

DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO PÓS-ICSI EM OÓCITO
SEM ZONA PELÚCIDA: RELATO DE CASO

Autores: João Pedro Junqueira Caetano
Leonardo Augusto Meyer de Moraes
Paulo Matheus
Ricardo Mello Marinho

Endereço para Correspondência:

Clínica Pró-Criar / Mater Dei
João Pedro Junqueira Caetano
Rua Alvarenga Peixoto 1365
Belo Horizonte - Minas Gerais
CEP: 30.180-121
TeleFax: (031) 292-5299
E-mail: jpjc@fiv.com.br

RESUMO

OBJETIVO: Demonstrar que oócitos sem zona pelúcida podem ser fertilizados normalmente utilizando a injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI).

MÉTODOS: Paciente JCNRA, 27 anos, submetida ao 1º ciclo de fertilização assistida devido à presença de fator masculino grave + SOP. Foram captados 20 oócitos, dos quais 8 MII foram submetidos à remoção das células do cumulus com hialuronidase para realização da ICSI. Um desses oócitos escapou da zona pelúcida, tendo sido também submetido à ICSI.

RESULTADOS: Houve fertilização de todos os 8 oócitos submetidos à ICSI. O embrião sem zona pelúcida clivou no dia 2 (2 células), apresentando morfologia normal (grau I). No dia 3 apresentava 4 células (grau I), no dia 4 apresentava 4 células (grau I), no dia 5 apresentava 8 células (grau I) e no dia 6 apresentou degeneração, não atingindo o estágio de blastocisto. Dentre os outros 7 embriões, 4 atingiram o estágio de blastocisto e foram transferidos, resultando em gravidez.

CONCLUSÃO: Este caso demonstra que os oócitos sem zona pelúcida podem apresentar clivagem embrionária adequada até o estágio de 8 células.

Introdução

Com o advento da injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI), tornou-se mais comum o encontro de oócitos sem zona pelúcida durante os procedimentos de reprodução assistida. A necessidade de remoção das células do *cumulus* utilizando-se a hialuronidase e a remoção mecânica através de pipetas de reduzidos calibres favorecem o rompimento da zona pelúcida e conseqüente escape do ooplasma. Esses oócitos sem zona pelúcida são geralmente descartados, mas Ding *et al.* (1999) realizou a ICSI em dois casos, tendo observado desenvolvimento até o estágio de blastocisto. Também já se observou que blastocistos submetidos à remoção da zona pelúcida são capazes de se implantarem normalmente e produzirem gravidezes normais (Fong *et al.*, 1997). Sendo assim, resolvemos realizar a ICSI em um oócito sem zona pelúcida, com o objetivo de demonstrar que esses oócitos podem ser fertilizados normalmente utilizando-se a ICSI.

Relato de Caso

Paciente JCNRA, 27 anos, submetida ao 1º ciclo de fertilização assistida devido à presença de fator masculino grave + SOP. Foram captados 20 oócitos, dos quais 8 MII foram submetidos à ICSI após remoção das células do cumulus com hialuronidase (80 unidades/ml, type I-S, from bovine testes; Sigma, St Louis, MO, USA) e mecanicamente utilizando-se pipetas de Pasteur flambadas de calibres de redução progressiva. Um desses oócitos escapou da zona

pelúcida, tendo sido também submetido à ICSI, pois apresentava morfologia aparentemente normal e presença do primeiro corpúsculo polar extrudido.

Dezoito horas pós-inseminação (hpi), observou-se fertilização de todos os 8 oócitos submetidos à ICSI. Os pré-embriões foram então transferidos para gotas de 25µl de meio de cultura (HTF Medium; Irvine Scientific, Santa Ana, CA, USA) suplementado com 10% de soro sintético (Synthetic Serum Substitute; Irvine Scientific, Santa Ana, CA, USA), cobertas por óleo mineral (Sigma Mineral Oil; St Louis, MO, USA). No dia 3, os embriões foram então transferidos para gotas de 25µl de meio de cultura para desenvolvimento de blastocistos (Blastocyst Medium; Irvine Scientific, Santa Ana, CA, USA) suplementado com 15% de soro sintético e cobertas com óleo mineral.

O óvulo sem zona pelúcida submetido a procedimento de ICSI apresentou fertilização detectada pela presença de 2 pró-núcleos 18 hpi (figura 1-A). A clivagem inicial, 2 células, ocorreu no dia 2 (42 hpi) (figura 1-B), apresentando morfologia normal (grau I). No dia 3 o embrião apresentou 4 células, grau I (66 hpi) (figura 1-C), mantendo a mesma morfologia no dia 4 (90 hpi). No dia 5 (114 hpi), o embrião atingiu o estágio de 8 células (figura 1-D) e no dia 6 (138 hpi) iniciou processo de compactação atingindo o estágio de massa compacta com limites indefinidos, não atingindo o estágio de blastocisto (figuras 1-E e 1-F). Dentre os outros 7 embriões, 4 atingiram o estágio de blastocisto e foram transferidos, resultando em uma gravidez única.

Discussão

Sabe-se que a zona pelúcida apresenta funções importantes tanto no processo de fertilização quanto na proteção do embrião durante os estágios iniciais de desenvolvimento.

A presença de receptores na superfície da zona pelúcida, chamados de ZP3, favorecem a ligação do espermatozóide e conseqüente fertilização do oócito. Após a penetração do espermatozóide, ocorre então a reação zonal, a qual é responsável pelo endurecimento da zona pelúcida, impedindo a ocorrência da polispermia.

Durante os primeiros estágios de clivagem, os blastômeros se encontram fracamente aderidos, e a zona pelúcida evita a desagregação dos mesmos. Após a compactação dos blastômeros e desenvolvimento do blastocisto essa função não mais se faz necessária, sendo que gravidezes tem sido descritas após transferência de blastocistos sem zona pelúcida (Fong *et al.*, 1997).

Para a realização da ICSI, funções importantes da zona pelúcida para o processo de fertilização do oócito não se fazem necessárias, pois apenas um espermatozóide é injetado diretamente dentro do ooplasma. Entretanto, a ausência da zona pelúcida pode prejudicar o processo de polarização dos blastômeros e conseqüentemente a compactação e o desenvolvimento de blastocistos (Ding *et al.*, 1999).

Este caso demonstrou que oócitos sem zona pelúcida podem apresentar clivagem embrionária adequada até o estágio de 8/16 células. Fong *et al.* (1997) demonstraram que a fertilização desses oócitos pode resultar em desenvolvimento de blastocistos. Entretanto, estudos são necessários para se verificar se gravidezes advindas de oócitos sem zona pelúcida apresentam

desenvolvimento normal. Assim sendo, poderemos utilizar rotineiramente esses oócitos para realização da ICSI.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ding J., Rana N., Dmowski W.P. - Intracytoplasmic sperm injection into zona-free human oocytes results in normal fertilization and blastocyst development. *Human Reprod.*, 14: 476-478, 1999.

Fong C.Y., Bongso A., Ng S.C., *et al.* - Ongoing normal pregnancy after transfer of zona-free blastocysts: implications for embryo transfer in the human. *Human Reprod.*, 12: 557-560, 1997.