de abortamento espontâneo em mulheres acima de 40 anos é o dobro da taxa de abortamento em mulheres abaixo de 35 anos. Segundo o registro nacional americano, a taxa de aborto espontâneo é 3 vezes maior em mulheres com mais de 40 anos em comparação às mulheres com menos de 25 anos submetidas à FIV e às mulheres com menos de 30 anos submetidas à GIFT. Tudo isso confirma o fato de que a chance de nascer uma criança através das TRA é também reduzida em mulheres mais velhas (Dianna, 1994).

III - Aspectos Psicológicos dos Casais Submetidos a TRA

Dado a complexidade intrínseca de todo o processo de Reprodução Assistida (RA) e o seu significado para as pacientes, é compreensível suas repercussões no campo físico e emocional. Boivin & Takeman (1996) demonstraram que as pacientes apresentam mais otimismo e maior desconforto físico durante as fases de captação dos oócitos e transferência dos embriões. As mulheres relataram pouco contato social durante as fases de captação dos oócitos e transferência, em contraste ao período de estimulação ovariana e ao período de espera pelo resultado do β -hCG.

Slade e cols. (1997), em um estudo sobre emoção e relacionamento durante um ciclo de FIV, observaram que as mulheres eram mais ansiosas e menos positivas em relação à vida conjugal e sexual do que o parceiro. Comparando casais que engravidaram aos que não engravidaram, não se observou diferenças significativas com relação aos fatores emocionais e de relacionamento. Entretanto, houve uma alta incidência de depressão entre mulheres que fizeram um novo ciclo de RA e não engravidaram. Com relação à quantidade de ciclos aos quais essas mulheres foram submetidas, observou-se diferenças significativas no estado de

ânimo. Sintomas depressivos foram mais freqüentes com o aumento do número de ciclos, assim como fadiga, tensão, ansiedade e diminuição do vigor. Portanto, um acompanhamento psicológico e esclarecimentos sobre o tratamento são pontos positivos para o sucesso de um programa de RA.

IV - Crescimento e Desenvolvimento de Crianças Concebidas Naturalmente e por TRA

A grande maioria das crianças concebidas por ICSI são saudáveis e não apresentam diferenças significativas em relação ao crescimento e desenvolvimento em comparação às concebidas por FIV ou naturalmente. Bonduelle e cols (1998), observando o desenvolvimento mental de 201 crianças nascidas por ICSI e 131 por FIV com idade compreendida entre 22 e 26 meses, demonstraram que não houve redução significativa da idade gestacional ao nascimento das crianças obtidas por ICSI em relação à população geral (38,7 semanas para gestação única e 35,7 semanas para gêmeos) ou FIV (39,2 semanas para gestação única e 36,2 semanas para gêmeos). Não houve também indícios de que crianças nascidas de ICSI tenham pior desenvolvimento. Jennifer e cols. (1998) compararam 89 crianças nascidas de ICSI, 84 de FIV e 80 concebidas naturalmente e não observaram diferenças significativas na incidência de malformações congênitas maiores ou outros problemas de saúde. Entretanto, a média do índice de desenvolvimento mental (baseado na Escala de Bayley) foi significativamente menor para crianças nascidas de ICSI (95,9) em comparação às crianças nascidas de FIV (101,8) e às crianças concebidas naturalmente (102,5). Como demonstrado, ocorre um aumento suave do risco de atraso no

desenvolvimento nas crianças nascidas por ICSI, embora estudos de caso-controle mais detalhados sejam necessários.

V – Transferência de Blastocistos

Apesar de nos últimos anos terem ocorrido inúmeros avanços nas técnicas de reprodução assistida, as taxas de implantação embrionária têm se mantido praticamente inalteradas. Entretanto, o desenvolvimento de meios de cultura seqüenciais, onde meios de cultura específicos são utilizados em cada estágio de desenvolvimento embrionário, proporcionou que embriões fossem cultivados *in vitro* por períodos mais prolongados (5 a 7 dias), dando origem a blastocistos de excelente qualidade. Sabe-se que o embrião atinge a cavidade uterina ao redor do quinto ou sexto dia após a fertilização e, portanto, a transferência de embriões em estágios mais avançados de desenvolvimento seria mais fisiológica. Os resultados de gravidez e principalmente de implantação obtidos através da transferência de blastocistos relatados em alguns estudos nos levam a crer na superioridade desta técnica em relação à transferência de embriões com dois ou três dias de cultivo. As principais vantagens da transferência de blastocistos seriam a melhor seleção dos embriões a serem transferidos, haja visto que apenas os embriões de melhor qualidade atingem este estágio de desenvolvimento, e o menor risco de gravidez múltipla, pois devido às altas taxas de implantação não haveria necessidade de se transferir vários embriões. Gardner & Schoolcraft (1999) relatam taxas de implantação acima de 50% e taxas de gravidez superiores a 65% com transferência de apenas dois blastocistos, certamente bem superiores às taxas habitualmente reportadas pelos diversos serviços de reprodução assistida. Entretanto, apenas 40 a 50% dos pré-embriões são capazes de atingir o estágio de

blastocisto, o que leva a uma pré-seleção das pacientes que possuem muitos embriões após três dias de cultivo para a utilização desta técnica. Com isso, apenas aqueles casos de ótimo prognóstico, dentre os quais estão presentes as pacientes mais jovens, são incluídos nas estatísticas de gravidez e implantação com a transferência de blastocistos. Contudo, pacientes com elevado número de embriões de boa qualidade após 3 dias de cultivo *in vitro* geralmente apresentam altas taxas de gravidez, que podem chegar aos 65% se somarmos à possibilidade de transferirmos posteriormente os embriões excedentes que foram criopreservados. No estudo realizado por Gardner et al. (1998), por exemplo, apenas as pacientes que apresentavam 10 ou mais folículos após estimulação ovariana foram incluídas, o que representa um grupo selecionado de pacientes. Inegavelmente, a cultura de blastocistos através de meios seqüenciais representa um grande avanço, especialmente no que diz respeito à prevenção de gestações múltiplas. Entretanto, estudos com maior casuística são necessários para que essa nova técnica seja validada, pois os poucos estudos publicados reportam um número reduzido de pacientes.

Leituras Suplementares

1. Boivin J, Takefman JE. **Impact of the in-vitro fertilization process on emotional, physical and relational variables.** Hum Reprod 1996;11:903-7.
2. Bonduelle M, Aytöz A, Van Assche E, et al. **Incidence of chromosomal aberrations in children born after assisted reproduction through intracytoplasmic sperm injection.** Hum Reprod 1998;13:781-2.
3. Bonduelle M, Joris H, Hofmans K, et al. **Mental development of 201 ICSI children at 2 years of age.** Lancet 1998;351:1553.
4. Bowen JR, Gibson FL, Leslie GI, Saunders DM. **Medical and developmental outcome at 1 year for children conceived by intracytoplasmic sperm injection.** Lancet 1998;351:1529-34.
5. Frederick JL, Denker MS, Rojas A, et al. **Is there a role for ovarian stimulation and intra-uterine insemination after age 40?** Hum Reprod 1994;9:2284-6.
6. Gardner DK, Schoolcraft WB, Wagley L, Schlenker T, Stevens J, Hesla J. **A prospective randomized trial of blastocyst culture and transfer in in-vitro fertilization.** Human Reprod 1998;13:3434-40.
7. Gardner DK, Schoolcraft WB. **Culture and transfer of human blastocysts.** Current Opinion in Obstetrics and Gynecology 1999;11:307-11.
8. Kenny DT. **The impact of maternal age on clinical pregnancy and spontaneous abortion in women undergoing in vitro fertilization and gamete intra-fallopian transfer.** Aust NZ J Obstet Gynaecol 1994;34:443-7.
9. Slade P, Emery J, Lieberman BA. **A prospective, longitudinal study of emotions and relationships in in-vitro fertilization treatment.** Hum Reprod 1997;12:183-90.
10. Tarlatzis BC, Bili H. **Analysis of ICSI results (1993-1995) collected by the ESHRE ICSI Task Force.** In: Course VI - Reproductive Medicine: Between Hope and Hype. Thirty First Annual Postgraduate Program, San Francisco, CA, October 3-4, 1998.
11. Wisanto A, Magnus M, Bonduelle M, et al. **Obstetric outcome of 424 pregnancies after intracytoplasmic sperm injection.** Human Reprod 1995;10:2713-8.