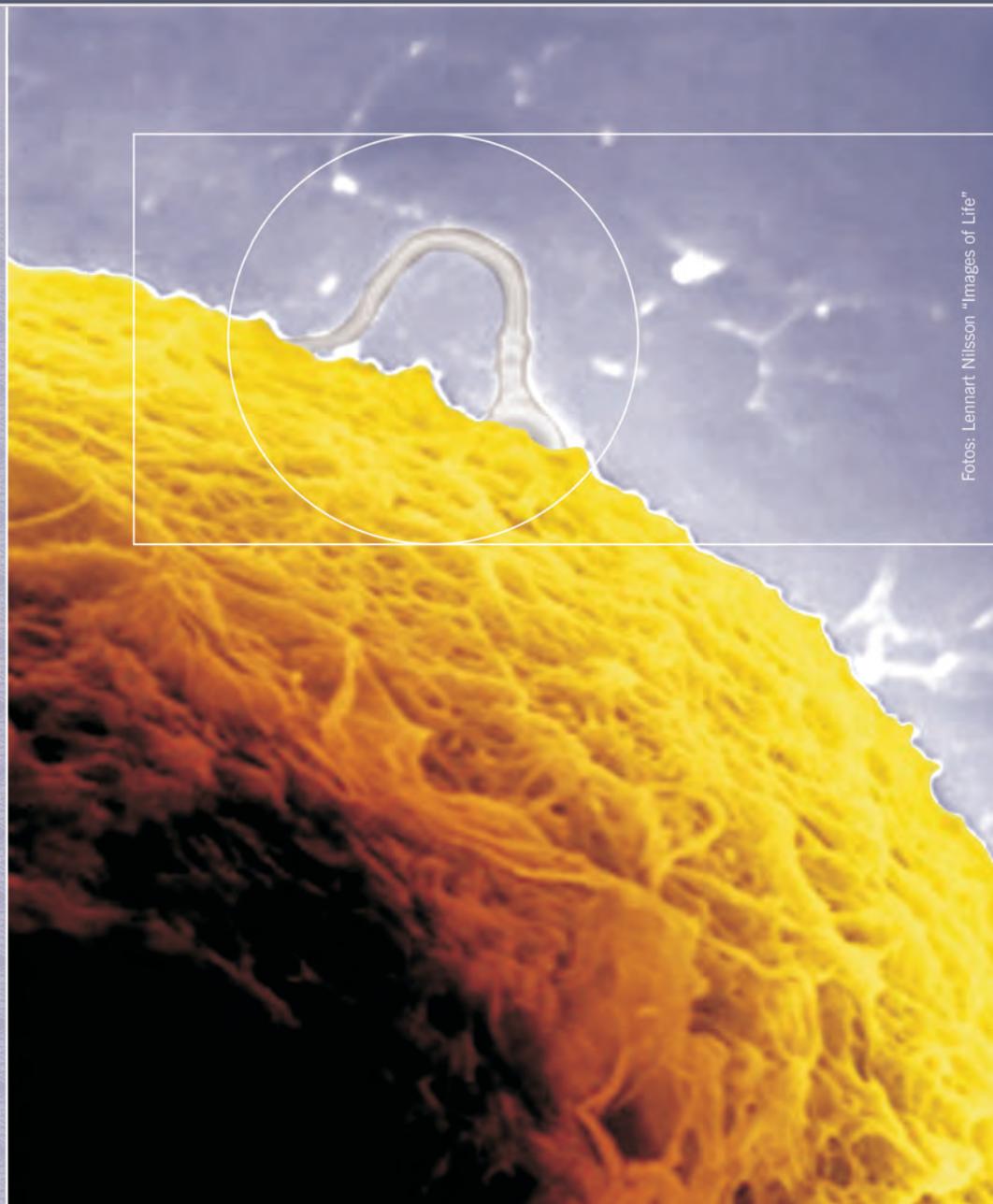


Volume 11
Número 4
Outubro / Novembro / Dezembro 2007
ISSN 1517-5693



JBRA

**JORNAL BRASILEIRO DE
REPRODUÇÃO
ASSISTIDA**



Fotos: Lennart Nilsson "Images of Life"

ORGÃO DA
SOCIEDADE BRASILEIRA
DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

O SONHO DA SUA PACIENTE GANHANDO CONTORNOS, CURVAS E CORES

Fundada em 1906, a Serono atua em diversas áreas da saúde: Dermatologia, Endocrinologia, Neurologia e Reprodução Humana. No Brasil desde 1982, é considerada uma das líderes em biotecnologia. Uma parte deste sucesso está em acreditar que é possível um mundo melhor. A outra parte, em fazer o que se acredita. Por isso, a Serono investe em pesquisas e no domínio de tecnologias complexas para o desenvolvimento de novas gerações de produtos, até então, inéditas no mercado.

Transformar o que parece impossível em novas possibilidades é um exercício que exige o pensamento positivo de todos, a todo momento. Acreditar é a melhor forma de tornarmos nosso amanhã ainda melhor.

A Serono acredita no melhor da vida.



GONAL-F
alfafutropina

Luveris
alfalutropina

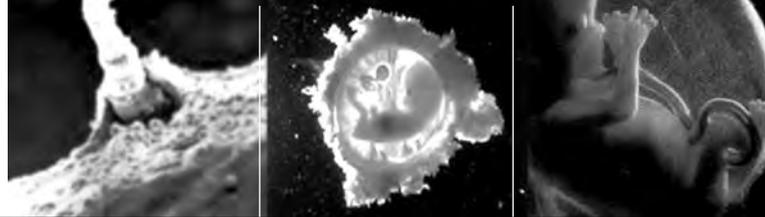
Cetrotide
acetato de cetrotrelxi

VIDREL
alfacoronadotropina

Crinone
progesterona gel 8%

Saúde Reprodutiva





JBR JORNAL BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

CORPO EDITORIAL NACIONAL

Editor	Clínica	Região
Maria do Carmo Borges de Souza	G&O Barra / UFRJ	RJ
Consultor Editorial		
José Gonçalves Franco Júnior	CRH	SP
Assistente Editorial		
Christina de Albuquerque da Rocha	G&O Barra	RJ
Editores Associados		
Edson Borges Junior	FERTILITY	SP
João Batista Alcântara Oliveira	CRH - Ribeirão Preto	SP
Selmo Geber	ORIGEN	MG
Weydson Barros Leal		PE
Conselho editorial		
Adelino Amaral Silva	GENESIS	DF
Alessandro Schuffner	CONCEBER	PR
Alvaro Petracco	FERTILITAT	RS
Ana Cristina Allemand Mancebo	G&O BARRA	RJ
Aroldo Camargos	UFMG	MG
Bela Zausner	GENESE	BA
Bruno Scheffer	IBRA	MG
Carlos André Henriques	G&O BARRA	RJ
Claudia G. Petersen	CRH - Ribeirão Preto	SP
Condesmar Marcondes Filho	NÚCLEO REPRODUÇÃO	SP
Dirceu Mendes Pereira	PROFERT	SP
Eduardo Pandolfi Passos	SEGIR - UFRGS	RS
Elvio Tognotti		SP
Humberto Ikuo Shibasaki		MT
João Pedro Junqueira Caetano	PRÓ-CRIAR / MATER DEI	MG
Joaquim Roberto Lopes	CENAFERT	BA
Jonathas Borges Soares	PROJETO ALPHA	SP
Jorge Hallak	REPROFERTY	SP

Leila Montenegro Silveira Farah	FERTILITY	SP
Lídio Jair Ribas Centa	ANDROLAB	PA
Luíz Fernando Dale	CENTRO DE MEDICINA DA REPRODUÇÃO	RJ
Marcos Sampaio	ORIGEN	MG
Mariangela Badalotti	FERTILITAT	RS
Marilza Vieira Rudge	UNESP Botucatu	SP
Mario Cavagna	Hospital Pérola Byington	SP
Newton Eduardo Busso	UNIFERT	SP
Paulo Franco Taitson	IRH	MG
Paulo Serafini	HUNTINGTON	SP
Paulo Spinola	CEPARH	BA
Renzo Antonini Filho	INSTITUTO DE SAÚDE DA MULHER	MG
Ricardo Melo Marinho	MATER DEI	MG
Roberta Wonchockier	PROJETO ALFA	SP
Roger Abdelmassih	Clinica e Centro de Reprodução Humana	SP
Rosana Maria dos Reis	Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto	SP
Sidney Glina	Hospital Israelita Albert Einstein	SP
Silvana Chedid	CEPERH	SP

CORPO EDITORIAL INTERNACIONAL

Anne R. Greenlee	EUA
Claudia Borrero	Colômbia
Claudio Chillik	Argentina
David L. Keefe	EUA
Esther Pollak de Fried	Argentina
Francisco Riquez	Venezuela
Iván Valencia Madera	Equador
Juan Manuel Montoya	Colômbia
Karen Sermon	Bélgica

I – Informações Gerais

O Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida (JBRA) é uma publicação oficial de comunicação da Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida (SBRA – www.sbra.com.br), com periodicidade quadrimestral, e mais um suplemento com os trabalhos do Congresso Brasileiro da SBRA. Aceita trabalhos básicos e clínicos da área de Reprodução nas seguintes línguas: português, espanhol e inglês. As matérias para publicação devem ser inéditas, na forma de artigos originais, artigos de atualização, relatos de caso, opiniões.

Os textos devem vir acompanhados de carta assinada pelos autores, e serão encaminhados para avaliação por membros do Conselho Editorial, a serem designados pelo Editor. Após esta avaliação, os trabalhos são reencaminhados aos autores para possíveis correções, retornando ao avaliador para então serem aprovados ou não à publicação.

Os trabalhos devem ser enviados para:

Maria do Carmo Borges de Souza
 Editora do Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida
 Av. das Américas, 4666 - Centro Médico BarraShopping salas 312/313 - CEP 22649-900
 Rio de Janeiro - RJ – Brasil
 E-mail: journalsbra@cmb.com.br
 Fone: (21) 2430-9060 Fax: (21) 2430-9070
 Home Page: <http://www.sbra.com.br>

II – Apresentação dos Trabalhos

Os trabalhos devem ser enviados por e-mail: journalsbra@cmb.com.br e/ou disquete, digitados em espaço simples, páginas separadas, numeradas, formatado em Word para Windows/98 com letra Times New Roman no 12.

Primeira Página

Título do artigo em português e inglês
 Nome do(s) autor(es)
 Afiliação dos autores
 Nome do serviço onde foi executado o trabalho
 Endereço, número do telefone, fax e internet do autor principal
 Indicação de financiamentos relacionados ao trabalho

Segunda Página

Abstracts (o resumo deve, obrigatoriamente, ser escrito na língua do texto e em inglês)
 Caso o artigo seja em inglês, fazer um resumo em português.
 Key words / Palavras-chave: ver <http://decs.bvs.br>

Terceira e demais páginas

Texto

Artigos originais: São trabalhos resultantes de pesquisa científica apresentando dados originais de descobertas com relação a aspectos experimentais ou observacionais de característica médica, bioquímica e social, e inclui análise descritiva e ou inferências de dados próprios. Sua estrutura é a convencional que traz os seguintes itens: Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Resumo com unitermos e Referências. Os artigos originais que envolvem experimentação devem declarar aprovação prévia por Comitê de Ética.

Artigos de revisão: São trabalhos que têm por objetivo resumir, analisar, avaliar ou sintetizar trabalhos de investigação já publicados em revistas científicas. Apresenta síntese e análise crítica da literatura levantada e não deve ser confundido com artigo de atualização.

Artigos de atualização ou divulgação de autores convidados (opiniões) são trabalhos que relatam informações geralmente atuais sobre tema de interesse para determinadas especialidades, uma nova técnica ou método, por exemplo, e que tem características distintas de um artigo de revisão visto que não apresentam análise crítica da literatura.

Relatos de caso: São artigos que representam dados descritivos de um ou mais casos explorando um método ou problema através de exemplo. Apresenta as características do indivíduo estudado, com indicação de sexo, idade e pode ser realizado em humano ou animal. Devem obedecer a seqüência: Introdução, Descrição do caso, Discussão ou Conclusão, Resumo com unitermos e Referências.

Cartas ao leitor - o envio de cartas ao editor comentado, discutindo ou criticando os artigos publicados no JBRA serão bem recebidas e publicados desde que aceitas pelo Conselho Editorial. Recomenda-se tamanho máximo de uma página, incluindo referências bibliográficas. Sempre que possível, uma resposta dos autores será publicada junto com a carta.

Leitura recomendada aos autores - * BIREME – www.bireme.br

III – Referências

As referências devem estar em ordem alfabética, com base no último sobrenome do autor principal seguido das iniciais. As citações serão identificadas no texto pelo sobrenome do autor e data (Stephoe, 1978), não mais que dois autores podem ser citados por referência (Edwards & Steptoe, 1980), no caso de mais de dois autores, usar et al. (Van Steirteghem et al., 1988).

1. Artigos em periódicos

Edwards R. G., Steptoe P. C., Purdy J. M. – Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown “in vitro”. Br. J. Obstet. Gynaecol., 87: 737-756, 1980.

2. Capítulos de Livros

Simpson J. L. – Gonadal dysgenesis and sex abnormalities: phenotypic-karyotypic correlations. In: Vallet H. L. and Porter I. H. Genetic Mechanisms of Sexual Development. New York:Academic Press, p.365-377, 1979.

3. Livros

Wolf D. P., Quigley M. M. (eds) – Human “in vitro” fertilization and embryo transfer. New York: Plenum Press, 1984.
 OBS: Não fazer citações das referências através de números. Exemplo: Na pesquisa o fator imunológico (1).

IV – Ilustrações

As tabelas, gráficos, figuras e fotografias devem ser enviadas em folhas separadas, numeradas em algarismos romanos e com legendas individualizadas, ao final do trabalho.
 As fotografias devem ser em preto e branco, sendo que as despesas com eventual reprodução de fotografias coloridas devem ser discutidas. Poderão também ser enviadas via internet.

DIRETORIA DA SBRA - 2007/2008

Presidente: Eduardo Pandolfi Passos
www.sbra.com.br

Departamento de Publicações

Editadora: Maria do Carmo Borges de Souza
Assistente Editorial: Christina de Albuquerque da Rocha
e-mail: journalsbra@cmb.com.br

EDITORIAL**ESHRE 2007 - Prêmio de Trabalho Clínico - o melhor tema livre**

Maria do Carmo Borges de Souza, Christina de Albuquerque da Rocha _____ 6

ARTIGO ORIGINAL**A Morfologia da Amostra Seminal não Prediz os Resultados em Ciclos de ICSI**

Queiroz P, Tanil CT, Braga DPAF, Bonetti TC, Iaconelli Jr. A, Pasqualotto, FF, Borges Jr. E _____ 9

Uso Clínico da Pentoxifilina em Espermatozoides Criopreservados Utilizados em Ciclos de ICSI não Melhora a Qualidade Embrionária

Queiroz P, Tanil CT, Braga DPAF, Pasqualotto FF, Iaconelli Jr. A, Borges Jr. E _____ 14

Fertilização *In-vitro* com Meios de Cultivo GV

Carlos Gilberto Almodin; Vania Cibele Minguetti-Câmara; Angélica Pupin Schiavon; Eduardo Rosa; Condesmar Marcondes Oliveira; Antonio Fernandes Moron; _____ 20

ARTIGO DE REVISÃO**Aspectos Imunológicos da Endometriose.**

Vanessa Krebs Genro, Camila da Silva Campos, Cristian Sloczinski, Virginia Rosa, João Sabino L da Cunha-Filho _____ 25

Reprodução Assistida e Malformações Congênitas

Diniz P, Costa Lima M.A. _____ 29

O Valor do Estudo da Face Humana na Reprodução Assistida

Paulo Franco Taitson, Thiago Pacheco Heringer, Hélio Henrique de Araújo Brito _____ 33

EVENTOS

_____ 41

ESHRE 2007 - Prêmio de Trabalho Clínico - O Melhor Tema Livre

Clinical Science Award for oral presentation -Award Winner:

15 anos do Registro Latinoamericano (RLA) de reprodução assistida. Aprendizado e desafios após o nascimento de 44978 crianças.

15th anniversary of the Latin American Registry (RLA) of assisted reproduction. Teachings and challenges after the birth of 44,978 children

Zegers-Hochschild, F; Galdames I, V; Schwarze M ; Franco Júnior, JG

Terminamos o ano de 2007 honrados pelo prêmio do congresso europeu de reprodução, que atribuiu ao Registro Latinoamericano o prêmio de melhor trabalho clínico apresentado. Parabéns aos autores! Parabéns igualmente a todas as clínicas que reportaram seus dados e se sentem igualmente agraciadas e parte deste time vitorioso.

Feliz 2008 para todos

Maria do Carmo Borges de Souza
Christina de Albuquerque da Rocha

GONAL-^f[®]

alfafolitropina

Preenchido por massa **Injetor**

O FSH consistente¹⁻⁶

CONSISTÊNCIA

Dosado pelo conteúdo de proteína

Variação de

+/- 2%

Recombinante*

Produção exata das isoformas

SE-HPLC*

*Cromatografia Líquida de Alto Desempenho por Exclusão de Tamanho

Purificação e quantidade exatas

Três apresentações multi-doses para uso individualizado em IO e ART

900 UI/1,5 ml	66 µg/1,5 ml	com 14 agulhas
450 UI/0,75 ml	33 µg/0,75 ml	com 7 agulhas
300 UI/0,5 ml	22 µg/0,50 ml	com 5 agulhas

GONAL-^f alfafolitropina – hormônio folículo estimulante recombinante (r-hFSH). Para uso subcutâneo. **USO ADULTO. Composição e apresentações:** GONAL-^f 300 UI/0,5 mL: 1 injetor contendo 0,5 mL de alfafolitropina e 5 agulhas; GONAL-^f 450 UI/0,75 mL: 1 injetor contendo 0,75 mL de alfafolitropina e 7 agulhas; GONAL-^f 900 UI/1,5 mL: 1 injetor contendo 1,5 mL de alfafolitropina e 14 agulhas. GONAL-^f 75 UI (5,5 µg): alfafolitropina 5,5 µg (75 UI); solvente: 1 mL de água para injeção; GONAL-^f 450 UI/0,75 mL (33 µg/0,75 mL): alfafolitropina 43,68 µg (600 UI); solvente: 1 mL de álcool benzílico 0,9% em água para injeção e 7 seringas para injeção graduadas em UI de r-FSH; GONAL-^f 1050 UI/1,75 mL (77 µg/1,75 mL): alfafolitropina 87,36 µg (1200 UI); solvente: 2 mL de álcool benzílico 0,9% em água para injeção e 15 seringas para injeção graduadas em UI de r-FSH. **Indicações:** (I) Anovulação (incluindo a Síndrome do Ovario Policístico) em mulheres que não responderam ao tratamento com citrato de clomifeno. (II) Para o estímulo do desenvolvimento multifollicular em pacientes submetidas à superovulação em técnicas de reprodução assistida (TRA). (III) Em associação com hormônio luteinizante (LH) para a estimulação do desenvolvimento follicular em mulheres com insuficiência grave de LH e FSH (nível sérico de LH endógeno menor que 1,2 UI/L). (IV) Para estimular a produção de espermatozoides no homem com hipogonadismo hipogonadotrófico congênito ou adquirido, em associação com a gonadotropina coriônica humana (hCG). **Contra-indicações:** Hipersensibilidade à folitropina, FSH ou a qualquer dos excipientes; tumores do hipotálamo ou da hipófise. Nas mulheres: hipertrofia ou cistos ovarianos não originários da Síndrome do Ovario Policístico; hemorragias ginecológicas de etiologia desconhecida; carcinoma do útero, ovário ou mama; quando uma resposta efetiva não pode ser obtida por insuficiência ovariana primária ou malformações dos órgãos sexuais incompatíveis com a gravidez ou por tumores fibroses do útero incompatíveis com a gravidez. Em homens: insuficiência testicular primária. **Precauções e advertências:** Na mulher, a utilização do GONAL-^f requer uma monitorização ecográfica regular da resposta ovariana e a avaliação dos níveis de estradiol. Pode haver um certo grau de variabilidade na resposta individual ao FSH. Tanto no homem como na mulher, deve ser utilizada a dose mais baixa eficaz, em relação ao objetivo do tratamento. A auto-administração do GONAL-^f deve ser unicamente efetuada por pacientes adequadamente treinados, com recomendações de um especialista. As pacientes devem ser avaliadas quanto a hipotrioidismo, insuficiência da supra-renal, hipoproteinemia e tumores do hipotálamo ou hipófise, e fomedo tratamento específico adequado. Nas mulheres submetidas à estimulação do crescimento follicular, pode ocorrer um aumento do volume ovariano ou o desenvolvimento de hiperestimulação. Uma excessiva resposta ovariana ao tratamento com gonadotropinas raramente origina uma OHSS, exceto se for administrado hCG para induzir a ovulação. Em casos de hiperestimulação ovariana, não se deve administrar hCG e recomenda-se à paciente a abster-se de relações sexuais ou utilizar métodos anticoncepcionais de barreira durante, pelo menos, 4 dias. A OHSS pode progredir rapidamente (dentro de 24 horas até vários dias) e se agravar, devendo-se, portanto, acompanhar as pacientes durante pelo menos duas semanas após a administração de hCG. Maior incidência ocorre em mulheres com a síndrome do ovário policístico. A adesão à posologia recomendada e ao esquema de administração, além de uma cuidadosa monitorização da terapêutica minimizam a incidência de tais efeitos. O risco de gravidez múltipla, em mulheres submetidas a TRA, está relacionado com o número e qualidade de embriões implantados, e com a idade da paciente. As pacientes devem ser avisadas do risco potencial de nascimentos múltiplos. A incidência de perda da gravidez por aborto é mais elevada em mulheres submetidas à estimulação do crescimento follicular para indução da ovulação ou TRA do que na população normal. Mulheres com história de doença tubarica apresentam risco de desenvolvimento de uma gravidez ectópica. A prevalência de má formação congênitas após TRA pode ser ligeiramente superior relativamente às concepções espontâneas, podendo ser originada pelas diferenças nas características dos progenitores (ex: idade materna, características do esperma) e pelas gravidezes múltiplas. O risco de episódios tromboembólicos pode aumentar em mulheres com tendência para esta ocorrência. A própria gravidez também aumenta o risco de trombose. Valores elevados de FSH endógeno, no homem, são indicativos de insuficiência testicular primária. Estes pacientes não respondem ao tratamento com GONAL-^f/hCG. Recomenda-se a análise do esperma 4 a 6 meses após o início do tratamento. Não há indicação para a utilização de GONAL-^f durante a gravidez e aleitamento. O uso concomitante de GONAL-^f com outros medicamentos utilizados na estimulação da ovulação, (por ex. hCG, citrato de clomifeno), pode potenciar a resposta folicular, enquanto que a utilização simultânea de um agonista do GnRH, pode aumentar a dose de GONAL-^f necessária para provocar uma resposta ovariana adequada. Não foram relatadas outras interações clinicamente significativas durante a terapêutica com GONAL-^f. Não foram observados casos de superdosagem de GONAL-^f, no entanto, pode admitir-se a ocorrência da Síndrome de Hiperestimulação Ovariana. **Reações adversas:** Muito comuns: cistos ovarianos; reações no local da injeção; cefaléia. Comuns: OHSS ligeira a moderada; dor abdominal e sintomas gastrointestinais, tais como náuseas, vômitos, diarreia, cólica e distensão abdominal. Pouco comuns: OHSS grave. Raras: torção ovariana. Muito raras: tromboembolismo, geralmente associado com OHSS grave; reações alérgicas sistêmicas moderadas (eritema, rash ou edema facial). No homem: Comuns: ginecomastia, acne e incremento ponderal. **Posologia e modo de usar:** GONAL-^f injetor nas apresentações de 900 UI/1,5 mL, 450 UI/0,75 mL e 300 UI/0,5 mL devem ser aplicados por via subcutânea. GONAL-^f na forma de pó liofilizado destina-se à administração subcutânea ou intramuscular. A fim de evitar a aplicação de grandes volumes, o conteúdo de até 3 ampolas de GONAL-^f 75 UI (5,5 µg) pode ser dissolvido em 1 mL de solvente. GONAL-^f multidoses nas apresentações de 450 UI/0,75 mL (33 µg/0,75 mL) e 1050 UI/1,75 mL (77 µg/1,75 mL) não devem ser misturados com GONAL-^f 75 UI (5,5 µg) ou outros medicamentos na mesma seringa. Mulheres com Anovulação (incluindo SOP): O tratamento deve começar dentro dos primeiros 7 dias do ciclo menstrual e deve ser ajustado pela resposta individual da paciente. Um regime comum inicia com 75-150 UI FSH por dia e é aumentado em 37,5 UI (até 75 UI) em intervalos de 7 ou 14 dias, se necessário. A dose máxima diária não é normalmente superior a 225 UI de FSH. Se a paciente não responder após 4 semanas, o ciclo deve ser abandonado e reconhecido com uma dose inicial mais alta. Quando é obtida uma resposta ótima, injeção única de hCG deve ser administrada 24-48 horas após a última injeção de GONAL-^f. Se for obtida uma resposta excessiva, o tratamento deve ser interrompido e a aplicação do hCG suspensa. O tratamento deve recomeçar no próximo ciclo com dosagem menor. Estimulação ovariana em Técnicas de Reprodução Assistida: Um regime de superovulação envolve a administração de 150-225 UI de GONAL-^f por dia, começando no 2º ou 3º dia do ciclo, até que seja atingido desenvolvimento follicular adequado, com a dose ajustada de acordo com a resposta da paciente, geralmente não mais que 450 UI por dia. Em geral, obtém-se um desenvolvimento follicular adequado em média no décimo dia do tratamento (de 5 a 20 dias). Uma única injeção de hCG é administrada 24-48 horas após a última injeção de GONAL-^f para induzir a maturação final do folículo. "Down-regulation" com agonista do hormônio liberador de gonadotropina (GnRH) é usado a fim de suprimir o aumento de LH endógeno. Geralmente GONAL-^f é administrado 2 semanas após o início do tratamento com o agonista. Mulheres com anovulação por deficiência grave de LH e FSH: GONAL-^f deve ser administrado em injeções diárias, simultaneamente com a alfafolitropina. O tratamento deve ser adaptado à resposta individual de cada paciente. Inicia-se com a administração diária de 75 UI de alfafolitropina e com 75 a 150 UI de FSH. O ajuste da dose pode ser efetuado após intervalos de 7 a 14 dias com incrementos de 37,5 a 75 UI, até 5 semanas. Quando se obtém uma resposta ótima, deve ser administrada uma única injeção de hCG, de 24 a 48 horas após as últimas injeções de GONAL-^f e de alfafolitropina (Luviers[®]). Recomenda-se que a paciente tenha relações sexuais no dia da administração de hCG, bem como no dia seguinte. Como alternativa, pode ser efetuada uma inseminação intra-uterina. Pode ser necessária uma resposta excessiva, o tratamento deve ser interrompido e o hCG não deve ser administrado. O tratamento deve ser reiniciado no ciclo seguinte, com dose de FSH inferior à do ciclo anterior. Homem infértil com deficiência hormonal: GONAL-^f é usualmente prescrito na dose de 150 UI, 3 vezes por semana em combinação com a gonadotropina coriônica humana (hCG) por, pelo menos, 4 meses. A experiência clínica atual indica que pode ser necessário um tratamento de pelo menos 18 meses para obter a espermatozoidese. **Conservação:** GONAL-^f injetor deve ser mantido sob refrigeração entre 2 e 8°C, protegido da luz. Não congelar. Durante o período de validade, pode ser guardado abaixo de 25°C por até 28 dias e descartado após esse período. Qualquer quantidade restante de medicamento após passados 28 dias da primeira abertura deve ser desprezado. Não utilize o medicamento se existirem partículas na solução ou se a solução não estiver límpida. Mantenha o GONAL-^f em sua embalagem original. Nestas condições, o prazo de validade é de 24 meses a partir da data de fabricação. GONAL-^f pó liofilizado deve ser conservado em temperatura não superior a 25°C, protegido da luz e da umidade. Nestas condições, o prazo de validade é de 24 (vinte e quatro) meses. GONAL-^f 75 UI (5,5 µg) – A solução reconstituída deve ser injetada imediatamente. GONAL-^f multidoses 1050 UI e 450 UI – Após reconstituído com o solvente, deve ser mantido abaixo de 25°C por um período máximo de 28 dias - não congelar - e não devem ser misturados com GONAL-^f monodoses de 75 UI (5,5 µg) ou outros medicamentos na mesma seringa. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** SAS- Serviço de Atendimento Sero: 0800-113320. Reg MS 1.1124.0205.

Gonal-F® - alfafolitropina - hormônio folículo estimulante recombinante (r-hfsh) - para uso subcutâneo. Uso adulto. **Composição e apresentações:** Gonal-F® 900 ui/1,5 ml: 1 injetor contendo 1,5 ml de alfafolitropina e 14 agulhas; Gonal-F® 450 ui/0,75 ml: 1 injetor contendo 0,75 ml de alfafolitropina e 7 agulhas; Gonal-F® 300 ui/0,5 ml: 1 injetor contendo 0,5 ml de alfafolitropina e 5 agulhas. **Indicações:** (i) anovulação (incluindo a síndrome do ovário policístico) em mulheres que não responderam ao tratamento com citrato de clomifeno, (ii) para o estímulo do desenvolvimento multifollicular em pacientes submetidas à superovulação em técnicas de reprodução assistida (tra), (iii) em associação com hormônio luteinizante (lh) para a estimulação do desenvolvimento follicular em mulheres com insuficiência grave de lh e fsh, (iv) para estimular a produção de espermatozoides no homem com hipogonadismo hipogonadotrófico congênito ou adquirido, em associação com a gonadotropina coriônica humana (hcg). **Contra-indicações:** hipersensibilidade à folitropina, fsh ou a qualquer dos excipientes; tumores do hipotálamo ou da hipófise. Nas mulheres: hipertrofia ou cistos ovarianos não originários da síndrome do ovário policístico; hemorragias ginecológicas de etiologia desconhecida; carcinoma do útero, ovário ou mama; quando uma resposta efetiva não pode ser obtida por insuficiência ovariana primária ou malformações dos órgãos sexuais incompatíveis com a gravidez ou por tumores fibróides do útero incompatíveis com a gravidez. Em homens: insuficiência testicular primária. **Cuidados e precauções especiais:** as pacientes devem ser avaliadas quanto a hipotireoidismo, deficiência adrenocortical, hiperprolactinemia e tumores da pituitária ou hipotálamo, e fornecido tratamento específico adequado. A possibilidade de hiperestímulo e ovulação múltipla deve ser considerada. Esta síndrome pode ser tomar um evento médico sério caracterizado por cistos ovarianos grandes que tendem a se romper. É portanto prudente retirar o hcg em tais casos e avisar a paciente para privar-se de relações sexuais durante, pelo menos 4 dias. O risco de gravidez múltipla, após técnica de reprodução assistida, está relacionado ao número de óocitos/embriões transferidos. Valores elevados de fsh endógeno, no homem, são indicativos de insuficiência testicular primária. Estes pacientes não respondem ao tratamento com Gonal-F®/hcg. **Reações adversas:** muito comuns: cistos ovarianos; reações no local da injeção; cefaléia. Comuns: ohss leve a moderada; dor abdominal e sintomas gastrointestinais, tais como náuseas, vômitos, diarreia, cólica e distensão abdominal. Pouco comuns: ohss grave. Raras: torção ovariana. Muito raras: tromboembolismo, geralmente associado com ohss grave; reações alérgicas sistêmicas moderadas (eritema, rash ou edema facial). No homem: comuns: ginecomastia, acne e incremento ponderal. **Posologia e modo de usar:** Gonal-F® 900 ui/1,5 ml, 450 ui/0,75 ml e 300 ui/0,5 ml devem ser aplicados por via subcutânea. **Mulheres com anovulação (incluindo sop):** o tratamento deve começar dentro dos primeiros 7 dias do ciclo menstrual e deve ser ajustado pela a resposta individual da paciente. Um regime comum inicia com 75-150 ui fsh por dia e é aumentado em 37,5 ui (até 75 ui) em intervalos de 7 ou 14 dias, se necessário. Se a paciente não responder após 4 semanas, o ciclo deve ser abandonado e recomeçado com uma dose inicial mais alta. Quando é obtida uma resposta ótima, injeção única de hcg deve ser administrada 24-48 horas após a última injeção de Gonal-F®. Se for obtida uma resposta excessiva, o tratamento deve ser interrompido e a aplicação do hcg suspensa. O tratamento deve recomeçar no próximo ciclo com dosagem menor. **Estimulação ovariana em técnicas de reprodução assistida:** um regime de superovulação envolve a administração de 150-225 ui de Gonal-F® por dia, começando no 2º ou 3º dia do ciclo, até que seja atingido desenvolvimento follicular adequado, com a dose ajustada de acordo com a resposta da paciente, geralmente não mais que 450 ui por dia. Uma única injeção de hcg é administrada 24-48 horas após a última injeção de Gonal-F® para induzir a maturação final do folículo. "Down-regulation" com agonista do hormônio liberador de gonadotropina (nrh) é usado a fim de suprimir o aumento de lh endógeno. Geralmente Gonal-F® é administrado 2 semanas após o início do tratamento com o agonista. **Homem infértil com deficiência hormonal:** Gonal-F® é usualmente prescrito na dose de 150 ui, 3 vezes por semana em combinação com a gonadotropina coriônica humana (hcg) por, pelo menos, 4 meses. A experiência clínica atual indica que pode ser necessário um tratamento de pelo menos 18 meses para obter a espermato gênese. **Mulheres com anovulação por deficiência grave de lh e fsh:** Gonal-F® deve ser administrado em injeções diárias, simultaneamente com a alfafolitropina. O tratamento deve ser adaptado à resposta individual de cada paciente. Inicia-se com a administração diária de 75 ui de alfafolitropina e com 75 a 150 ui de fsh. O ajuste da dose pode ser efetuado após intervalos de 7 a 14 dias com incrementos de 37,5 a 75 ui, até 5 semanas. Quando se obtém uma resposta ótima, deve ser administrada uma única injeção de hcg, de 24 a 48 horas após as últimas injeções de Gonal-F® e de alfafolitropina (Luveris®). Recomenda-se que a paciente tenha relações sexuais no dia da administração de hcg, bem como no dia seguinte. Como alternativa, pode ser efetuada uma inseminação intra-uterina. Pode ser necessário um suporte da fase lútea. Caso seja obtida uma resposta excessiva, o tratamento deve ser interrompido e o hcg não deve ser administrado. O tratamento deve ser reiniciado no ciclo seguinte, com dose de fsh inferior à do ciclo anterior. **Conservação:** Gonal-F® injetor deve ser mantido sob refrigeração entre 2 e 8°C, protegido da luz. Não congelar. Durante o período de validade, pode ser guardado abaixo de 25°C por até 28 dias e descartado após esse período. Qualquer quantidade restante de medicamento após passados 28 dias da primeira abertura deve ser desprezado. Não utilize o medicamento se existirem partículas na solução ou se a solução não estiver límpida. Mantenha o Gonal-F® em sua embalagem original. Nestas condições, o prazo de validade é de 24 meses a partir da data de fabricação. Venda sob prescrição médica. Sas - serviço de atendimento serono: 0800-113320. Reg ms 1.1124.0205.

Luveris® 75 UI - alfafolitropina - para uso subcutâneo - uso adulto. **Composição e apresentação:** cada frasco-ampola contém 75 ui de alfafolitropina na forma de pó liofilizado para injeção. Solvente: água para injeção. Caixa com 1 frasco-ampola de pó liofilizado e 1 frasco-ampola de solvente. **Indicação:** em mulheres com insuficiência de lh e fsh, o objetivo da terapêutica com Luveris®, em associação com o fsh, é o desenvolvimento de um único "folículo de graaf" maduro, a partir do qual será liberado o óvulo após a administração de gonadotropina coriônica humana (hcg). Luveris® deve ser administrado segundo um esquema de injeções diárias, simultaneamente ao fsh. Dado que estas pacientes são amenorréicas e têm uma reduzida secreção de estrogênios endógenos, o tratamento pode ser iniciado a qualquer momento. **Contra-indicações:** hipersensibilidade às gonadotrofinas ou a qualquer dos excipientes; carcinoma do útero, ovário ou mama; tumores ativos, não tratados, do hipotálamo e da hipófise; hipertrofia ou cistos ovarianos não originados pela doença do ovário policístico; hemorragias ginecológicas de etiologia desconhecida. **Precauções e advertências:** não deve ser utilizado em situações incompatíveis com a gravidez. As pacientes devem ser examinadas em relação a hipotireoidismo, insuficiência da supra-renal, hiperprolactinemia e tumores do hipotálamo ou hipófise. Risco aumentado de hiperestimulação, podendo conduzir a um grave quadro clínico, caracterizado por cistos ovarianos de grandes dimensões, que podem romper. Uma excessiva resposta ovariana pode originar uma hiperestimulação significativa, exceto se houver administração de hcg para induzir a ovulação. Portanto, é prudente não administrar hcg nestes casos e recomendar à paciente a abstenção de relações sexuais, ou métodos anticoncepcionais de barreira, durante pelo menos 4 dias. Recomenda-se a monitorização com ecografia, bem como medições do estradiol. Incidência de gravidez e nascimentos múltiplos. **Reações adversas:** a alfafolitropina é utilizada em associação com alfafolitropina, sendo difícil atribuir efeitos indesejáveis a qualquer das substâncias utilizadas. Espera-se que o perfil de segurança do Luveris® seja muito similar ao do hhl de origem urinária, com exceção de reações de hipersensibilidade e reações no local da administração. Foram relatadas reações ligeiras e moderadas no local da injeção (equimose, dor, rubor, prurido ou edema). Não foram relatadas reações graves no local da injeção nem reações alérgicas sistêmicas após a administração de Luveris®. A síndrome de hiperestimulação ovariana foi observada em menos de 6% das doentes tratadas com Luveris®. Não foi relatada síndrome de hiperestimulação ovariana grave. Tromboembolia, torção dos anexos (uma complicação do aumento do volume ovariano) e hiperovulatório foram raramente associados com a terapêutica com gonadotrofinas menopáusicas humanas. Pode também ocorrer gravidez ectópica, especialmente em mulheres com história de doença tubária anterior. **Posologia:** o tratamento deve ser adaptado à resposta individual da paciente, avaliada pela medição das dimensões do folículo por meio de ecografia e do nível de estrogênios. Inicia-se com a administração diária de 75 ui de alfafolitropina, em associação com 75-150 ui de fsh. Se um aumento da dose de fsh for considerado apropriado, o ajuste da dose deve ser efetuado, de preferência, após intervalos de 7-14 dias e, de preferência, com incrementos de 37,5-75 ui. Pode ser aceitável prolongar a duração da estimulação em qualquer um dos ciclos até 5 semanas. Quando se obtém uma resposta ótima, deve ser administrada uma única injeção de hcg, 24-48 horas após as últimas injeções de Luveris® e de fsh. Recomenda-se que a paciente tenha relações sexuais no dia da administração de hcg, bem como no dia seguinte. Como alternativa, pode ser efetuada uma inseminação intra-uterina. Pode ser necessário um suporte da fase lútea, uma vez que a ausência de substâncias com atividade luteotrópica (lh / hcg) após a ovulação pode conduzir a uma falência prematura do corpo lúteo. Se for obtida uma resposta excessiva, o tratamento deve ser interrompido e o hcg não deve ser administrado. O tratamento deve ser reiniciado no ciclo seguinte, com uma dose de fsh inferior à do ciclo anterior. **Modo de usar:** para administração subcutânea única e imediata após abertura e reconstituição. Luveris® pode ser misturado com gonal-F® monodose em 1 ml de solvente, e co-administrado numa injeção única. Neste caso Luveris®

deve ser reconstituído em primeiro lugar e depois utilizado para reconstituir o pó de alfafolitropina. Os produtos não utilizados ou os resíduos devem ser descartados. **Conservação:** conservar em temperatura abaixo de 25°C. Proteger da luz. Nessas condições o medicamento é estável por 24 meses. Venda sob prescrição médica. Sas - serviço de atendimento serono: 0800-113320. Reg ms 1.1124.0221.

Cetrotide® - acetato de cetrorrelix - para uso subcutâneo - uso adulto - **composição e apresentação:** Cetrotide® na forma de pó-liofilizado para injetável 0,25 mg contém: acetato de cetrorrelix 0,26 - 0,30 mg (equivalente a 0,25 mg de cetrorrelix base). Cada tubo contendo: 1 frasco-ampola de pó liofilizado; 1 seringa pré-enchida com 1 ml de diluente; 1 agulha para diluição; 1 agulha para injeção subcutânea; 2 lenços umedecidos em álcool. **Indicação:** Cetrotide® é indicado para a prevenção da ovulação prematura em pacientes submetidas à estimulação ovariana controlada. **Contra-indicações:** hipersensibilidade ao acetato de cetrorrelix, a hormônios peptídicos extrínsecos ou a qualquer outro componente da fórmula. Grávidas, lactantes ou pós-menopausa, disfunção renal e hepática moderada e grave ou qualquer condição patológica. **Precauções e advertências:** Cetrotide® só deve ser utilizado em ciclos repetidos após avaliação cuidadosa da relação risco/benefício. Não deve ser administrado durante a gravidez e lactação. Deve ser dado suporte à fase lútea, de acordo com a prática médica reprodutiva. **Reações adversas:** podem ocorrer reações leves e transitórias no local da injeção como eritema, prurido e edema local. Ocasionalmente foram relatados efeitos sistêmicos, como náusea e dor de cabeça. **Posologia e modo de usar:** Cetrotide® deve ser administrado por injeção subcutânea. Deve ser administrado em dose única diária, de manhã ou à noite: à noite; o tratamento com Cetrotide® 0,25 mg deve iniciar-se no dia 5 da estimulação ovariana (96 a 120 horas após o início da estimulação ovariana) com gonadotrofinas, devendo continuar por todo o período de tratamento, até a noite anterior à aplicação do hcg para a indução da ovulação. Pela manhã; o tratamento com Cetrotide® 0,25 mg deve iniciar-se no dia 5 ou 6 da estimulação ovariana (aproximadamente 96 a 120 horas após o início da estimulação ovariana) com gonadotrofinas e deve ser continuado durante o período de tratamento, incluindo o dia da aplicação do hcg. Perda de dose: é ideal que Cetrotide® seja administrado em intervalos de 24 horas, mas se houver perda de administração de Cetrotide® 0,25 mg no tempo certo, não há problema em administrar esta dose em horário diferente no mesmo dia. **Conservação:** deve ser conservado em temperatura inferior a 25°C, ao abrigo da luz e umidade e mantido em sua embalagem original. Venda sob prescrição médica. Sas - serviço de atendimento serono: 0800-113320. Reg ms 1.1124.0220

Ovidrel® 250 µg (alfacoriogonadotropina hcg recombinante (r-hcg)) para uso subcutâneo - uso adulto - **composição e apresentação:** Ovidrel® 250 mg / 0,5 ml: 1 seringa pré-enchida pronta para uso contendo 250 microgramas de alfacoriogonadotropina em 0,5 ml de solução. Ovidrel® 250 mg: 1 frasco-ampola de pó liofilizado contendo alfacoriogonadotropina 285 µg e 1 frasco-ampola de solvente com 1 ml de água para injeção. **Indicações:** Ovidrel® é utilizado em mulheres submetidas às técnicas de reprodução assistida, após a administração de outros medicamentos para promover o crescimento e desenvolvimento follicular, para a maturação desses folículos e a luteinização. Ovidrel® também é utilizado em anovulação ou oligo-ovulação. **Contra-indicações:** Ovidrel® não é indicado nos casos de: tumores do hipotálamo e da hipófise; hipersensibilidade à substância ativa ou aos excipientes; hipertrofia ou cistos ovarianos sem origem de ohss; hemorragia ginecológica sem explicação; carcinoma ovariano, uterino ou de mama; gestação extra-uterina nos últimos 3 meses; alterações tromboembólicas ativas; ou em situações onde uma resposta efetiva não possa ser obtida (falência ovariana primária, malformação dos órgãos sexuais incompatíveis com a gravidez, pós menopausa). **Precauções e advertências:** antes de iniciar o tratamento, a paciente deve ser avaliada quanto a hipotireoidismo, insuficiência da supra-renal, hiperprolactinemia e tumores do hipotálamo ou hipófise. Precauções especiais devem ser tomadas para mulheres com doença sistêmica clinicamente significativa, em que uma gravidez possa levar a um agravamento da situação. O tratamento com Ovidrel® pode aumentar o risco de "síndrome de hiperestimulação ovariana (ohss)", sendo o sintoma mais comum a dor abdominal. A paciente não deve ter relações sexuais durante, no mínimo, 4 dias, ou utilizar um método contraceptivo de barreira. A frequência de gestações e nascimentos múltiplos é aumentada em pacientes submetidas a este tratamento. O risco de desenvolvimento de ohss ou de gestação múltipla é reduzido se for utilizada a dose recomendada de Ovidrel®, e houver cuidadoso monitoramento ecográfico e dos níveis de estradiol. **Reações adversas:** síndrome de hiperestimulação ovariana de natureza leve a moderada (observada em aproximadamente 4% das pacientes). Dor abdominal, náusea e vômito, cefaléia, astenia, dor e reação no local da injeção, depressão, irritabilidade, agitação, diarreia e mastalgie. Pode ocorrer gestação ectópica, torção ovariana e outras complicações decorrentes das técnicas de reprodução assistida. **Posologia e modo de usar:** o conteúdo de uma seringa pré-enchida ou de um frasco-ampola de Ovidrel® (250 microgramas) deve ser administrado 24 a 48 horas depois de se ter alcançado uma estimulação ótima do desenvolvimento follicular. **Estabilidade e conservação:** Ovidrel® 250 mg / 0,5 ml - solução injetável em seringa pré-enchida - deve ser conservado sob refrigeração (2°C a 8°C). Mantenha o medicamento em sua embalagem original. A seringa com solução injetável pode ser armazenada a uma temperatura de 25°C ou inferior por, no máximo, 30 dias sem refrigeração. Caso o medicamento não seja usado dentro de 30 dias, a solução deverá ser descartada. Ovidrel® 250 mg - pó liofilizado injetável - conservar em temperatura abaixo de 25°C. Manter na embalagem original. Nestas condições a validade é de 24 meses. Após a reconstituição do Ovidrel® com o solvente, deve ser utilizado imediatamente e de uma só vez. Qualquer porção da solução não utilizada deve ser descartada. Venda sob prescrição médica. Sas - serviço de atendimento serono: 0800-113320. Reg ms 1.1124.0222.

Crinone® - progesterona - gel vaginal 8% - uso adulto - **composição e apresentações:** cada aplicador dosifica 1,125 g de gel vaginal com 90 mg de progesterona (8%). Caixas com 7 ou 15 aplicadores de 90 mg. **Indicação:** Crinone® (progesterona) é indicado para o tratamento de infertilidade devido à fase lútea inadequada. Para uso nos procedimentos de fertilização in vitro, onde a infertilidade é principalmente devida a problemas tubários, idiopáticos ou relativa a endometriose associada a ciclos ovulatórios normais. **Contra-indicações:** hipersensibilidade conhecida a progesterona ou a qualquer um dos componentes da formulação; hemorragia uterina anormal não diagnosticada; câncer de mama ou de órgãos genitais; porfiria aguda; tromboflebite, distúrbios tromboembólicos, embolia cerebral; aborto oculto ou incompleto. **Precauções e advertências:** atenção particular às mamas e órgãos pélvicos, devendo ser obtido esfregado de papanicolaou. Devido à possibilidade de retenção hídrica, qualquer condição que possa ser influenciada por este fator necessita observação cuidadosa. Em casos de sangramento vaginal irregular, avaliar se há doença orgânica presente. Crinone® deve ser interrompido se houver recidiva de depressão grave. Sintomas da pós-menopausa podem ser mascarados. Os progestágenos podem piorar as manifestações de porfiria pré-existente. Crinone® pode ser administrado durante o primeiro trimestre de gestação de um procedimento de tra, em caso de deficiência no corpo lúteo. Crinone® não é indicado para o uso em aborto habitual ou ameaça de aborto. A amamentação deve ser suspensa durante o tratamento com Crinone®. Não operar maquinário perigoso e/ou dirigir veículos motores. Crinone® não deve ser utilizado em crianças. Possibilidade de distúrbios tromboticos (incluindo tromboflebite, trombose retiniana, embolismo cerebral e pulmonar). Nestes casos o tratamento deve ser imediatamente interrompido. **Reações adversas:** dor abdominal, dor nas costas ou articulações das pernas e dor no perineo, flatulência, dor/tensão nas mamas, fadiga, ondas de calor, lactação e retenção de fluidos, constipação, diarreia, dispênea, eructação, dor gástrica, náusea e vômitos, redução da libido, dismenorréia, desaparencia, aumento da micção, leucorréia, noctúria, irritação/prurido vaginal, sangramento vaginal e secreção vaginal, tontura, depressão, labilidade emocional, cefaléia, insônia, irritabilidade, nervosismo e sonolência, acne, prurido genital. Não é conhecida a relação da terapia com Crinone® para todos os eventos acima citados. A maioria dos eventos são leves e transitórios e frequentemente são resolvidos sem a interrupção do tratamento. **Posologia e modo de usar:** a administração vaginal para induzir uma transformação secretória do endométrio está indicada somente em casos em que o endométrio tenha sido adequadamente suprido de estrogênio, endógeno ou exógeno. Nestes casos o sangramento por supressão usualmente ocorre dentro de 3 a 7 dias após a interrupção da terapia com Crinone®, a menos que tenha ocorrido gestação. **Variação usual de dosagem:** o esquema de dosagem assume o intervalo entre as menstruações ou ciclos estrogênicos como sendo de 28 dias e o dia 1 como sendo o primeiro dia de sangramento ou da terapia estrogênica cíclica. Complementação ou reposição de progesterona como parte do esquema das técnicas de reprodução assistida - para suporte endometrial como parte da tra, iniciando administrando Crinone® em uma ou duas aplicações diárias. A maioria das mulheres respondem com 90 mg diariamente. Entretanto, algumas mulheres podem precisar de 90 mg duas vezes ao dia. Se a gravidez for confirmada, continuar com Crinone® até 12 semanas. Crinone® deve ser administrado, diariamente, no mesmo horário. Doses menores podem ser usadas em mulheres ovulando normalmente, com suspeita de deficiência de progesterona, como deficiência da fase lútea. **Conservação:** conservar o medicamento em temperatura entre 15°C e 25°C. Venda sob prescrição médica. Sas - serviço de atendimento serono: 0800-113320. Reg ms 1.1124.0217

A Morfologia da Amostra Seminal não Prediz os Resultados em Ciclos de ICSI

Sperm Sample Morphology is not Correlated with ICSI Outcomes

Queiroz P, Tanil CT, Braga DPAF, Bonetti TC, Iaconelli Jr. A, Pasqualotto, FF, Borges Jr. E

Fertility – Centro de Fertilização Assistida

Avenida Brigadeiro Luís Antônio, 4.545, São Paulo, SP, Brazil
Fax: (11) 3885-9858
email: edson@fertility.com.br

RESUMO

OBJETIVO

A injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI) tem sido utilizada para o tratamento de infertilidade, particularmente em casos de alteração seminal grave. O papel do espermatozóide no sucesso da ICSI ainda é controverso, assim como a correlação entre a morfologia espermática na amostra seminal e a qualidade do único espermatozóide utilizado para injeção. O presente estudo teve como objetivo investigar se a avaliação da morfologia espermática na amostra seminal está relacionada aos resultados em ciclos de ICSI.

MATERIAIS E MÉTODOS

Noventa ciclos de reprodução assistida foram realizados no período de Agosto de 2004 à Março de 2005. As amostras seminais foram obtidas por masturbação e processadas por migração ascendente de espermatozoides. Antes e após o processamento, foi realizada análise seminal completa e a avaliação da morfologia de acordo com o critério estrito de Kruger. As mulheres foram submetidas a estímulo ovariano controlado através da administração do agonista de GnRH associada ao FSH recombinante. Trinta e seis horas antes da punção oocitária foi administrado hCG recombinante para a maturação oocitária final.

RESULTADOS

Após a ICSI, 535 embriões foram avaliados em relação à fertilização, morfologia de pró-núcleo, clivagem precoce e

morfologia, número de células no segundo e terceiros dias de desenvolvimento (dia da transferência). A correlação entre a porcentagem de espermatozoides morfologicamente normais (pré e pós preparo) e sucesso da ICSI foi analisada, e foi observado um aumento significativo na porcentagem de espermatozoides com morfologia normal quando comparadas as amostras pré e pós processamento (2,3% vs 4,5%, $P < 0,001$). Foi também observada uma diferença significativa na concentração, motilidade total e motilidade progressiva das amostras pré *versus* pós preparo ($81,4 \pm 54,6$ vs $4,4 \pm 8,3$, $p < 0,001$; $63,9\%$ vs $91,4\%$, $p < 0,001$; $54,3\%$ vs $84,4\%$, $p < 0,001$, respectivamente).

CONCLUSÃO

Nossos resultados não apresentaram correlação significativa entre a porcentagem de espermatozoides com morfologia normal em toda amostra, antes ou após o processamento, e os parâmetros relacionados ao sucesso da ICSI, como taxa de fertilização ($P = 0,602$ e $P = 0,894$, pré e pós processamento, respectivamente); morfologia de pró-núcleo ($P = 0,289$ e $P = 0,316$, pré e pós processamento, respectivamente); clivagem precoce ($P = 0,224$ e $P = 0,604$, pré e pós processamento, respectivamente) e morfologia embrionária no terceiro dia de desenvolvimento ($P = 0,113$ e $P = 0,807$, pré e pós processamento, respectivamente). Sabe-se que a seleção do espermatozóide com melhor morfologia e motilidade para injeção é realizada pelo embriologista. Portanto concluímos que a morfologia dos espermatozoides humanos de acordo com o critério estrito de Kruger não possui valor preditivo no sucesso da ICSI.

Palavras-chave: ICSI, morfologia, espermatozóide

Recebido em 26/10/2007
Avaliado e aceito em 19/11/2007

ABSTRACT

OBJECTIVE

Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) has become the treatment of choice of severe male factor of infertility. The role of the spermatozoa in the success of ICSI is controversial. We hypothesized that the sperm sample morphology is correlated to the quality of the single sperm used for ICSI, therefore the aim of the present study was to investigate whether embryo quality is influenced by the sample morphology in ICSI cycles and to compare sperm morphology pre and post-swim-up.

MATERIAL AND METHODS

Ninety assisted reproduction cycles were performed between August 2004 and March 2005. All semen samples were obtained by masturbation and processed by swim up. Before swim-up, routine semen analysis was performed and such before as after sperm preparation, morphology was assessed by Kruger strict criteria. The women were submitted to controlled ovarian hyperstimulation achieved by a long pituitary down regulation using a GnRH agonist followed by ovarian stimulation with recombinant-FSH. Third six hours before ovum pick-up rhCG was administrated to trigger ovulation. After ICSI, 535 embryos were assessed for normal fertilization, pro-nuclei morphology, early cleavage and morphology and number of cells on the second and third day of development (day transfer). Correlation between percentage of normal sperm morphology (pre and post-swim-up) and ICSI outcomes were analyzed.

RESULTS

Our results didn't show any significant correlation between the percentage of normal sperm morphology on the whole sample, neither before nor after swim-up, and the ICSI outcomes parameters evaluated, such as normal fertilization rate ($P=0,602$ and $P=0,894$ for pre and post swim-up respectively); pro-nuclei morphology ($P=0,289$ and $P=0,316$ pre and post swim-up respectively); early cleavage evaluation ($P=0,224$ and $P=0,604$ pre and post swim-up respectively) and embryo morphology in the third day of development ($P=0,113$ and $P=0,807$ pre and post swim-up respectively).

CONCLUSIONS

Our findings demonstrated that there are no correlations between morphological assessment of the semen sample and ICSI outcomes. Indeed, the embryologist selects the spermatozoa with better morphology and motility for ICSI. Therefore, we concluded that morphology in human spermatozoa sample according to Kruger's criteria has no predict value for ICSI outcomes.

Key-words: ICSI, morphology, spermatozoa

INTRODUÇÃO

Atualmente, sabe-se que por volta de um em cada seis casais terá problemas de fertilidade em algum estágio de sua vida reprodutiva. A infertilidade causada por fator masculino acomete aproximadamente 50% dos casais que procuram centros de reprodução humana assistida (RHA) (Donnelly et al., 1998; Maduro et al., 2003; Salgado Jacobo et al., 2003) e desde o primeiro relato de sucesso, a injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI) tem sido especialmente usada

para casos de alteração seminal grave, (Palermo et al., 1992; Van Steirteghem et al., 1993; Bartoov et al., 2003).

Diferentes parâmetros têm sido utilizados para avaliação seminal, como concentração, motilidade e morfologia (Host et al., 2001). A técnica mais comumente utilizada para avaliação da morfologia espermática é o critério estrito de Kruger (Kruger et al., 1986; Menkveld et al., 1990; Yang et al., 1995) onde todas as formas limitrofes são consideradas anormais.

O papel do espermatozóide no procedimento da ICSI é controverso. Em condições naturais, a interação entre o espermatozóide e óvulo envolve uma série de eventos bioquímicos e fisiológicos, tais como reconhecimento específico, adesão e fusão entre os gametas (Ciapa and Chiri, 2000). O último estágio desse processo é a ativação oocitária que culmina com a formação dos pronúcleos masculino e feminino, início da síntese do DNA e clivagem (Yanagimachi, 1994). Porém, quando o espermatozóide é injetado diretamente no citoplasma, o gatilho para a ativação oocitária é produzido pela própria manipulação do ooplasma (Tesarik et al., 2002).

Um estudo prévio relatou que a porcentagem de espermatozóides com morfologia normal na amostra seminal tem alta correlação com as taxas de fertilização, sugerindo que a morfologia do espermatozóide seja um importante fator preditivo dos resultados da ICSI. (Sukcharoen et al., 1995)

Entretanto, estudos mais recentes têm proposto que a avaliação da morfologia espermática, isoladamente, pode não ser um parâmetro fidedigno para prever sucesso da ICSI. Huang et al. (2005) relataram que a morfologia do espermatozóide deve ser cuidadosamente associada à investigação da motilidade. Além disso, tem sido descrito que a morfologia espermática não está relacionada à integridade da cromatina do espermatozóide, e espermatozóides com DNA intacto têm sido considerados essenciais para fertilização e desenvolvimento embrionário (Moustafa et al., 2004).

Esterhuizen et al. (2002) sugerem que a qualidade do empacotamento da cromatina do espermatozóide pode estar associada à falha de fertilização e previamente foi relatado que defeitos durante a descondensação da cromatina sejam uma das maiores causas de falha de fertilização (Nikolettos et al., 1999).

O presente estudo teve como objetivo investigar se avaliação da morfologia espermática na amostra seminal está relacionada aos resultados de ciclos de ICSI,.

MATERIAIS E MÉTODOS

Noventa pacientes submetidos a tratamento de RHA, entre Agosto de 2004 à Março de 2005, concordaram com a realização de todos os procedimentos descritos nesse estudo, através do preenchimento de termo de consentimento livre esclarecido. Este estudo obteve aprovação através do comitê de ética e pesquisa do Hospital Professor Edmundo Vasconcelos.

As amostras de sêmen ejaculado foram obtidas por masturbação, após três a cinco dias de abstinência ejaculatória, coletadas em frasco plástico e estéril e enviadas para análise e processamento seminal.

A análise seminal foi realizada de acordo com as normas da Organização Mundial de Saúde (World Health Organization, 1999) e a morfologia através do critério estrito de Kruger tanto antes quanto após o processamento seminal (Kruger et al., 1986; Menkveld et al., 1990; Yang et al., 1995)

O processamento seminal foi realizado por migração ascendente de espermatozóides e para tal a amostra de sêmen foi lavada, adicionando-se o mesmo volume de meio de cultura (HEPES –

Irvine Scientific, Santa Ana, USA) e centrifugada por 8 minutos a 300g. O precipitado foi coletado, adicionado a 1mL do mesmo meio de cultura e incubado por uma hora a 37°C, com o tubo inclinado à 45°. Após este período, foi retirado 0,5mL do sobrenadante e enviado ao laboratório de fertilização *in vitro* para utilização dos espermatozoides na técnica de ICSI.

A indução da ovulação foi realizada através de bloqueio com agonista do GnRH (acetato de leuprolide, Lupron, Abbott Laboratories, Illinois, USA) por pelo menos 14 dias. Para a superovulação foi utilizado FSH recombinante (Gonal-F®; Sero Laboratórios, São Paulo, Brasil) em doses decrescentes, até que no mínimo dois folículos tivessem atingido um diâmetro de aproximadamente 18 mm e 36 horas antes da punção, foi administrado hCG recombinante (Ovidrel; Sero Laboratórios, São Paulo, Brasil). para a maturação oocitária final. A punção foi realizada sob anestesia geral, guiada por ultra-sonografia trans-vaginal.

O procedimento de ICSI foi realizado com oócitos em metáfase II de acordo com a técnica descrita por Palermo et al. (1992). Após a ICSI, os oócitos foram incubados em meio de cultura não tamponado (Human Tubal Fluid -HTF com 5% Human Albumin Serum, HSA, Irvine Scientific, Santa Ana, USA) cobertos com óleo mineral (Oil for embryo culture + 30% Multiblast Medium, Irvine Scientific, Santa Ana, USA) por 16-18 hs, quando foi confirmada a fertilização normal (dia +1), pela presença de dois pró-núcleos distintos e extrusão do segundo corpúsculo polar.

Durante a checagem da fertilização foram classificados como pré-embriões bons ou ruins, baseando-se na comparação de tamanho dos pró-núcleos e discrepância de nucléolos.

A transferência embrionária ocorreu no terceiro dia de desenvolvimento e os embriões foram avaliados diariamente do dia da fertilização até o dia da transferência e classificados como bons ou ruins de acordo com a morfologia e ritmo de clivagem. Aqueles embriões com quatro blastômeros no segundo dia de desenvolvimento ou oito blastômeros no terceiro dia de desenvolvimento e até 20% de fragmentação foram considerados embriões de alta qualidade.

A gestação positiva foi confirmada pela dosagem de β -hCG realizada 12 dias após a transferência embrionária e a implantação confirmada pela detecção de saco gestacional com batimento cardíaco positivo, através de ultra-sonografia.

A correlação entre a porcentagem de espermatozoides com morfologia normal (pré e pós migração ascendente de espermatozoides) e sucesso da ICSI foi analisada por coeficiente de correlação de Pearson e teste não paramétrico Mann-Whitney. A significância estatística foi determinada quando $P \leq 0.05$.

RESULTADOS

O presente estudo incluiu 90 ciclos de ICSI, onde foram utilizados, para a microinjeção, espermatozoides móveis provenientes do ejaculado. As mulheres com idade média $34,3 \pm 4,8$ anos, índice de massa corpórea (IMC) médio de $22,8 \pm 4,75$ e nível de estradiol no dia do procedimento de $2065,7 \pm 1711,8$, receberam dose média de FSH por ciclo de $2480,3 \pm 756,0$ UI,

Em relação aos parâmetros espermáticos, quando comparados os valores das amostras pré e pós preparo por migração ascendente de espermatozoides foi observada uma diferença significativa entre os valores de concentração ($81,4 \pm 54,6$ vs $4,4 \pm 8,3$, $P < 0,001$, respectivamente), motilidade total ($63,9\%$ vs $91,4\%$, $P < 0,001$, respectivamente) e motilidade progressiva ($54,3\%$ vs $84,4\%$, $P < 0,001$, respectivamente). Houve um aumento significativo na porcentagem de morfolo-

gia normal dos espermatozoides pós processamento quando comparada à morfologia pré migração ascendente ($2,3\%$ vs $4,5\%$, $P < 0,001$).

Foram avaliados 535 embriões. Não foi observada nenhuma correlação significativa entre porcentagem de espermatozoides com morfologia normal na amostra total, antes ou após migração ascendente e os resultados de ICSI avaliados como taxa de fertilização normal, morfologia de pró-núcleo, clivagem precoce e morfologia no terceiro dia de desenvolvimento (Tabela I).

Tabela I. Correlação entre parâmetros avaliados pré e pós migração ascendente de espermatozoides e taxa de fertilização normal, morfologia de pró-núcleo, clivagem precoce e morfologia dia+3.

	Pre Migração Ascendente	Pós Migração Ascendente
Taxa de fertilização normal	$P = 0,602$	$P = 0,894$
Morfologia de pró-núcleo	$P = 0,289$	$P = 0,316$
Clivagem precoce	$P = 0,224$	$P = 0,604$
Morfologia dia+3	$P = 0,113$	$P = 0,807$

Dos embriões avaliados, 285 foram transferidos e 139 foram criopreservados. Neste estudo pudemos observar uma taxa de gestação de 28% e taxa de aborto de 19%.

DISCUSSÃO

O preparo seminal através da técnica de migração ascendente é frequentemente utilizado para aumentar a concentração de espermatozoides normais na amostra de sêmen. Porém, estudos anteriores que avaliaram a integridade genética de amostras seminais provenientes da migração ascendente, observaram que a taxa de anomalias cromossômicas após o processamento são similares àquelas da amostra de sêmen inicial (Samura et al., 1997; Van Dyk et al., 2000; Calogero et al., 2003). Por outro lado, outros autores relataram uma redução na concentração de espermatozoides diplóides após o processamento por migração ascendente (Han et al., 1993; Martinez-Pasarell et al., 1997; Li and Hoshiai, 1998).

No presente estudo, a migração ascendente de espermatozói-de foi capaz de melhorar a qualidade seminal em relação à motilidade e morfologia, entretanto, não observamos qualquer correlação entre a morfologia espermática, quer seja antes ou após o processamento seminal, e os resultados dos ciclos de ICSI.

A relevância da morfologia espermática como elemento determinante na concepção assistida tem despertado muito interesse, sendo este fator de maior significância entre os parâmetros espermáticos avaliados na análise seminal convencional. Entretanto, ainda não se sabe ao certo o quanto à morfologia está correlacionada a habilidade do espermatozói-de em promover a fertilização, ou se a presença de espermatozoides anormais em uma amostra seminal pode influenciar negativamente o sucesso da ICSI (Donnelly et al., 1998).

Ainda que as taxas de sucesso do ICSI tenham sido inicialmente relatadas como independentes da qualidade seminal (Kupker et al., 1995), estudos mais recentes têm sugerido que falhas repetidas após a ICSI sejam conseqüência da ação de fatores espermáticos relacionados ao desenvolvimento embrionário peri-implantacional, conhecidos como efeitos paternos (Tesarik, 2005; Tesarik et al., 2006).

De fato, diversos autores demonstraram que quanto pior a qualidade do sêmen pior a fertilização, desenvolvimento embrionário, implantação e gravidez (Gomez et al., 2000; Rossi-Ferragut et al., 2001; Rossi-Ferragut et al., 2003; Nicopoullos et al., 2004). Além disso, o efeito da fonte do espermatozói-de para o sucesso da ICSI tem sido amplamente discutido. Nosso

grupo descreveu em um estudo prévio que, em pacientes azoospermicos, a qualidade embrionária difere dependendo da origem do espermatozóide. Além disso, pudemos observar que espermatozóides ejaculados e epididimários dão origem a embriões de melhor qualidade quando comparados àqueles provenientes de espermatozóide testicular (Rossi-Ferragut et al., 2003). Pasqualotto e cols também encontraram uma pior taxa de fertilização quando foram injetados espermatozóides testiculares, quando comparados à injeção de espermatozóides epididimários (Pasqualotto et al., 2002) e maiores taxas de aborto foram observadas quando utilizados espermatozóides testiculares (Ghazzawi et al., 1998; Pasqualotto et al., 2002; Buffat et al., 2006).

Estudos prévios demonstraram também que pacientes com alterações seminais têm maiores taxas de aneuploidia quando comparados a pacientes férteis ou pacientes sem alteração seminal (Calogero et al., 2003; Vicari et al., 2003; Aittomaki et al., 2004; Burrello et al., 2004). Também foi verificada maior incidência de erros epigenéticos e danos em DNA em espermatozóides de homens com alterações seminais importantes (Seli and Sakkas, 2005; Emery and Carrell, 2006; Tesarik et al., 2006).

Contudo, os resultados do presente estudo mostraram que a avaliação morfológica da amostra seminal não está relacionada à fertilização e desenvolvimento embrionário. Nossos achados estão de acordo com estudos que indicaram que o resultado de ciclos de ICSI não está correlacionado com a morfologia da amostra usada para a microinjeção (De Vos et al., 2003). A explicação para essa observação é o fato de o embriologista selecionar espermatozóides de melhor motilidade e morfologia para a injeção.

Uma vez usados para microinjeção espermatozóides morfológicamente normais e móveis, a taxas de fertilização e gestação após a ICSI não são afetadas. Por outro lado, ainda que resulte em fertilização e clivagem, a injeção de espermatozóides morfológicamente anormais resulta em taxas de gestação mais baixas assim como maiores taxas de aborto (Tasdemir et al., 1997)

Dessa maneira, podemos concluir que a morfologia de amostras de espermatozóides humanos, de acordo com o critério estrito de Kruger, não possui valor prognóstico para o sucesso da ICSI. O desenvolvimento de novos métodos de avaliação espermática são de extrema importância na identificação dos melhores espermatozóides a serem utilizados em procedimentos de ICSI.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Aittomaki K, Wennerholm UB, Bergh C, Selbing A, Hazekamp Jand Nygren KG. Safety issues in assisted reproduction technology: should ICSI patients have genetic testing before treatment? A practical proposition to help patient information. *Hum Reprod.* 2004; 19(3): 472-6.

Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosovsky A, Yagoda A, Lederman H *et al.* Pregnancy rates are higher with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection than with conventional intracytoplasmic injection. *Fertil Steril.* 2003; 80(6): 1413-9.

Buffat C, Patrat C, Merlet F, Guibert J, Epelboin S, Thiounn N *et al.* ICSI outcomes in obstructive azoospermia: influence of the origin of surgically retrieved spermatozoa and the cause of obstruction. *Hum Reprod.* 2006; 21(4): 1018-24.

Burrello N, Arcidiacono G, Vicari E, Asero P, Di Benedetto D, De Palma A *et al.* Morphologically normal spermatozoa of patients with secretory oligo-astheno-teratozoospermia have an increased aneuploidy rate. *Hum Reprod.* 2004; 19(10): 2298-302.

Calogero AE, Burrello N, De Palma A, Barone N, D'Agata Rand Vicari E. Sperm aneuploidy in infertile men. *Reprod Biomed Online.* 2003; 6(3): 310-7.

Ciapa Band Chiri S. Egg activation: upstream of the fertilization calcium signal. *Biol Cell.* 2000; 92(3-4): 215-33.

De Vos A, Van De Velde H, Joris H, Verheyen G, Devroey Pand Van Steirteg-

hem A. Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology, and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2003; 79(1): 42-8.

Donnelly ET, Lewis SE, McNally JAand Thompson W. In vitro fertilization and pregnancy rates: the influence of sperm motility and morphology on IVF outcome. *Fertil Steril.* 1998; 70(2): 305-14.

Emery BRand Carrell DT. The effect of epigenetic sperm abnormalities on early embryogenesis. *Asian J Androl.* 2006; 8(2): 131-42.

Esterhuizen AD, Franken DR, Becker PJ, Lourens JG, Muller, Iland van Rooyen LH. Defective sperm decondensation: a cause for fertilization failure. *Andrologia.* 2002; 34(1): 1-7.

Ghazzawi IM, Sarraf MG, Taher MRand Khalifa FA. Comparison of the fertilizing capability of spermatozoa from ejaculates, epididymal aspirates and testicular biopsies using intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1998; 13(2): 348-52.

Gomez E, Perez-Cano I, Amoroch B, Landeras J, Ballesteros Aand Pellicer A. Effect of injected spermatozoa morphology on the outcome of intracytoplasmic sperm injection in humans. *Fertil Steril.* 2000; 74(4): 842-3.

Han TL, Flaherty SP, Ford JHand Matthews CD. Detection of X- and Y-bearing human spermatozoa after motile sperm isolation by swim-up. *Fertil Steril.* 1993; 60(6): 1046-51.

Host E, Ernst E, Lindenberg Sand Smidt-Jensen S. Morphology of spermatozoa used in IVF and ICSI from oligozoospermic men. *Reprod Biomed Online.* 2001; 3(3): 212-5.

Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, Lombard CJ, Van der Merwe JP, van Zyl JA *et al.* Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1986; 46(6): 1118-23.

Kupker W, al-Hasani S, Schulze W, Kuhnel W, Schill T, Felberbaum R *et al.* Morphology in intracytoplasmic sperm injection: preliminary results. *J Assist Reprod Genet.* 1995; 12(9): 620-6.

Li Pand Hoshiai H. Detection of numerical chromosome abnormalities in human spermatozoa by three-color fluorescence in situ hybridization. *J Obstet Gynaecol Res.* 1998; 24(6): 385-92.

Maduro MR, Lo KC, Chuang WWand Lamb DJ. Genes and male infertility: what can go wrong? *J Androl.* 2003; 24(4): 485-93.

Martinez-Pasarell O, Marquez C, Coll MD, Egozcue Jand Templado C. Analysis of human sperm-derived pronuclei by three-colour fluorescent in-situ hybridization. *Hum Reprod.* 1997; 12(4): 641-5.

Menkveld R, Stander FS, Kotze TJ, Kruger TFand van Zyl JA. The evaluation of morphological characteristics of human spermatozoa according to stricter criteria. *Hum Reprod.* 1990; 5(5): 586-92.

Moustafa MH, Sharma RK, Thornton J, Mascha E, Abdel-Hafez MA, Thomas AJ, Jr. *et al.* Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. *Hum Reprod.* 2004; 19(1): 129-38.

Nicopoulos JD, Gilling-Smith C, Almeida PA, Norman-Taylor J, Grace land Ramsay JW. Use of surgical sperm retrieval in azoospermic men: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 2004; 82(3): 691-701.

Nikolettos N, Kupker W, Demirel C, Schopper B, Blasig C, Sturm R *et al.* Fertilization potential of spermatozoa with abnormal morphology. *Hum Reprod.* 1999; 14 Suppl 1(47-70).

Palermo G, Joris H, Devroey Pand Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet.* 1992; 340(8810): 17-8.

Pasqualotto FF, Rossi-Ferragut LM, Rocha CC, Iaconelli A, Jr. and Borges E, Jr. Outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic injection of epididymal and testicular sperm obtained from patients with obstructive and nonobstructive azoospermia. *J Urol.* 2002; 167(4): 1753-6.

Rossi-Ferragut LM, Iaconelli A, Jr., Aoki T, Rocha CC, dos Santos DR, Pasqualotto FF *et al.* Pronuclear and morphological features as a cumulative score to select embryos in ICSI (intracytoplasmic sperm injection) cycles according to sperm origin. *J Assist Reprod Genet.* 2003; 20(1): 1-7.

Rossi-Ferragut LM, Rocha CC, Iaconelli Jr. A, Tsutomu A, Medeiros ARC, Calabresi F *et al.* Influência da qualidade do espermatozóide ejaculado nos resultados de ICSI (injeção intracitoplasmática de espermatozóides) *Jornal Brasileiro de Reprodução Assistida.* 2001; 5(1): 22-6.

Salgado Jacobo MI, Tovar Rodriguez JM, Hernandez Marin land Ayala Ruiz AR. [Frequency of altered male factor in an infertility clinic]. *Ginecol Obstet Mex.* 2003; 71(233-7).

Samura O, Miharu N, He H, Okamoto Eand Ohama K. Assessment of sex chromosome ratio and aneuploidy rate in motile spermatozoa selected by three different methods. *Hum Reprod.* 1997; 12(11): 2437-42.

Seli Eand Sakkas D. Spermatozoal nuclear determinants of reproductive outcome: implications for ART. *Hum Reprod Update.* 2005; 11(4): 337-49.

Sukcharoen N, Keith J, Irvine DSand Aitken RJ. Predicting the fertilizing potential

- of human sperm suspensions in vitro: importance of sperm morphology and leukocyte contamination. *Fertil Steril*. 1995; 63(6): 1293-300.
- Tasdemir I, Tasdemir M, Tavukcuoglu S, Kahraman Sand Biberoglu K. Effect of abnormal sperm head morphology on the outcome of intracytoplasmic sperm injection in humans. *Hum Reprod*. 1997; 12(6): 1214-7.
- Tesarik J. Paternal effects on cell division in the human preimplantation embryo. *Reprod Biomed Online*. 2005; 10(3): 370-5.
- Tesarik J, Mendoza-Tesarik Rand Mendoza C. Sperm nuclear DNA damage: update on the mechanism, diagnosis and treatment. *Reprod Biomed Online*. 2006; 12(6): 715-21.
- Tesarik J, Rienzi L, Ubaldi F, Mendoza Cand Greco E. Use of a modified intracytoplasmic sperm injection technique to overcome sperm-borne and oocyte-borne oocyte activation failures. *Fertil Steril*. 2002; 78(3): 619-24.
- Van Dyk Q, Lanzendorf S, Kolm P, Hodgen GDand Mahony MC. Incidence of aneuploid spermatozoa from subfertile men: selected with motility versus hemizona-bound. *Hum Reprod*. 2000; 15(7): 1529-36.
- Van Steirteghem AC, Nagy Z, Joris H, Liu J, Staessen C, Smitz J *et al*. High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1993; 8(7): 1061-6.
- Vicari E, de Palma A, Burrello N, Longo G, Grazioso C, Barone N *et al*. Absolute polymorphic teratozoospermia in patients with oligo-asthenozoospermia is associated with an elevated sperm aneuploidy rate. *J Androl*. 2003; 24(4): 598-603.
- World Health Organization W. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm - Cervical mucus interaction. . Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1999.
- Yanagimachi R. Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity. *Zygote*. 1994; 2(4): 371-2.
- Yang YS, Chen SU, Ho HN, Chen HF, Chao KH, Lin HR *et al*. Correlation between sperm morphology using strict criteria in original semen and swim-up inseminate and human in vitro fertilization. *Arch Androl*. 1995; 34(2): 105-13.

Sugestão para a Revista?

E-mail: journalsbra@cmb.com.br

Uso Clínico da Pentoxifilina em Espermatozóides Criopreservados Utilizados em Ciclos de ICSI não Melhora a Qualidade Embrionária

Clinical use of Pentoxifylline for Freeze-Thawed Spermatozoa not Improve Embryo Quality

Queiroz P, Tanil CT, Braga DPAF, Pasqualotto FF, Iaconelli Jr. A, Borges Jr. E

Fertility - Centro de Fertilização Assistida

Endereço para Correspondência:

Avenida Brigadeiro Luís Antônio, 4.545, São Paulo, SP, Brasil.
www.fertility.com.br - e-mail: edson@fertility.com.br

RESUMO

OBJETIVO

Pentoxifilina (PTX) é uma metilxantina que vem sendo clinicamente utilizada como estimulante artificial de espermatozóides descongelados, em ciclos de fertilização *in vitro* (FIV). Através da inibição da fosfodiesterase, a pentoxifilina aumenta os níveis de AMPC intracelular, contribuindo para a capacitação espermática, hiperativação e reação acrossômica. Com a introdução da ICSI, houve um aumento nas taxas de fertilização e gestação independentemente dos parâmetros seminais trazendo a viabilidade do uso de espermatozóides criopreservados. Além disso, a boa recuperação da motilidade espermática após o processo de criopreservação-descongelamento é um dos principais fatores determinantes do sucesso da ICSI. Assim, esse estudo teve como objetivo avaliar o efeito da PTX aplicada em amostras seminais criopreservadas-descongeladas, nas taxas de fertilização e desenvolvimento embrionário após ciclos de ICSI.

MATERIAL E METODOS

Este estudo incluiu nove casais submetidos a 21 ciclos de reprodução humana assistida por ICSI utilizando espermatozóides descongelados. Após descongelamento, as amostras seminais foram processadas por lavado seminal ou por mi-

gração ascendente, e em seguida divididas em duas alíquotas iguais. A primeira alíquota foi tratada com 5mM de solução de PTX (grupo PTX) por 30 minutos e a outra sem PTX (grupo CT). As amostras seminais foram encaminhadas para o laboratório de fertilização *in vitro* para serem submetidas à ICSI, e 145 oócitos em metaphase II (MII) foram injetados, 72 com espermatozóides do grupo PTX e 68 com espermatozóides do grupo CT. As taxas de fertilização, morfologia de pro núcleo, clivagem precoce e morfologia embrionária no dia da transferência foram avaliadas. Para a análise estatística foi utilizado teste de Mann-Whitney e qui-quadrado, sendo considerada significância estatística quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Nossos resultados mostraram que espermatozóides tratados com PTX apresentaram motilidade total similar ao grupo CT (31.5% *versus* 34.2%, respectivamente; $p = 0.150$), assim como a motilidade progressiva (20.5% *versus* 23.4%, respectivamente; $p = 0.057$). Após a ICSI, as taxas de fertilização normal foram de 73.4% no grupo PTX e 78.3% no grupo CT ($p = 0.516$). A porcentagem de embriões que apresentaram boa morfologia pró nuclear (grupo PTX 23.9% *versus* grupo CT 25.0%; $p = 0.901$), assim como a clivagem precoce (grupo PTX 27.7% *versus* grupo CT 30.0%; $p = 0.925$) foram similares. Além disso, 48.9% dos embriões no grupo PTX e 59.6% no grupo CT apresentaram boa morfologia no dia + 3 ($p = 0.283$). Embriões provenientes de ICSI com espermatozóides do grupo PTX e do grupo CT foram transferidos e foi observado um total de 8 gestações (taxa de gestação: 38,9% e taxa de implantação: 22,2%).

Recebido em 05/10/2007
Avaliado e aceito em 18/11/2007

Conclusão

Pudemos observar que o tratamento de espermatozoides com PTX, em comparação ao grupo de espermatozoides não tratados, trouxe resultados similares em relação à melhora da motilidade total e progressiva e outros parâmetros embrionários avaliados. Sugerimos que a similaridade entre os valores dos parâmetros seminais e embrionários comparados sejam devido a necessidade de excessivas lavagens seminais em razão embriotoxicidade da pentoxifilina. Assim, concluímos que o protocolo utilizado não foi eficiente, existindo a necessidade de outros estudos para o desenvolvimento de outros protocolos para a melhora da motilidade espermática.

Palavras-chave: Pentoxifilina, espermatozoide, ICSI, embrião

ABSTRACT

OBJECTIVE

Pentoxifylline (PTX) is a methylxantina, which has been clinically used as an artificial sperm stimulant to enhance sperm motility in many *in vitro* fertilization (IVF) programs. By inhibiting phosphodiesterase, pentoxifylline increases the intracellular cAMP level, and thus contributes to sperm capacitation, hyperactivation, and acrosome reaction. With the introduction of ICSI, its evident the ability to achieve higher fertilization and pregnancy rates regardless semen parameters. Moreover, the use of cryopreserved sperm was then developed with success, and sperm motility after freeze-thawed procedure is one of the main determinants of the successes of ICSI. This study was designed to evaluate the effect of PTX applied to freeze-thawed spermatozoa, on fertilization rates and embryo development after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycles.

DESIGN

Prospective experimental study.

MATERIAL AND METHODS

This study included nine couples who underwent 21 assisted reproduction techniques by ICSI using frozen-thawed spermatozoa. After thawed, the sperm samples were processed by sperm-wash or swim-up, and divided into two equal aliquots. The first was treated with 5mM PTX solution (group PTX) for 30 minutes at 37°C, and other without PTX (group CT). The sperm samples were addressed to IVF laboratory for ICSI, and 145 oocytes in metaphase II (MII) were injected, 72 with spermatozoa of CT group, and 68 with PTX treated sperm. The fertilization rate, pro-nuclei morphology, early cleavage and embryo morphology on transfer day were evaluated. Mann-Whitney and qui-square testes were used as appropriate, $p < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Our results showed that PTX treatment didn't improve the spermatozoa total motility (31,5% versus 34,2%, $p = 0,150$ for PTX group and CT group, respectively) and the progressive motility (20.5% versus 23.4%, ; $p = 0.057$, for PTX group and CT group, respectively). After ICSI, the normal fertilization rates, were 73.4% in the group PTX and 78.3% in group CT ($p = 0,516$). The percentage of embryos

presenting good pro-nuclei morphology (23.9% versus 25.0 %; $p = 0.901$, for PTX and CT, respectively) as well as early cleavage (27.7% versus 30.0%; $p = 0.925$, for PTX and CT, respectively) were similar. Also, 48.9% of embryos on group PTX and 59.6% on group CT, presented good morphology on day +3 ($p = 0.283$). Embryos originated from ICSI using spermatozoa from both group I and group II were transferred, and a total of 8 pregnancies were achieved (pregnancy rate: 38.9% and implantation rate: 22,2%).

CONCLUSIONS

It was observed that the treatment of spermatozoa with PTX, in comparison with nontreated group, had similar results in the total and progressive sperm motility and other embryo parameters evaluated. It is known that the pentoxifylline is embryo toxic and the need of seminal sperm-washes may be the reason for the same results found when PTX was used or not. Therefore, we suggest that the protocol used in this study may not be efficient for ICSI outcomes, however other protocols may be studied to improve motility of thawed spermatozoa and embryo quality.

Key words: pentoxifylline, spermatozoa, ICSI, embryo

INTRODUÇÃO

A criopreservação seminal, processo no qual os espermatozoides são conservados a temperatura de -196°C em nitrogênio líquido, tem contribuído de forma significativa para os métodos de reprodução humana assistida. Com a utilização desta técnica, pacientes portadores de neoplasias submetidos à quimioterapia e ou radioterapia, os quais possam vir a sofrer de danos na espermatogênese, encontram a possibilidade de concepção, armazenando amostras seminais previamente ao tratamento (Sanger et al., 1992). Entretanto, sabe-se que a criopreservação afeta a viabilidade, motilidade e potencial de fertilização dos espermatozoides (Critser et al., 1987; Centola et al., 1992).

Durante o processo de congelamento e descongelamento dos espermatozoides, são relatados danos à membrana dos mesmos afetando automaticamente a capacidade de fertilização. Esse prejuízo na membrana é caracterizado pela peroxidação lipídica de ácidos graxos insaturados e também pela geração e liberação de radicais livres. Nesse processo, ocorre também a alteração do equilíbrio iônico, diminuição na produção de ATP pela mitocôndria e conseqüente redução da produção de energia, levando ao decréscimo da motilidade (Da Ros et al., 2000).

Para que o espermatozoide adquira capacidade de fertilização, *in vivo*, é necessário que ocorra a capacitação, um processo que se inicia no epidídimo, se intensifica no trato genital feminino e finaliza frente ao oócito (Flesh & Gadella, 2000).

O contato do espermatozoide com o oócito induz no gameta masculino o processo de reação acrossômica, no qual todo o conteúdo da vesícula acrossômica do espermatozoide é liberado, incluindo enzimas que auxiliam na dispersão das células da granulosa, a fim de que o mesmo consiga penetrar na zona pelúcida do oócito, sendo este um processo irreversível para o espermatozoide (Moore,2004).

No trato genital feminino, há uma grande concentração de bicarbonato, o que leva a alcalinização do meio e conse-

quente aumento do pH. Acredita-se que a ligação entre o bicarbonato presente do trato genital feminino e a adenilato ciclase, uma enzima presente na membrana citoplasmática do espermatozóide, desencadeia a conversão do trifosfato de adenosina (ATP) em monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) (Harrison, 1996).

O AMPc tem como função regular a motilidade espermática, além de modular a reação acrossômica através da ativação de proteína kinase A, que quando fosforilada provoca, direta ou indiretamente, o deslocamento de fosfolípidios na membrana citoplasmática do espermatozóide, resultando em alterações bioquímicas e estruturais em sua membrana. A regulação do AMPc se dá pela fosfodiesterase (PDE), que tem como função degradar a molécula de AMPc e conseqüentemente diminuir sua atividade (Garty & Salomon, 1987; Naro *et al.*, 1996; Harrison, 1996; Flesch & Gadella, 2000).

Sabe-se que após o processo de congelamento e descongelamento, há uma perda de 25 a 75% da motilidade e viabilidade dos espermatozóides, conseqüente de danos irreversíveis causados na membrana (Kobayashi *et al.*, 1991; Centola *et al.* 1992). O prejuízo causado se deve à peroxidação lipídica de ácidos graxos insaturados e geração de radicais livres, assim como por alterações no equilíbrio iônico, diminuição da produção de ATP e energia pela mitocôndria, resultando em menor motilidade (Da Ros *et al.*, 2000).

Autores relatam que a pentoxifilina (PTX), um inibidor não específico da fosfodiesterase, ao contato com amostras seminais, promove a elevação do AMP cíclico intracelular e conseqüente aumento da motilidade espermática, além de estimular a reação acrossômica no espermatozóide. Sua ação *in vitro* é dose-dependente e relacionada à porcentagem de motilidade e à velocidade curvilínea dos espermatozóides (Henkel, Schill, 2003; Da Ros *et al.*, 2000).

No entanto, ainda existem controvérsias na literatura quanto à efetividade da utilização da PTX em melhorar a qualidade de amostras seminais. Espermatozóides descongelados e tratados com pentoxifilina tiveram um aumento da motilidade total e progressiva quando comparados a amostras controle (Paul, 1995; Stanic, 2002). Outros estudos não mostram correlação entre a utilização da pentoxifilina no preparo de amostras seminais e melhorias na motilidade espermática (Hellstrom, *et al.*, 1989; Hellstrom, *et al.*, 1991). Não se sabe ao certo se a pentoxifilina age somente quando a causa da diminuição da motilidade dos espermatozóides é decorrente da criopreservação, ou se sua ação também se estende aos casos onde há distúrbios intrínsecos dos espermatozóides antes do congelamento. Assim, este estudo foi designado a fim de avaliar o efeito da PTX aplicada a espermatozóides congelados-descongelados submetidos à ICSI (Injeção Intracitoplasmática de Espermatozóides) avaliando taxas de fertilização e desenvolvimento embrionário.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo prospectivo realizado no Fertility – Centro de Fertilização Assistida, em São Paulo, Brasil, no período de junho de 2004 a setembro de 2006. Este estudo obteve autorização prévia do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Professor Edmundo Vasconcelos, e todos os pacientes nele incluídos receberam Termo de Consentimento Livre e Esclarecido,

apresentando resumidamente o protocolo de pesquisa, em linguagem clara, a fim de que houvesse conhecimento da natureza dos procedimentos. Após a leitura e entendimento, obteve-se a assinatura daqueles pacientes que concordaram em participar do estudo.

Antes do início deste trabalho, foi realizado estudo piloto para validação da técnica de aplicação de pentoxifilina em amostras seminais. Para tanto foram utilizadas amostras criopreservadas, as quais foram descongeladas e submetidas à lavagem seminal através da adição de 1 mL de *Modified HTF with HEPES Buffer (HTF/Hepes, Irvine Scientific, Santa Ana, USA)* e centrifugadas por 8 minutos a 300g. Em seguida o precipitado foi ressuspenso em 0,5 mL do mesmo meio de cultura e dividido em duas alíquotas de 250µL. Em uma alíquota foi adicionado 250µL de pentoxifilina na concentração de 5mM e à outra alíquota 250µL do meio de cultura. Após incubação por 30 minutos à 37° as amostras foram avaliadas em relação à concentração e motilidade, e naquelas em que foi aplicada PTX, foram lavadas e avaliadas novamente para concentração e motilidade (Tabela 1).

Tabela 1. Avaliação da motilidade total e motilidade progressiva em amostras sem uso da pentoxifilina, com uso de pentoxifilina e com uso de pentoxifilina e posterior lavagem espermática.

Pa- cientes	Sem PTX		Com PTX		Com PTX + <i>Lavado Seminal</i>	
	Mo- tilidade total	Mo- tilidade progres- siva	Mo- tilidade total	Mo- tilidade progres- siva	Mo- tilidade total	Mo- tilidade progres- siva
DRCS	14%	5%	48%	24%	22%	15%
CAE	20%	8%	40%	14%	41%	21%
JAMP	16%	10%	34%	25%	22%	16%
ABO	2%	2%	7%	5%	5%	3%

Foi estabelecido como critério de inclusão: indicação do casal para procedimento de ICSI, amostras seminais provenientes de descongelamento e mulheres com os dois ovários funcionantes, não apresentando endometriose grau III ou IV e tendo no mínimo quatro oócitos MII após a punção folicular. Pacientes com alguma patologia sistêmica clinicamente relevante, infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), Hepatite B ou C ou que discordassem do termo de consentimento livre e esclarecido foram excluídos do trabalho.

Amostras de sêmen ejaculado foram colhidas por masturbação, após abstinência ejaculatória de no mínimo 48 horas. Os parâmetros seminais e espermáticos foram avaliados dentro de no máximo 30 minutos, ou até liquefação à temperatura de 37°C. Realizou-se análise seminal de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1999) e para avaliação da morfologia espermática utilizou-se o critério estrito de Kruger.

Após análise seminal inicial, as amostras seminais foram criopreservadas segundo protocolo de Sharma *et al.*, 1996, adicionando-se TEST-yolk buffer contendo glicerol (Irvine Scientific, Santa Ana, CA, USA) como meio para criopreservação.

A amostra foi homogeneizada por 5 minutos entre cada adição do crioprotetor (agitador de tubos por inversão).

Em seguida, foi alíquotada em criotubos com 1,0 mL de volume, identificados e presos a raquis contendo as informações do paciente. Após este processo, permaneceram por um período de 10 minutos no freezer à -20°C e logo em seguida foram submetidas a duas horas na fase de vapor (-70°C), onde colocou-se a raqui contendo os criotubos a 8 cm do nível de N_2L . Após este período as amostras foram armazenadas em nitrogênio líquido (-196°C).

No dia da punção oocitária, as amostras seminais criopreservadas foram removidas do nitrogênio líquido, permaneceram 5 minutos a temperatura ambiente e 10 minutos a 37°C . O meio crioprotetor (TYB) foi removido através da diluição da amostra em HEPES-HTF (® Modified HTF with HEPES Buffer - HTF/Hepes, Irvine Scientific, Santa Ana, USA) na proporção 1:1, v/v através de centrifugação por 8 minutos a 300g. Em seguida, o sobrenadante foi retirado e o precipitado resultante foi ressuspenso em 0,5mL do mesmo meio de cultura. A amostra foi então avaliada quanto a sua concentração e motilidade. De acordo com a concentração e motilidade da amostra, foi escolhido o melhor protocolo de processamento, lavado seminal ou migração ascendente de espermatozoides.

Baseado nos resultados do estudo piloto, após o preparo seminal a amostra foi dividida em duas alíquotas de 250 μL . Na primeira alíquota (Grupo PTX) foi adicionado 250 μL de 5mM de pentoxifilina (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA) diretamente a amostra e na segunda alíquota (Grupo CT) foi adicionado 250 μL HEPES-HTF + HSA. Em seguida, as mesmas foram incubadas a 37°C por um período de 30 minutos, e após esse período foi realizado o lavado seminal por duas vezes e adicionado 250 μL de HEPES-HTF + HSA em cada alíquota no final do processo, para que então fossem avaliadas novamente em relação à concentração e motilidade.

A indução da ovulação foi realizada através de bloqueio com agonista GnRH (acetato de leuprolide) por pelo menos 14 dias. Para a superovulação foi utilizado FSH recombinante (Gonal-F®; Serono Laboratórios, São Paulo, Brasil) em protocolo de step-down, até que no mínimo dois folículos tivessem atingido um diâmetro médio de 18 mm. A punção folicular foi realizada 35-36 h após a administração do HCG, (Profasi ou Ovidrel; Serono Laboratórios, São Paulo, Brasil). A punção oocitária foi realizada sob anestesia geral guiada por ultra-sonografia trans-vaginal.

O procedimento de ICSI foi realizado com oócitos em metáfase II de acordo com a técnica descrita por Palermo, 1992. Após a ICSI, os oócitos foram incubados em meio de cultura apropriado e cobertos com óleo mineral por 16-18 hs, quando foi avaliada a fertilização (dia +1), pela presença de pró-núcleos. Foi definida fertilização normal a presença de dois pró-núcleos (2PN) e a extrusão do segundo corpúsculo polar, a presença de 1PN, 3PN ou mais indicou fertilização anormal, e a ausência de PNs, falha de fertilização.

Para a classificação e seleção embrionária os pré-embrões foram continuamente observados desde o momento da checagem da fertilização (D+1) até o dia da transferência embrionária (terceiro dia de desenvolvimento - D+3). Os pré-embrões foram considerados de boa ou má qualidade de acordo com ritmo de desenvolvimento e morfologia. Na análise da clivagem precoce foi avaliado apenas o ritmo de desenvolvimento embrionário, e foram considerados embrões com clivagem precoce aqueles que apresentavam divisão celular 25 a 27 horas após a ICSI.

Classificações morfológicas em relação ao número de células, multinucleação, simetria dos blastômeros e porcentagem de fragmentação foram os parâmetros avaliados no segundo e terceiro dias de desenvolvimento embrionário. Foram considerados bons embriões no segundo dia de desenvolvimento aqueles que apresentaram de dois a quatro blastômeros regulares e fragmentação até 20%, e no terceiro dia de desenvolvimento, seis a dez blastômeros regulares e fragmentação até 20%.

A transferência embrionária ocorreu no D+3 após a ICSI. Foram transferidos rotineiramente até quatro embriões, conforme a Resolução nº 1358 do Conselho Federal de Medicina. O cateter utilizado para a transferência embrionária foi o de Wallace, sob orientação ultra-sonográfica. Após a transferência embrionária, as mulheres receberam progesterona sob a forma de óvulos vaginais de 200 mg aplicados três vezes ao dia até o dia do teste de gravidez; e quando diagnosticada gestação, mantida até a 12ª semana.

A taxa de fertilização foi definida como a relação entre o número de oócitos fertilizados e o número de oócitos injetados e intactos; a taxa de implantação, a relação do número de sacos gestacionais e o número de pré-embrões transferidos; e taxa de gestação, a relação entre número de gestações clínicas e o número total de mulheres. Para análise estatística foram utilizados os testes Mann-Whitney e Qui-quadrado. Os valores foram considerados significantes quando $p < 0.05$. Foi utilizado Wilcoxon signed-rank test na avaliação das diferenças estatísticas na porcentagem de recuperação da motilidade espermática total e recuperação da motilidade espermática progressiva.

RESULTADOS

Em relação ao presente estudo, realizamos 21 ciclos de ICSI, onde todas as amostras seminais foram descongeladas e avaliadas em relação ao uso da pentoxifilina (Grupo PTX, $n=21$) ou não uso de pentoxifilina (Grupo CT, $n=21$).

Foram recuperados em média de $8,7 \pm 10,2$ oócitos sendo injetados em média $6,9 \pm 3,4$ oócitos por paciente.

Após descongelamento, as amostras seminais foram lavadas e avaliadas em relação à concentração de $55,3 \pm 33,7$ milhões de espermatozoides/mL, motilidade 68,5 %, motilidade progressiva 58,3% e morfologia 3,6%.

As amostras foram então separadas em duas alíquotas e após preparo seminal, observou-se resultados similares entre os grupos no que diz respeito a concentração ($30,9 \pm 26,9$ M/mL no grupo PTX versus $30,1 \pm 25,3$ M/mL no grupo CT, $p=0,594$), motilidade 31,5 % versus 34,2 %, respectivamente ($p=0,150$), e motilidade progressiva de 20,5% versus 23,4%, respectivamente ($p=0,057$). (Tabela2).

Tabela 2. Comparação entre motilidade total e motilidade progressiva após preparo seminal grupo PTX x grupo CT.

	Grupo PTX	Grupo CT	Valor p
Concentração	$30,9 \pm 26,9$	$30,1 \pm 25,3$	0,594
Motilidade total	31,5 %	34,2 %	0,150
Motilidade progressiva	20,5 %	23,4 %	0,057

No que diz respeito à taxa de fertilização normal, isto é, a formação de dois pronúcleos após a ICSI, indicando fertilização, os grupos apresentaram-se similares (73,4% versus 78,3%,

respectivamente; $P = 0,516$) (Tabela 3).

Tabela 3. Comparação dos grupos I e II em relação à taxa de fertilização normal morfologia de PN, clivagem precoce e morfologia D+3

	Grupo PTX	Grupo CT	Valor p
Taxa de fertilização normal PN	73,4%	78,3%	0,516
Bom	23,9%	25,0%	0,901
Ruim	76,1%	75,0%	
Clivagem precoce			
Sim	27,7%	30,0%	0,925
Não	72,3%	70,0%	
D+3			
Bons embriões	48,98%	59,62%	0,283

Na avaliação da morfologia dos pronúcleos (PN) observou-se que o grupo PTX apresentou 23,9 % dos embriões com boa qualidade, enquanto esse valor foi de 25,0 % para o grupo PTXI, $P = 0,901$ (Tabela 2).

Na análise da clivagem precoce, notou-se que no grupo PTX, 27,7% dos embriões foram considerados rápidos versus 30,0% no grupo CT, respectivamente ($P = 0,925$) (Tabela 2).

Quando avaliamos a qualidade do embrião no dia da transferência (dia + 3), pudemos observar que no grupo PTX, 48,98% dos embriões apresentavam-se com boa qualidade versus 59,62% no grupo CT estavam nesta condição ($P = 0,283$) (Tabela 2).

A taxa de implantação foi 22,2% e a taxa de gestação foi de 38,9% em relação aos 21 ciclos realizados, embora não tenham sido avaliadas em relação ao uso ou não da pentoxifilina, já que foram transferidos tanto embriões do grupo PTX quanto do grupo CT em todos os casos deste trabalho.

DISCUSSÃO

A criopreservação de espermatozoides é utilizada rotineiramente nos ciclos de reprodução humana assistida (Holt, 1997; Donnelly et al, 2001). Entretanto, mesmo com as sofisticadas técnicas existentes atualmente, as taxas de sobrevivência de espermatozoides provenientes de amostras de sêmen criopreservadas são inferiores aos ciclos realizados com espermatozoides frescos, bem como as taxas de gestação (Sharma and Agarwal, 1996).

A Pentoxifilina, do grupo das metilxantinas, exerce influência nas características de motilidade espermática, através da inibição da fosfodiesterase e consequente aumento do AMPc intracelular (Garbers et al., 1971; Sikka et al., 1991). Essa primeira geração de inibidores da fosfodiesterase, como a pentoxifilina vem sendo utilizada para estimular a motilidade dos espermatozoides de pacientes inférteis. (Yovich et al., 1990). Entretanto, a concentração utilizada para ativar esse aumento da motilidade, pode ser acompanhada por um aumento do início da reação acrossômica devido à inibição não seletiva (Lanzafame et al., 1994). É importante que a reação acrossômica do espermatozoide não ocorra antes da aproximação com o oócito, pois se sabe que após esse processo, o espermatozoide torna-se incapaz de fertilizar o oócito. Além disso, a pentoxifilina

não aumenta o número de espermatozoide móveis, apenas aumenta as características de motilidade na população de espermatozoides pré-selecionados (Yovich et al., 1990; Tesarik et al., 1992).

Alguns estudos prévios relataram que o uso de pentoxifina em espermatozoides pode ser prejudicial aos embriões devido a sua embriotoxicidade e verificaram que a pentoxifilina possui alguns efeitos adversos em oócitos e embriões de ratos quando utilizada para ativação de espermatozoides nas técnicas de FIV. Esse agente pode afetar o desenvolvimento embrionário com alterações nos estágios iniciais de clivagem (Scott and Smith, 1995).

Assim, foi estabelecido no presente estudo a realização de lavado seminal nas amostras onde foi utilizada PTX, e ainda previamente ao ICSI, foi realizada limpeza de cada espermatozoide a ser injetado em gotas de meio de cultura presentes na placa de injeção, a fim de evitar quaisquer danos ao embrião.

Nossos resultados demonstraram que o tratamento dos espermatozoides com a PTX em comparação ao grupo não tratado (controle) tiveram resultados similares tanto em relação à melhora da motilidade total e progressiva, quanto em relação aos parâmetros embrionários avaliados. Esses resultados podem ser explicados devido à ação dose dependente que a pentoxifilina exerce sobre a estimulação da motilidade espermática (Da Ros, 2000). Como citado anteriormente, realizamos um teste com algumas amostras de sêmen descongeladas, através da aplicação de pentoxifilina. A motilidade foi avaliada imediatamente após a aplicação da substância, e foi possível observar que quando comparados ao grupo controle, obtivemos um resultado superior em relação à motilidade total e progressiva da amostra submetida à PTX. Entretanto, após o primeiro lavado seminal, observou-se uma redução da motilidade total e progressiva.

Dessa maneira, pode-se considerar que a razão dos resultados similares de motilidade total e progressiva obtidos no grupo PTX (amostras submetidas a pentoxifilina) em relação ao grupo CT devem-se ao duplo lavado seminal. Além disso, observou-se também resultados similares entre os grupos das taxas de fertilização normal assim como a clivagem precoce e a morfologia do embrião no dia + 3 (dia da transferência), sugerindo que o protocolo realizado não foi eficiente. Assim, sugerimos que outros protocolos podem ser utilizados a fim de aumentar a motilidade em amostras de sêmen descongeladas com melhoria da qualidade embrionária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Borges Júnior E, Rossi-Ferragut LM. Cultura prolongada: quando indicar? In: Scheffer BB, Remohí J, Garcia-Velasco J, Pellicer A, Simón C, editores. Reprodução humana assistida. São Paulo: Atheneu; 2003. p. 177-88.
- Centola GM, Raubertas RF, Mattox JH. "Cryopreservation of Human sêmen. Comparison of cryopreservatives, sources of variability and prediction of post-thaw survival". J Androl, 13: pp. 283-288, 1992.
- Critser JK, Arneson BW, Asker DV, et al. "Cryopreservation of human spermatozoa." Post-thaw chronology of motility and of zona-free hamster ova penetration". Fertil Steril 47: 980-984, 1987.
- Da Ros CT, Barcelos M, Wang R, et al. "Sperm stimulation peptides". Braz J Urol, 26: 43-47, 2000.
- Donnelly ET, Steeke EK, McClure N and Lewis SE. "Assessment of DNA integrity and morphology of ejaculated spermatozoa from fertile and infertile men before and after cryopreservation." Hum Reprod, 16(6), 1191-1199, 2001.
- Flesch FM, Gadella BM. "Dynamics of the mammalian sperm plasma mem-

- brane in process of fertilization". *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1469, p. 197-235, 2000.
- Garbers DL, Lust WD, First NL, Lardy HA. "Effects of phosphodiesterase inhibitors and cyclic nucleotides on sperm respiration and motility." *Biochemistry*, 10:1825-1831, 1971.
- Garty NB, Salomon Y. "Stimulation of partially purified adenylate cyclase from bull sperm by bicarbonate". *FEBS Lett*, v. 218, p. 148-52, 1987.
- Harrison RA. "Capacitation mechanisms, and role of capacitation as seen in eutherian mammals". *Reproduction Fertility and Development*, v.8, p. 581-594, 1996.
- Hellstrom WJG, Sikka SC. "Pentoxifylline stimulates the movement characteristics of cryopreserved sperm". *Surg Forum*, 40: 648-650, 1989.
- Hellstrom WJG, Wang R, Sikka SC. "Platelet-activating factor stimulates motion parameters of cryopreserved human sperm". *Fertil Steril*, 56: 768-770, 1991.
- Henkel RR, Schill WB. "Sperm preparation for ART". *Reprod Biol Endocrinol*; 1(1): 108; Nov 14, 2003.
- Holt WV. "Alternative strategies for the long-term preservation of spermatozoa." *Reprod Fertil Dev*, 9, 309-319, 1997.
- Kobayashi, T., Jinno, M., Sigimura, K. et al. Sperm morphological assessment base don strict criteria and in-vitro fertilization outcome. *Human Reproduction*, 6: 983-986, 1991.
- Lanfzame F, Chapman MG, Guglielmino A, et al. "Pharmacological stimulation of sperm motility." *Hum Reprod*, 9, 192-199, 1994.
- Moore P. *Embriologia Clínica*. Tradução da 7ª edição americana, p.35-36, 2004.
- Naro F, Zhang R, Conti M. "Developmental regulation of unique adenosine 39, 59-monophosphate-specific phosphodiesterase variants during rat spermatogenesis". *Endocrinology*, v. 137, p. 2464-2472, 1996.
- Paul M, Sumpter JP and Lindsay KS. "Action of pentoxifylline directly on semen." *Hum Reprod*, 10, 354-359, 1995.
- Sanger WG, Oslon JH, Sherman JK. "Semen cryobanking for men with cancer-criteria change." *Fertil Steril*, 58, 1024-1027, 1992.
- Scott L, Smith S. Human sperm motility-enhancing agents have detrimental effects on mouse oocytes and embryos. *Fertil Steril*, 63, 166-175, 1995.
- Sharma RK and Agarwal A. "Sperm quality improvement in cryopreserved human semen." *J Urol* 156:1008-1012, 1996.
- Sikka SC, Hellstrom WJ. "The application of pentoxifylline in the stimulation of sperm motion in men undergoing electroejaculation." *J Androl*, 12(3), 165-170, 1991.
- Stanic P, Sonicki Z, Suchanek E. "Effect of pentoxifylline on motility and membrane integrity of cryopreserved human spermatozoa." *Int J Androl*, 25 (3), 186-190, 2002.
- Tesarik J, Thebault, Testart J. "Effect of pentoxifylline on sperm movement characteristics in normozoospermic and asthenozoospermic specimens." *Hum Reprod*, 7, 1257-1263, 1992.
- WHO Laboratory Manual for the examination of Human Semen and Sperm - Cervical Mucus Interaction. 4th ed. WHO; 1999.
- Youvich JM, Edirisinghe JM, Cummins & Youvich JL. "Influence of pentoxifylline in severe male factor infertility". *Fertil Steril*, 53, 715-722, 1990.

Sugestão para a Revista?

E-mail: journalsbra@cmb.com.br

Fertilização *In-vitro* com Meios de Cultivo GV

In Vitro Fertilization = GV Culture Media

**Carlos Gilberto Almodin;
Vania Cibele Minguetti-Câmara;
Angélica Pupin Schiavon;
Eduardo Rosa;
Condesmar Marcondes Oliveira;
Antonio Fernandes Moron;**

Materbaby – Reprodução Humana e Genética
Av. XV de Novembro, 1232
Maringá – Pr - CEP: 87.013-230

Correspondência:
Carlos Gilberto Almodin
Av. XV de Novembro, 1232
E-mail: almodin@materbaby.com.br
Fone: (44) 3224-3992
Maringá – Pr
CEP: 87.013-230

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi relatar nossa experiência com os meios de cultivo GV, produzidos no Brasil, como alternativa aos meios importados. Em nosso país, a importação destes produtos tem frequentemente nos trazido problemas, principalmente, na dificuldade de armazenamento e na pontualidade das entregas. Usamos os meios GV em 100 pacientes com transferência de embriões no dia 3 após coleta oocitária. Obtivemos taxas de fertilização de 71,44%, de gravidez clínica de 38,77% e de implantação de 14,75%. Estes resultados são semelhantes àqueles descritos na literatura, porém com taxas homogêneas de implantação e gravidez. Portanto, a partir de nossa experiência, podemos concluir que os meios GVs produzidos no Brasil apresentam resultados semelhantes aos importados, com a vantagem de poderem ser usados com menor prazo de validade sem sofrer as oscilações de temperatura e armazenamento durante o transporte.

Unitermos: meio de cultura, fertilização in-vitro, embriões humanos.

Recebido em 26/11/2007
Avaliado e aceito em 28/12/2007

ABSTRACT

The objective of this work was to report our experience with GV culture media, produced in Brazil, as alternatives to imported media. In our country, the import of these products has frequently caused problems, especially in regard to difficulties in storage and logistics. We have used The GV media in 100 patients with embryo transfer on day 3 after oocyte pick-up. We have obtained fertilization rates of 71.44%, ongoing pregnancies of 38.77% and implantation of 14.75%. These results are similar to those described in the literature, but with fewer oscillations in the implantation and pregnancy rates. Therefore, we conclude that the GV media produced in Brazil, present similar results to imported media, with the advantage of being used fresher without the great oscillations in temperature and storage conditions experienced during transportation.

Key words: culture médium, in vitro fertilization, human embryos.

FERTILIZAÇÃO IN-VITRO COM MEIOS DE CULTIVO GV

INTRODUÇÃO

O primeiro desafio que a fertilização artificial teve foi o de criar um ambiente que mimetizasse o tubário com proba-

bilidade de se reproduzir artificialmente o início da vida. A busca de se criar um fluido que oferecesse aos gametas a oportunidade de se desenvolver foi iniciada com a purificação da água que deveria ser utilizada para este propósito. (Fleetham *et al.* 1988). Além da água, naturalmente, foram necessários estudos para definir a composição de sais e nutrientes que oferecessem suporte para o desenvolvimento embrionário. (Behr *et al.*, 1990); (Gianaroli *et al.*, 1989); (Holst *et al.*, 1990) Somado a estas necessidades tornou-se imperativo um ambiente que mantivesse as condições básicas para os embriões, ou seja, ambiente com estabilidade de temperatura e umidade possibilitando manutenção de pH e osmolaridade. Vários pesquisadores têm, desde então, proposto várias combinações de sais, aminoácidos, adição de soro, soro albumina, concentrações altas ou baixas de glicose, na tentativa de oferecer as melhores condições possíveis para o desenvolvimento embrionário. (Mehta *et al.*, 2001); (Quinn *et al.*, 2004); (Simon *et al.*, 2003) Desde os primórdios, quando os poucos serviços de Reprodução preparavam seus próprios meios de cultura, até no momento, quando temos grandes indústrias especializadas na produção destes, pouca coisa mudou. As taxas de gravidez e implantação variam bastante entre os diversos serviços, sendo muito baixas na maioria deles, e mesmo os melhores resultados estão longe de ser o que gostaríamos. Mais recentemente tem-se estudado a necessidade de gametas e embriões de acordo com seu desenvolvimento e tentando dar suporte compatível com tal necessidade (Artini *et al.*, 2004); (Gardner *et al.*, 2000); (Loutradis *et al.*, 2000) Vários autores tem ressaltado a importância da ausência de endotoxinas nos meios (Artini *et al.*, 2004); (Dumoulin *et al.*, 1991); (Steyaert *et al.*, 2000), enquanto outros tem estimulado o cultivo de longa duração na tentativa de aumentar a taxa de gestação ou minimizar a taxa de gestação múltiplas. (Gardner *et al.*, 2000); (Karaki *et al.*, 2002); (Schoolcraft *et al.*, 2001). Naturalmente hoje temos boas formulações que nos possibilitam termos bom desenvolvimento embrionário no laboratório. Porém, em nosso país, a importação destes produtos tem frequentemente nos trazido problemas principalmente quanto ao preço, na dificuldade de armazenamento ou na pontualidade das entregas. Na tentativa de diminuir estas dificuldades temos desenvolvido meios há cinco anos. Relatamos nossa experiência com os meios de cultivo GV, produzidos no Brasil, com transferência de embriões no dia 3 após coleta oocitária como alternativa aos meios importados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Pacientes

Após aprovação pelo comitê de ética do Hospital Almodin, 100 pacientes foram submetidas à fertilização *in-vitro* com a utilização de meios de cultivo GV. Este estudo envolveu pacientes com idade entre 20 a 46 anos, durante o ano de 2006, que necessitaram de procedimentos de fertilização *in-vitro*. A causa da infertilidade foi 43% fator masculino. Nos casos restantes, em 13% foram múltiplas causas, 12% infertilidade sem causa aparente e em 32% exclusivamente problemas femininos. A inclusão das pacientes no estudo ocorreu após avaliação propedêutica de rotina e com consentimento prévio.

A estimulação ovariana foi realizada em 40 casos com acetato de leuprolide (Lupron; TAP Pharmaceutical, Abbot

Laboratories, Chicago, U.S.A.); 0,15 ml/dia, iniciado entre o vigésimo primeiro ao vigésimo terceiro dia do ciclo menstrual até o início da menstruação seguinte. No terceiro dia de sangramento era iniciada a indução, com redução do Lupron para 0.05 ml/dia e a estimulação ovariana era iniciada com hormônio foliculo estimulante - FSHr (Gonal F – Sero Brasil) 150-450 UI/dia por oito dias quando era realizada a primeira ecografia para avaliação do desenvolvimento folicular. A indução era mantida até que pelo menos dois folículos estivessem entre 18 a 20 mm de diâmetro. Em 60 pacientes foi realizada indução sem bloqueio hipofisário. A indução era iniciada no segundo dia menstrual com a utilização de FSHr (Gonal F – Sero Brasil) 150-450 UI/dia nos cinco primeiros dias seguidos de HMG 150 – 450 UI/dia (Merional (Meizler, São Paulo) 75-225 UI/dia. Em ambos protocolos quando visualizado pelo menos dois folículos entre 18 a 20 mm de diâmetro foi administrado 10.000 UI de HCG (Chorionom – Meizler, São Paulo). Os ovócitos foram aspirados 34-36 horas após a injeção de HCG usando punção ovariana transvaginal guiada pelo ultra-som.

Fertilização *in-vitro*

Os ovócitos colhidos foram lavados em GV hepes (Ingamed, Maringá, Brasil), transferidos para placas contendo meio de cultura GV (Ingamed, Maringá, Brazil) com 10% de soro sintético (Irvine Scientific, EUA) sob óleo mineral (Sigma, EUA), e mantidos em incubadora (Forma modelo 3159) a 37°C, com atmosfera contendo 6% de CO₂ e umidade de 97%. O sêmen foi preparado através de gradiente descontínuo (55 / 90%; Pharmacia, Uppsala, Sweden). Nos casos de infertilidade por fator masculino os ovócitos foram submetidos à injeção intra-citoplasmática. Tal procedimento era realizado 3 a 6 horas, após a coleta dos ovócitos, quando desnudados com o auxílio de hialuronidase (Irvine Scientific, EUA). Nos casos onde os parâmetros do sêmen eram adequados foi realizada a inseminação dos ovócitos com 100.000 espermatozoides/ml.

Para realização da micromanipulação, foi utilizado o microscópio invertido Diaphot 300 (Nikon, Japan) equipado com contraste de fase Hoffman, sob aumento de 400X. Ao microscópio foram adaptados micromanipuladores hidráulicos MMO-204D e injetores IM6 (Narishige, Tokyo, Japão). O procedimento iniciava-se com a identificação, imobilização e aspiração de um único espermatozoide a partir de uma gota de GV hepes contendo polivinilpirrolidona (Irvine Scientific, EUA). Os ovócitos foram mantidos por uma pipeta de sustentação, enquanto o espermatozoide foi injetado.

Cultivo dos embriões e transferência uterina

No caso dos ovócitos submetidos ao ICSI, após este procedimento ter sido terminado, eles eram transferidos para micro gotas de 50 ul de meio de cultura GV com 10% de soro sintético (Irvine Scientific, EUA) sob óleo mineral. até 4 ovócitos por micro gota). Quando a fecundação foi realizada através da inseminação, os pré-embriões (2 pró-núcleos) eram então transferidos para as placas contendo as micro gotas de 50 ul de GV com 10% de soro somente no momento da confirmação da fecundação, 15 a 18 horas após a fertilização. O congelamento dos embriões quando realizado, era em pró-núcleo segundo protocolo proposto por Check *et al.* (1996). O mesmo aconteceu

Tabela I: Descrição das taxas obtidas com o meio GV no ano de 2006.

Número de pacientes		100
Média de oócitos colhidos por paciente		10,92 ± 8,07
Taxa de fertilização (%)		
	FIV	69,91
	ICSI	72,98
Média de embriões transferidos		3,01 ± 1,55
Taxa de gravidez (%)		
	Clínica	38,77
	Aborto	7,14

nos casos de criopreservação de ovócitos ou embriões divididos (4 células a blastocisto), através do método de vitrificação segundo Massashige e colaboradores (Massashige *et al.*, 2005)

Os embriões eram mantidos em cultivo até o dia 3 pós-fertilização, quando eram transferidos para o útero das pacientes. A fase lútea foi suplementada com 50 mg/IM/dia de progesterona injetável. A gravidez foi definida pela presença de gestação viável e batimento cardíaco presentes após a 13^o semana pós-transferência.

As variáveis qualitativas foram representadas por frequência absoluta (n) e relativa (%).

RESULTADOS

Das 100 pacientes submetidas aos procedimentos de fertilização *in-vitro*, 10 foram receptoras de oócitos. Do total das pacientes, em 45 foi realizado o procedimento de injeção intra-citoplasmática de espermatozoides, e nas demais (55) foi realizado inseminação em meio de cultura, conforme descrito em materiais e métodos. A taxa de fertilização não foi diferente entre os dois procedimentos realizados para fertilização, 69,91% nos casos com inseminação e 72,98% nos casos com ICSI. Em 1 caso apenas, quando a inseminação foi realizada, houve falha de fertilização. A média dos oócitos colhidos por paciente foi 10,92 e a média do número de embriões transferidos foi 3,01 (tabela I). Houve congelamento de oócitos ou embriões em 20 pacientes.

A taxa de implantação obtida foi de 14,75%, com taxas de gravidez clínica e aborto de 38,77 % e 7,14% respectivamente (tabela I).

DISCUSSÃO

Desde a década passada ressurgiu o interesse quanto aos meios de cultura utilizados na fertilização *in-vitro*. Infelizmente durante este tempo mais confusão que consenso parece ter-se obtido sobre a composição do meio. Desenvolvimento *in-vitro* de embriões humanos 48-72 h após a fertilização pode ser obtido usando-se uma variedade de meios, desde soluções balanceadas simples a meios mais complexos.

Dois grandes problemas surgem ao formular um meio quimicamente: primeiro, a seleção dos componentes a serem incluídos no meio e segundo a determinação da concentração de cada um dos componentes selecionados. Atualmente, os componentes dos meios de cultura consistem principalmente de substâncias comuns a todos os fluidos. Poucos deles são específicos do oviduto, e alguns são produtos químicos artificiais não encontrados naturalmente. O número de componentes pode ser pequeno, definindo o meio como simples o qual contém somente

12 componentes ou meio complexo, o qual contém mais que 12 componentes (Summers *et al.*, 2003).

Acreditava-se que as concentrações das substâncias às quais são incorporadas aos meios de cultura, deveriam ser próximas às concentrações às quais os embriões são naturalmente expostos. Este princípio foi primeiramente usado por Tervit (1972) em cultura de ovelhas. Entretanto, há evidências em estudos com ratos que as concentrações das substâncias do fluido no oviduto não necessariamente suportam o desenvolvimento de embriões pré-implantação (Summers *et al.*, 2003). Esse fato foi primeiramente observado em estudos com K⁺. Embora o fluido do oviduto de rato contenha maiores concentrações de K⁺ (~ 25 mmol/l) (Roblero *et al.*, 1976; Borland *et al.*, 1977). Quinn e colaboradores encontraram máximo desenvolvimento quando as concentrações de potássio giraram em torno de 2,3 a 5,1 mmol/l (Quinn *et al.*, 1985). Outro grupo encontrou que os embriões desenvolveram-se melhor quando a concentração de K⁺ foi < 6 mmol/l (Wiley *et al.*, 1986).

Análises do fluido do oviduto e do útero através do ciclo hormonal revelam mudanças na concentração de carboidratos tanto dentro do ciclo como entre o oviduto e o útero. Gardner e Lane verificaram que os níveis de glicose no oviduto são mais baixos quando o ovócito / pré-embrião estão presentes (0,5mM), enquanto o piruvato está aumentado (0,32 mM) e no útero a glicose alcança um pico de 3,15 mM e o piruvato está bem diminuído (0,1mM). Baseados principalmente nesses achados surgiram os meios seqüenciais, cuja idéia baseia-se na divisão do período pré-implantacional em 2 fases. A primeira corresponde ao estágio de clivagem do embrião, caracterizado por níveis baixos de biossíntese, baixa capacidade respiratória e limitada capacidade de utilizar glicose como fonte de energia. Já no período pós-compactação as taxas de biossíntese aumentam, assim como a capacidade respiratória e a habilidade para utilizar glicose (Gardner *et al.*, 1997). Nenhum consenso quanto à utilização ou não dos meios seqüenciais parece ter-se obtido nesses últimos 10 anos. Parece bem estabelecido apenas que até o período pré-compactação as exigências dos embriões são realmente menores, ou seja, é possível mantê-los em cultura em meios chamados simples, já após esse período são necessários meios mais complexos com vitaminas e aminoácidos, por exemplo.

Sempre quisemos trabalhar com meios seqüenciais, na tentativa de diminuir o número de embriões transferidos para as paciente, mas infelizmente, nossa primeira tentativa não foi um sucesso como gostaríamos. Observando os excelentes resultados de Schoolcraft *et al.* (1999) com o uso de meios seqüenciais resolvemos incluir o meio G1.2 e G2.2 em nosso serviço. Infelizmente, comparando os resultados do uso de G1 e G2 com o cultivo em células Vero que era o já adotado em nosso serviço anteriormente, não observamos diferenças significativas entre os resultados verificados. A taxa de blastocistos expandidos encontrada em nosso estudo foi de 15,9% e 14% com células Vero e G1.2/G2.2 respectivamente. Com células Vero 36,0% das pacientes engravidaram com uma taxa de implantação de 18,9%. Quando se utilizou G1.2/G2.2 as taxas de gravidez e implantação foram 28,9% com 14,9% respectivamente (Almodin *et al.*, 2001). Uma diferença importante entre o estudo de Schoolcraft *et al.* (1999) e o nosso é que nós

usamos o G1/G2 “comercial” no cultivo dos embriões, meio este que passou por transporte e provavelmente oscilações de temperatura, entre outras, que poderiam causar danos aos embriões. Infelizmente, no Brasil não temos nenhuma empresa nacional que produza meios de cultura para embriões, com isso quando começamos a utilizar o lote do meio ele já está preparado há algum tempo, devido à dificuldade de acesso aos produtos importados. Como as maiorias dos meios de cultura têm uma validade curta, fica bastante difícil sua utilização dentro das melhores condições.

Resolvemos, então, verificar se poderíamos melhorar nossos resultados com meios preparados em nosso próprio Serviço, com validade de apenas 3 semanas e controle de qualidade com embriões bovinos. Os meios de cultura podem ser preparados “em casa” ou obtidos comercialmente. O aumento do uso de produtos comerciais tem sido devido à consideração prática e econômica, pois a preparação dos meios “em casa” pode ser mais laboriosa e requer equipamentos específicos, além, da dificuldade em estabelecer um controle de qualidade. Em contrapartida, nos meios comerciais existem variáveis não controladas, como a origem e pureza dos componentes envolvidos, além, de sua composição não ser claramente definida. Existem poucos estudos comparando meios preparados “em casa” e comercialmente (Staessen *et al.*, 1994; Karamalegos *et al.*, 1999). E nos últimos anos apenas comparações entre os diferentes meios comerciais têm sido realizadas (Van Langendonck *et al.*, 2001).

Karamalegos e Bolton fizeram um estudo comparando o uso da solução balanceada Earle's (EBSS) preparada “em casa” com um meio equivalente muito próximo produzido pela Medi-cult (IVF Medium; Medi-Cult, Redhill, Surrey, UK). Os dois meios diferem na composição apenas no suplemento de antibiótico e proteína usados e na concentração de piruvato. Não houve diferença significativa nas taxas de fertilização, gravidez ou implantação entre os dois grupos. No entanto diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos foi identificada no número de ciclos com falha de fertilização, e na taxa de clivagem de embriões que desenvolveram 2 PN. Muitos ciclos resultaram em falha de fertilização quando os ovócitos foram inseminados em meio Medi-Cult (10/230) que em EBSS (1/218), apesar da inseminação com espermatozoides aparentemente normais. Dos 10 ciclos que resultaram em falha de fertilização, 6 obtiveram fertilização e transferência de embriões em seus subseqüentes ciclos de tratamento. Embriões em estágio de pró-núcleo sofreram a primeira divisão mais rapidamente em Medi-Cult que em EBSS. Embriões que clivam mais rapidamente parecem ter um potencial de implantação maior, entretanto não houve diferença na taxa de implantação entre os dois meios (Karamalegos *et al.*, 1999).

No trabalho de Karamalegos & Bolton eles obtiveram falha de fertilização em 10/230 ciclos quando usaram o IVF da Medi-cult, sendo que 4 foram usando o mesmo lote de meio, entretanto mais 12 ciclos foram realizados com o mesmo meio resultando em fertilização. Foi comentado no trabalho que não houve diferença significativa nas taxas de fertilização, clivagem, morfologia embrionária, implantação e gravidez com relação aos diferentes lotes, mas, como os dados não são mostrados, fica difícil dizer se esses resultados excluíram ou não os ciclos com falha

de fertilização da análise estatística. Outra questão importante que não fica clara é se as falhas de fertilização ocorreram próximas aos prazos de validade dos lotes. Por esse motivo, resolvemos usar um meio preparado “em casa”, com um prazo de validade mais curto que os meios comerciais apresentam, tentando minimizar possíveis transtornos quanto à validade e transporte do meio, devido à nossa dificuldade em adquirir produtos não nacionais.

Em nosso estudo, em que utilizamos o meio GV, denominado e preparado por nós, obtivemos taxas de gravidez clínica de 38,77 %, com 7,14% de aborto, demonstrando-se superior a outros anos, com o uso de outros meios. Apenas quando utilizamos células Vero os resultados foram semelhantes. Nosso meio é considerado em termos de literatura um meio simples para transferência até o dia 3 de desenvolvimento, portanto não acreditamos que os constituintes sejam os responsáveis pelos resultados. O principal resultado de nosso estudo foi a homogeneidade dos nossos resultados em termos de lote. Não houve diferença em termos de taxas de gravidez e implantação de acordo com os lotes (dados não mostrados). Acreditamos que seja devido ao fato do prazo de validade de apenas 3 semanas determinado aos meios de cultivo GV, além de não termos tido oscilações devidas a transporte. Tivemos apenas uma falha de fertilização, o que é bastante encorajador, visto que muitas clínicas no Brasil adotaram fazer ICSI em todas as suas pacientes, para evitar esse problema. Baseado em nossos resultados, acreditamos que a utilização de meio de cultura de mais fácil acesso pode interferir com os resultados. Pretendemos fazer outras formulações de meios mais complexos inclusive para cultura até blastocisto, para maiores avaliações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Almodin, C. G., Minguetti-Câmara, V. C., Pereira, L. A. C. Cultura de embriões até o estágio de blastocisto: comparação entre o uso de meios seqüenciais e de co-cultura. *RBGO*, 23:589-595, 2001.
2. Artini, P. G., Valentino, V., Cela, V., Cristello, F., Vite, A., Genazzani, A. R. -A randomized control comparison study of culture media (HTF versus P1) for human in vitro fertilization. *Eur.J.Obstet.Gynecol.Reprod.Biol.*, 116:196-200, 15-10-2004..
3. Artini, P. G., Valentino, V., Cela, V., Cristello, F., Vite, A., Genazzani, A. R. -A randomized control comparison study of culture media (HTF versus P1) for human in vitro fertilization. *Eur.J.Obstet.Gynecol.Reprod.Biol.*, 116:196-200, 15-10-2004.
4. Behr, B. R., Stratton, C. J., Foote, W. D., Knutzen, V., Sher, G. -In vitro fertilization (IVF) of mouse ova in HEPES-buffered culture media. *J.In Vitro Fert. Embryo.Transf.*, 7:9-15, 1990.
5. Dumoulin, J. C., Menheere, P. P., Evers, J. L., Kleukers, A. P., Pieters, M. H., Bras, M., Geraedts, J. P. -The effects of endotoxins on gametes and preimplantation embryos cultured in vitro. *Hum.Reprod.*, 6:730-734, 1991.
6. Fleetham, J., Mahadevan, M. M. -Purification of water for in vitro fertilization and embryo transfer. *J.In Vitro Fert.Embryo.Transf.*, 5:171-174, 1988.
7. Gardner, D. K. -Blastocyst culture: toward single embryo transfers. *Hum. Fertil.(Camb.)*, 3:229-237, 2000.
8. Gardner, D. K., Pool, T. B., Lane, M. -Embryo nutrition and energy metabolism and its relationship to embryo growth, differentiation, and viability. *Semin.Reprod.Med.*, 18:205-218, 2000.
9. Gianaroli, L., Trounson, A., King, C., Ferraretti, A., Chiappazzo, L., Bafaro, G. -Human amniotic fluid for fertilization and culture of human embryos: results of clinical trials in human in vitro fertilization (IVF) programs. *J.In Vitro Fert.Embryo.Transf.*, 6:213-217, 1989.

10. Holst, N., Bertheussen, K., Forsdahl, F., Hakonsen, M. B., Hansen, L. J., and Nielsen, H. I. -Optimization and simplification of culture conditions in human in vitro fertilization (IVF) and preembryo replacement by serum-free media. *J.In Vitro Fert.Embryo.Transf.*, 7:47-53, 1990.
11. Karaki, R. Z., Samarraie, S. S., Younis, N. A., Lahloub, T. M., and Ibrahim, M. H. -Blastocyst culture and transfer: a step toward improved in vitro fertilization outcome. *Fertil.Steril.*, 77:114-118, 2002.
12. Loutradis, D., Drakakis, P., Kallianidis, K., Sofikitis, N., Kallipolitis, G., Milingos, S., Makris, N., Michalas, S. -Biological factors in culture media affecting in vitro fertilization, preimplantation embryo development, and implantation. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, 900:325-335, 2000.
13. Mehta, R. H. -Growth of human preimplantation embryos in vitro. *Reprod. Biomed.Online*, 2:113-119, 2001.
14. Quinn, P. -The development and impact of culture media for assisted reproductive technologies. *Fertil.Steril.*, 81:27-29, 2004.
15. Schoolcraft, W. B., Gardner, D. K. -Blastocyst versus day 2 or 3 transfer. *Semin.Reprod.Med.*, 19:259-268, 2001.
16. Simon, A., Safran, A., Revel, A., Aizenman, E., Reubinoff, B., Porat-Katz, A., Lewin, A., Laufer, N. -Hyaluronic acid can successfully replace albumin as the sole macromolecule in a human embryo transfer medium. *Fertil. Steril.*, 79:1434-1438, 2003.
17. Steyaert, S. R., Leroux-Roels, G. G., Dhont, M. -Infections in IVF: review and guidelines. *Hum.Reprod.Update*, 6:432-441, 2000.
18. Summers M. C., Biggers J. D. - Chemically defined media and the culture of mammalian preimplantation embryos: historical perspective and current issues. *Hum. Reprod. Update*, 9:557-582, 2003.
19. Tervit H. R., Whitingham D. G., Rowson L. E. - A successful culture in vitro of sheep and cattle ova. *J. Reprod. Fert.*, 30:493-497, 1972.
20. Van Langendonck A., Demylle D., Wyns C., Nisolle M., Donnez J. - Comparison de G1.2/G2.2 and sydney IVF cleavage/blastocyst sequential media for the culture of human embryos: a prospective, randomized, comparative study. *Fertil. Steril.*, 76:102-3 1035, 2001.
21. Wiley L. M., Yamami S., Van Muyden D. - Effect of potassium concentration, type of protein supplement, and embryo density on mouse preimplantation development in vitro. *Fertil. Steril.*, 45:111-119, 1986.

Aspectos Imunológicos da Endometriose.

Immunological Aspects of Endometriosis.

Vanessa Krebs Genro¹
Camila da Silva Campos¹
Cristian Sloczinski²
Virginia Rosa²

João Sabino L da Cunha-Filho³

¹Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

²Estudantes da graduação da Faculdade de Medicina da

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

³Professor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Serviço de Ginecologia e Obstetrícia – HCPA

Endereço para correspondência:

Cel Lucas de Oliveira 132, Porto Alegre, RS.

Telefone: 33323523/92490948

vgenro@portoweb.com.br

RESUMO

Endometriose é definida como presença de tecido endometrial fora da cavidade uterina. Apesar de ter sido associada pela primeira vez em 1927 com alterações na pelve feminina, ainda é enigmática a sua etiopatogenia. Diversas teorias foram aventadas como menstruação retrógrada e metaplasia celômica. Mais recentemente, alterações imunológicas têm sido estudadas nas mulheres com endometriose como alterações nas células NK, monócitos e macrófagos, linfócitos auxiliares e interleucinas demonstrando muita consistência.

ABSTRACT

Endometriosis is a disease defined as the presence of endometrial tissue outside uterine cavity. Despite it has been first associated in 1927 with pelvic anatomic abnormalities, its precise pathogenesis is still unknown. Multiple theories were considered as retrograde menstruation and and coelomic metaplasia. More recently, functional changes in immunological components have been investigated among women with endometriosis as dysfunction in natural killers cells, monocytes, macrophages, lymphocytes and cytokines.

Palavras-chave: Endometriose, imunologia.

Key-Words: Endometriosis, immunological aspects.

INTRODUÇÃO

A endometriose é uma doença caracterizada pela presença de tecido endometrial fora da cavidade uterina (Koninckx, P. R., 1994; Nisolle, M. and Donnez, J., 1997; Olive, D. L. and Schwartz, L. B., 1993e). Em 1927, SAMPSON (Sampson, J. A., 1927) foi o primeiro autor a caracterizar a endometriose como uma patologia responsável por alterações na pelve feminina. A etiopatogenia da endometriose é enigmática e está baseada nas teorias mais conhecidas, como a metaplasia celômica, os implantes ectópicos e a indução de células multipotenciais.

Estima-se que 10% a 15% da população feminina apresenta endometriose (Bancroft, K., Vaughan Williams, C. A. et al, 1989; Muse, K. N. and Wilson, E. A., 1982; Olive, D. L. and Schwartz, L. B., 1993a; Olive, D. L. and Schwartz, L. B., 1993b). Essa doença pode ser assintomática, ocorrendo diagnóstico, muitas vezes, somente ao acaso, assim como pode levar à incapacidade de gestar ou causar vários graus de desconforto pélvico. É uma patologia de importância clínica ginecológica e na medicina reprodutiva sendo foco de constante pesquisa. A associação entre endometriose e infertilidade já foi estabelecida através de estudos que mostraram que mulheres com endometriose tem 20 vezes mais chances de serem inférteis (Muse, K. N. and Wilson, E. A., 1982). Outros estudos clássicos demonstraram que trinta a sessenta por cento das pacientes com endometriose apresentam infertilidade associada (Kistner, R. W., 1975; Olive, D. L. and Schwartz, L. B., 1993c).

As pacientes com endometriose moderada ou grave, segundo a classificação da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva (1997), apresentam um substrato anatômico

Recebido em 16/09/2007
 Avaliado e aceito em 05/12/2007

para sua incapacidade de gestar, tendo uma apresentação mais evidente desta patologia. Entretanto, na ausência deste substrato anatômico, são propostos vários mecanismos para a etiologia da infertilidade de pacientes com endometriose mínima ou leve, sem, até o momento, haver uma definição clara a respeito (Candiani, G. B., Vercellini, P. *et al*, 1991; Inoue, M., Kobayashi, Y. *et al*, 1992; Muse, K. N. and Wilson, E. A., 1982; Olive, D. L. and Schwartz, L. B., 1993d).

Aspectos Imunológicos na endometriose

Diversos estudos têm associado a endometriose com mudanças na imunidade humoral e celular que sugere que uma resposta inadequada pode explicar a falha em remover células endometriais da cavidade peritoneal, permitindo o implante de focos ectópicos de endométrio (SPEROFF, L. and Fritz, M., 2005). Em mulheres com endometriose essas células parecem estar ativas para secreção de fatores que contribuem para proliferação de endométrio ectópico (Berkkanoglu, M. and Arici, A., 2003).

Estima-se que a porcentagem de mulheres que apresentam menstruação retrógrada gira em torno de 76-90%, entretanto, apenas uma pequena parcela dessas mulheres apresenta endometriose (Berkkanoglu, M. and Arici, A., 2003). A habilidade dos implantes endometriais se estabelecerem e sobreviverem na cavidade pélvica pode estar relacionada com resposta imune falha ou aberrante (Paul, Dmowski W. and Braun, D. P., 2004). Foi sugerido que o sistema imune seria responsável pela remoção das células endometriais da cavidade peritoneal de pacientes saudáveis, sendo que uma falha no sistema de apoptose ou na imunidade celular poderia ser o fator desencadeante da implantação de células endometriais no peritônio (Paul, Dmowski W. and Braun, D. P., 2004). Crescimento endometrial ectópico, infiltração de células imunes, presença de citocinas inflamatórias, fatores de crescimento, angiogênese são resposta inflamatórias presentes nos implantes endometriais (Lebovic, D.I., Mueller, M. *et al*, 2001; Paul, Dmowski W. and Braun, D. P., 2004).

Introdução ao sistema imune

As células que compõem o sistema imune se dividem em linfócitos que englobam as células B, T e *Natural Killers*; fagócitos incluindo monócitos, neutrófilos e eosinófilos e células auxiliares – basófilos, mastócitos e plaquetas (Roitt, I Brostoff J Male D and ., 2005). Os linfócitos T têm como tarefa reconhecimento de antígenos, auxiliar os linfócitos B na diferenciação celular e na produção de anticorpos, além de auxiliar fagócitos na destruição de patógenos (Roitt, I Brostoff J Male D and ., 2005)

Os linfócitos T reconhecem antígenos de microorganismos intracelulares, destruindo-os ou destruindo as células infectadas, não sendo, entretanto capazes de produzir anticorpos (Abbas, AK and Lichtman, AH, 2005). Existem populações funcionalmente distintas entre as quais se encontra as células T auxiliares (*helper*) e T citolíticas. Em resposta ao estímulo antigênico, os linfócitos T auxiliares secretam proteínas denominadas citocinas (Abbas, AK and Lichtman, AH, 2005).

As citocinas, além de desempenharem a função de estimular a proliferação e diferenciação das células T (Abbas, AK and Lichtman, AH, 2005), podem ser sintetizadas pelos macrófagos peritoneais, pelos implantes endometriais ectópicos ou pelas células mesoteliais do peritônio (Kyama, C. M., Debrock, S. *et al*, 2003). Ainda desempenham papel importante na regulação da proliferação, ativação, motilidade, adesão, quimiotaxia e morfogênese celular e são fundamentais na iniciação, propagação e regulação da resposta inflamatória e imunológica (Bedaiwy, M. A., Falcone, T. *et al*, 2002).

O fluido peritoneal normalmente contém inúmeras células, incluindo macrófagos, células mesoteliais, linfócitos, eosinófilos e mastócitos. Subpopulações de linfócitos T helper podem ser classificadas em T helper 1 (Th1) e T helper 2 (Th2) dependendo do perfil de citocinas secretadas. As células Th1 produzem interferon (IFN- γ), IL2 e fator de necrose tumoral (TNF - α) e estão envolvidos em imunidade mediada por células. (Kwak-Kim, J. Y., Chung-Bang, H. S. *et al*, 2003). Os linfócitos Th2 produzem apenas as seguintes citocinas: IL4, IL5, IL6, IL9, IL10, IL13 e estão envolvidos no desenvolvimento de imunidade humoral contra patógenos. Tabela 1.

Tabela 1- Produção de citocinas pelos linfócitos Thelper

Th1 Imunidade Celular	Th2 Imunidade Humoral
IFN- γ	IL-4
IL-2	IL-5
TNF- α	IL-6
	IL-9
	IL-10
	IL-13

IMUNOLOGIA E ENDOMETRIOSE

Imunidade Celular

Monócitos e macrófagos produzem fatores relacionados com imunidade celular e humoral. Nas pacientes com endometriose, monócitos e macrófagos estão em maior número no líquido peritoneal e demonstram níveis mais altos de atividade quando comparadas com controles saudáveis, sendo maior a produção de Fator de Necrose Tumoral, interleucinas 6 e 8 (Paul, Dmowski W. and Braun, D. P., 2004). Parece haver, também, uma deficiência nos receptores dessas células que são responsáveis pela atividade fagocítica (*scavenger receptors*) facilitando a implantação de células de endométrio ectópico (Berkkanoglu, M. and Arici, A., 2003; Paul, Dmowski W. and Braun, D. P., 2004). Fator inibitório de migração é uma citocina produto de linfócitos e macrófagos ativado, secretado também por células endometriais, sendo que Machutte *et al*. demonstraram a redução deste fator em mulheres com endometriose associada à infertilidade ou à dor (Mahutte, N. G., Matalliotakis, I. M. *et al*, 2004).

Células *Natural Killers* são linfócitos responsáveis pela vigilância e destruição de células infectadas ou com transformação maligna (Somigliana, E., Viganò, P. *et al*, 1999). Realizam essa tarefa através de imunoglobulinas IgG ou do reconhecimento de receptores específicos que ativam (*killer-activating receptors*) ou inibem (*killer-inhibitory receptors*) a atividade celular citotóxica (Paul, Dmowski W. and Braun, D. P., 2004; Somigliana, E., Viganò, P. *et al*, 1999). Há uma diminuição importante da citotoxicidade peritoneal e periférica em relação ao endométrio autólogo e heterólogo em mulheres com endometriose (Berkkanoglu, M. and Arici, A., 2003; Somigliana, E., Viganò, P. *et al*, 1999). Defeitos funcionais foram descritos por autores independentes (Somigliana, E., Viganò, P. *et al*, 1999) e mais recentemente a expressão de receptores inibitórios das células *natural killers* parece estar aumentada nestas pacientes (Wu, M. Y., Yang, J. H. *et al*, 2000), contribuindo para o desenvolvimento da doença.

Imunidade Humoral

Já foi demonstrada ativação policlonal de linfócitos B, anormalidade imunológica na função de células T e B, alteração na apoptose e no envolvimento sistêmico em mulheres com endometriose (Paul, Dmowski W. and Braun, D. P., 2004). Entretanto, não há ainda base imunológica sólida para denominarmos essa

patologia de autoimune, pois não foi identificada associação com nenhum alelo HLA ou prova alguma da ativação do sistema complemento no endométrio ectópico. A associação entre anormalidade em autoanticorpos e endometriose pode ajudar a explicar a infertilidade associada a essa doença, assim como a maior taxa de falha de implantação após fertilização *in vitro* nestas pacientes (Paul, Dmowski W. and Braun, D. P.,2004).

Estudos têm encontrado níveis elevados de inúmeras citocinas no fluido peritoneal de mulheres com endometriose, implicando então essas citocinas no desenvolvimento e progressão da endometriose (Harada, T., Iwabe, T.*et al*,2001; Kyama, C. M., Debrock, S.*et al*,2003). As citocinas encontradas em mulheres com endometriose incluem, até o presente momento: IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, interferon- γ , fator de necrose tumoral (TNF) entre outros (Bedaiwy, M. A., Falcone, T.*et al*,2002; Harada, T., Iwabe, T.*et al*,2001).

A produção de interleucina 6 parece ser diferente em pacientes com e sem endometriose, assim como a interleucina 12 não demonstra associação com a doença(Harada, T., Iwabe, T.*et al*,2001). Fator de necrose tumoral e IL-8 foram encontrados em níveis maiores no fluido peritoneal de pacientes com endometriose, em compensação o interferon gama parece estar diminuído (Barcz, E., Kaminski, P.*et al*,2000) As citocinas podem regular a ação de leucócitos no fluido peritoneal ou agir diretamente no endométrio ectópico, onde podem exercer vários papéis na patogênese e fisiopatologia da endometriose. Um sumário das evidências disponíveis entre alterações imunológicas e endometriose pode ser visto na tabela 2.

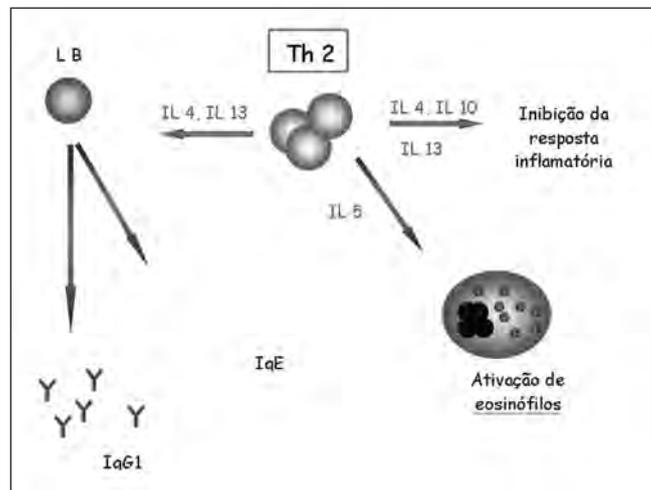
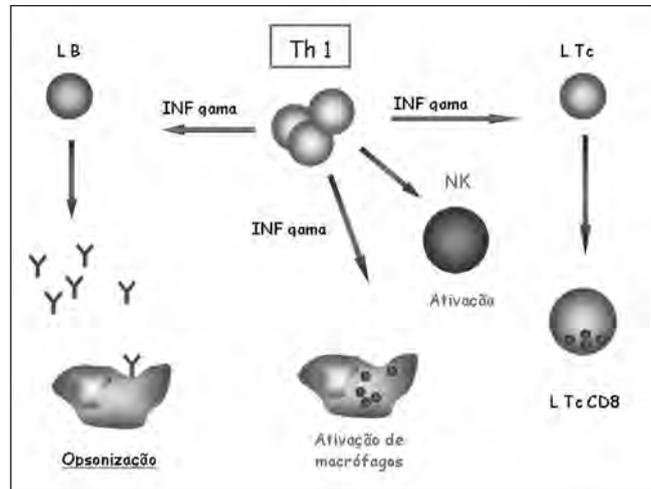
Tabela 2 - Sumário das evidências entre alterações imunológicas e endometriose

Fator imunológico estudado	Autor (referência)
Monócitos e macrófagos	Mahute,2004
Célula NK	Somigliana, 1999; Wing-Yi Wu, 2000
Th1/Th2	Podgaec,2007; Antsiferova, 2005
Citocinas	Harada, 2001

VEGF (*vascular endothelial growth factor*) é uma glicoproteína com atividade angiogênica potente e capacidade de aumentar perfusão capilar (Barcz, E., Kaminski, P.*et al*,2000; Donnez, J., Smoes, P.*et al*,1998). De acordo com a teoria da menstruação retrógrada, a neovascularização seria um passo essencial para o estabelecimento e crescimento de implantes ectópicos, sendo que essa glicoproteína foi aventada como um dos fatores possíveis para etiologia da endometriose (Donnez, J., Smoes, P.*et al*,1998; Gagn, D., Pag, M.*et al*,2003; McLaren, J., Prentice, A.*et al*,1996). Estudos com esse fator são conflitantes. É comprovada a presença dessa proteína no fluido peritoneal e alguns estudos demonstraram uma maior concentração desta no fluido peritoneal de pacientes com endometriose (Barcz, E., Kaminski, P.*et al*,2000; McLaren, J., Prentice, A.*et al*,1996), enquanto outros não encontraram essa associação (Barcz, E., Kaminski, P.*et al*,2001). Lesões avermelhadas parecem ter uma expressão maior desta proteína, assim como o endométrio eutópico de pacientes com endometriose (Donnez, J., Smoes, P.*et al*,1998).

IGF (*insuline-like growt factor*) é peptídeo mitogênico potente, mediador do estrogênio, que já foi demonstrado no fluido peritoneal, assim como uma família de proteínas ligadoras de IGF (IGFBP)(Kim, J. G., Suh, C. S.*et al*,2000). Um estudo investigou os níveis dessas proteínas no flído peritoneal de pacientes com endometriose, encontrando níveis aumentados de IGF-I e diminuídos de IGFBP-3 em pacientes com endometriose(Kim, J. G., Suh, C. S.*et al*,2000). Nosso grupo avaliou a presença

Gráfico 1 - Modelo proposto para alterações imunológicas em pacientes com endometriose – haveria uma alteração tanto na resposta celular (Th1) como humoral (Th2) com diminuição da ativação macrocitária e de células NK, assim como secreção de algumas interleucinas (anormalidades marcadas em vermelho).



desses mesmos fatores no fluido folicular de pacientes com endometriose submetidas a FIV/ICSI e não encontrou diferenças entre as pacientes com endometriose ou com fator tubário (Cunha-Filho, J. S., Lemos, N. A.*et al*,2003).

Estresse oxidativo é um processo que acontece quando existe um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e antioxidantes, sendo que esse processo já foi estudado em diversas patologias como pré eclampsia, aterosclerose e infertilidade masculina e feminina(Jackson, L. W., Schisterman, E. F.*et al*,2005). Alguns estudos têm demonstrado uma associação positiva da presença de marcadores desse processo com a presença de endometriose. Entretanto um estudo recente avaliou a presença de TBARS (thiobarbituric acid-reacting substances), vitaminas antioxidantes solúveis em gordura (vitamina A, viatamina E, licopeno e b-caroteno) entre outros produtos do estresse oxidativo no soro de mulheres com e sem endometriose, encontrando apenas uma associação estatística fraca com os níveis de vitamina E e a presença de endometriose (Jackson, L. W., Schisterman, E. F.*et al*,2005).

Outros fatores imunológicos solúveis têm sido estudados em fluido peritoneal de mulheres com endometriose. Angio-

genina, um fator associado com processo de angiogênese, encontra-se aumentado em mulheres com endometriose com uma possível correlação entre seus níveis e a extensão da doença (Suzumori, N., Zhao, X. X. *et al*,2004). Leptina, um modulador inflamatório potente, foi estudado tendo os trabalhos resultados contraditórios levando a crer que esse fator não tem associação com a presença de endométrio ectópico na cavidade (Kavoussi, S. K., Mueller, M. D. *et al*,2006; Wertel, I., Gogacz, M. *et al*,2005).

Há evidência substancial de que alterações imunológicas no fluido peritoneal podem ter um papel significativo na infertilidade associada com endometriose (Berkkanoglu, M. and Arici, A.,2003). Estudos demonstram dificuldade de implantação em pacientes com endometriose (Berkkanoglu, M. and Arici, A.,2003), assim como coorte folicular pior nessas pacientes (Lemos, N. A., Arbo, E. *et al*,2007), o que poderia estar correlacionado com alterações imunológicas séricas ou do fluido peritoneal.

De acordo com os dados disponíveis atualmente podemos considerar a endometriose como uma doença com fisiopatologia ainda não esclarecida, mas com evidentes bases imunológicas, seja na possibilidade de implantação e sobrevivência do endométrio ectópico na cavidade peritoneal ou na sua associação com infertilidade e dor. Considerando todas as evidências disponíveis e linhas de investigação da endometriose do ponto de vista imunológico, acreditamos que poderemos, no futuro, encontrar marcadores séricos ou do fluido peritoneal que possam contribuir para o diagnóstico ou até mesmo encontrar uma linha de tratamento para essa patologia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril*,67:817-821,1997.
2. Abbas, AK and Lichtman, AH-Imunologia Celular e Molecular.Rio de Janeiro: Elsevier,2005.
3. Bancroft, K., Vaughan Williams, C. A., and Elstein, M.-Minimal/mild endometriosis and infertility. A review. *Br.J.Obstet.Gynaecol.*,96:454-460,1989.
4. Barcz, E., Kaminski, P., and Marianowski, L.-Role of cytokines in pathogenesis of endometriosis. *Med.Sci.Monit.*,6:1042-1046,2000.
5. Barcz, E., Kaminski, P., and Marianowski, L.-[VEGF concentration in peritoneal fluid of patients with endometriosis]. *Ginekol.Pol.*,72:442-448,2001.
6. Bedaiwy, M. A., Falcone, T., Sharma, R. K., Goldberg, J. M., Attaran, M., Nelson, D. R., and Agarwal, A.-Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Hum.Reprod.*,17:426-431,2002.
7. Berkkanoglu, M. and Arici, A.-Immunology and endometriosis. *Am J Reprod Immunol*,50:48-59,2003.
8. Candiani, G. B., Vercellini, P., Fedele, L., Colombo, A., and Candiani, M.-Mild endometriosis and infertility: a critical review of epidemiologic data, diagnostic pitfalls, and classification limits. *Obstet.Gynecol.Surv.*,46:374-382,1991.
9. Cunha-Filho, J. S., Lemos, N. A., Freitas, F. M., Kiefer, K., Faller, M., and Passos, E. P.-Insulin-like growth factor (IGF)-1 and IGF binding protein-1 and -3 in the follicular fluid of infertile patients with endometriosis. *Hum. Reprod.*,18:423-428,2003.
10. Donnez, J., Smoes, P., Gillerot, S., Casanas-Roux, F., and Nisolle, M.-Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum Reprod*,13:1686-1690,1998.
11. Gagn, D., Pag, M., Robitaille, G., Hugo, P., and Gosselin, D.-Levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with endometriosis. *Hum Reprod*,18:1674-1680,2003.
12. Harada, T., Iwabe, T., and Terakawa, N.-Role of cytokines in endometriosis. *Fertil.Steril.*,76:1-10,2001.
13. Inoue, M., Kobayashi, Y., Honda, I., Awaji, H., and Fujii, A.-The impact of endometriosis on the reproductive outcome of infertile patients. *Am.J.Obstet. Gynecol.*,167:278-282,1992.
14. Jackson, L. W., Schisterman, E. F., Dey-Rao, R., Browne, R., and Armstrong, D.-Oxidative stress and endometriosis. *Hum Reprod*,20:2014-2020,2005.
15. Kavoussi, S. K., Mueller, M. D., and Lebovic, D. I.-Expression of mannose-binding lectin in the peritoneal fluid of women with and without endometriosis. *Fertil Steril*,85:1526-1528,2006.
16. Kim, J. G., Suh, C. S., Kim, S. H., Choi, Y. M., Moon, S. Y., and Lee, J. Y.-Insulin-like growth factors (IGFs), IGF-binding proteins (IGFBPs), and IGFBP-3 protease activity in the peritoneal fluid of patients with and without endometriosis. *Fertil Steril*,73:996-1000,2000.
17. Kistner, R. W.-Management of endometriosis in the infertile patient. *Fertil. Steril.*,26:1151-1166,1975.
18. Koninckx, P. R.-Is mild endometriosis a condition occurring intermittently in all women? *Hum.Reprod.*,9:2202-2205,1994.
19. Kwak-Kim, J. Y., Chung-Bang, H. S., Ng, S. C., Ntrivalas, E. I., Mangubat, C. P., Beaman, K. D., Beer, A. E., and Gilman-Sachs, A.-Increased T helper 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF. *Hum.Reprod.*,18:767-773,2003.
20. Kyama, C. M., Debrock, S., Mwenda, J. M., and D'Hooghe, T. M.-Potential involvement of the immune system in the development of endometriosis. *Reprod.Biol.Endocrinol.*,1:123-2-12-2003.
21. Lebovic, DI, Mueller, MD, and Taylor, RN-Immunobiology of endometrisis. *Fertil.Steril.*,75:1-10,2001.
22. Lemos, N. A., Arbo, E., Scalco, R., Weiler, E., Rosa, V., and Cunha-Filho, J. S.-Decreased anti-Mullerian hormone and altered ovarian follicular cohort in infertile patients with mild/minimal endometriosis. *Fertil Steril*,9-7-2007.
23. Mahutte, N. G., Matalliotakis, I. M., Goumenou, A. G., Koumantakis, G. E., Vassiliadis, S., and Arici, A.-Elevations in peritoneal fluid macrophage migration inhibitory factor are independent of the depth of invasion or stage of endometriosis. *Fertil Steril*,82:97-101,2004.
24. McLaren, J., Prentice, A., Charnock-Jones, D. S., and Smith, S. K.-Vascular endothelial growth factor (VEGF) concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Hum Reprod*,11:220-223,1996.
25. Muse, K. N. and Wilson, E. A.-How does mild endometriosis cause infertility? *Fertil.Steril.*,38:145-152,1982.
26. Nisolle, M. and Donnez, J.-Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertil.Steril.*,68:585-596,1997.
27. Olive, D. L. and Schwartz, L. B.-Endometriosis. *N.Engl.J.Med.*,328:175 9-1769,17-6-1993c.
28. Paul, Dmowski W. and Braun, D. P.-Immunology of endometriosis. *Best. Pract.Res.Clin.Obstet.Gynaecol.*,18:245-263,2004.
29. Roitt, I Brostoff J Male D and .-Imunologia.São Paulo:Manole,2005.
30. Sampson, J. A-Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into peritoneal cavity. *Am.J.Obstet.Gynecol.*,14:422-435,1927.
31. Somigliana, E., Viganò, P., and Vignali, M.-Endometriosis and unexplained recurrent spontaneous abortion: pathological states resulting from aberrant modulation of natural killer cell function? *Hum Reprod Update*,5:40-51,1999.
32. SPEROFF, L. and Fritz, M.-Infertility.Philadelphia: LWW,2005.
33. Suzumori, N., Zhao, X. X., and Suzumori, K.-Elevated angiogenin levels in the peritoneal fluid of women with endometriosis correlate with the extent of the disorder. *Fertil Steril*,82:93-96,2004.
34. Wertel, I., Gogacz, M., Polak, G., Jakowicki, J., and Kotarski, J.-Leptin is not involved in the pathophysiology of endometriosis-related infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*,119:206-209,2005.
35. Wu, M. Y., Yang, J. H., Chao, K. H., Hwang, J. L., Yang, Y. S., and Ho, H. N.-Increase in the expression of killer cell inhibitory receptors on peritoneal natural killer cells in women with endometriosis. *Fertil.Steril.*,74:1187-1191,2000.

Reprodução Assistida e Malformações Congênitas

Assisted Reproduction and Congenital Malformations

Diniz P.¹, Costa Lima M.A.^{2*}

¹ Centro de Medicina da Reprodução (CEMERJ), Rio de Janeiro, Brasil

² Departamento de Biologia Celular e Genética, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brasil

*** autor para correspondência**

Marcelo A. Costa Lima
Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rua São Francisco Xavier 524, Pavilhão Haroldo Lisboa da Cunha sala 218. Maracanã, Rio de Janeiro, Brasil.
CEP 20550-013
email: marlima@uerj.br

RESUMO

Os avanços na área de Medicina Reprodutiva vêm permitindo que um número cada vez maior de casais com dificuldades ou impedimentos reprodutivos alcance a gravidez desejada. A partir do desenvolvimento da injeção intracitoplasmática de espermatozóide, um salto quantitativo foi alcançado pela reprodução assistida, propiciando oportunidade de gestação mesmo em casais com severos fatores masculinos de infertilidade.

Uma das principais questões que vem acompanhando a disseminação destas metodologias é a possível associação entre a aplicação destas técnicas e um aumento no risco de ocorrência de defeitos congênitos. Enquanto alguns estudos apresentam resultados de associação positiva outros demonstram que o risco é semelhante ao observado em concepções naturais. Comparações entre as diferentes metodologias também revelam resultados controversos. A questão é polêmica e um maior número de estudos prospectivos se faz necessário para que possa chegar a conclusões concretas.

Unitermos: defeitos congênitos, FIV, ICSI, reprodução assistida, malformações congênitas

ABSTRACT

The advances in Reproductive Medicine have allowed a growing number of couples with difficulties or reproductive impediments to achieve the desired pregnancy. From the development of the intracytoplasmic sperm injection, a

quantitative jump was reached and even couples with severe masculine factors of infertility could be treated. One of the main questions that came following the dissemination of these methodologies is the association between these techniques and an increased the risk of congenital malformations. While some studies present positive association data, others demonstrate that the risk is similar to the observed in natural conceptions. Comparisons between the different methodologies also disclose controversial results. The issue is controversial and more prospective studies are necessary to get concrete conclusions.

Keywords: birth defects, IVF, ICSI, assisted reproduction, congenital malformations

INTRODUÇÃO

Os avanços no campo da Medicina Reprodutiva vêm permitindo que casais com sérios problemas de fertilidade alcancem a gravidez almejada. Em particular, quando o caso envolve fatores masculinos severos, o desenvolvimento da técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI) (Palermo *et al.*, 1992) iniciou uma nova era na reprodução assistida.

O desenvolvimento técnico e metodológico vem possibilitando a um número cada vez maior de casais o acesso a estas metodologias. Segundo dados do Registro Latino Americano de Reprodução Assistida, foram realizados 21.034 ciclos em 117 clínicas de 12 países no ano de 2003. Na Europa, foram registrados 289.690 ciclos em 579 clínicas de 23 países no ano de 2001 (Nyboe Andersen *et al.*, 2005). Dados recentes sugerem que 1-3% dos nascimentos nos países desenvolvidos ocorram através da utilização de Técnicas de Reprodução Assistida (TRA) (Shiota & Yamada, 2005).

Estima-se que cerca de 2-3% dos indivíduos apresentem algum tipo de defeito ao nascimento, ou seja, uma malformação

Recebido em 09/11/2007
Avaliado e aceito em 29/11/2007

congenita. Diversos fatores estão associados à ocorrência de defeitos congênitos, incluindo anomalias cromossômicas, mutações gênicas, distúrbios epigenéticos e doenças multifatoriais. Anomalias cromossômicas são identificadas em cerca de 1/160 neonatos (Hsu, 1998), ao passo que a prevalência populacional das doenças multifatoriais é de 1-2/1000. Já as síndromes e doenças monogênicas, em conjunto com as doenças epigenéticas, possuem prevalências estimadas em 1/1.000 a 1/20.000. Quando o defeito provoca algum tipo de perturbação na funcionalidade do organismo ou requer correção cirúrgica, é referido como malformação congênita severa (MCS).

Diversos estudos vêm propondo uma associação entre a utilização de TRA e um aumento no risco de ocorrência de MCS, principalmente as anomalias cromossômicas e os defeitos nos sistemas cardiovascular, urogenital e muscular/esquelético. Uma maior apreensão é observada nos casos que envolvem ICSI, por se tratar de uma metodologia desenvolvida com pouca experimentação em animais e que vem sendo cada vez mais utilizada (Ménézo *et al.*, 2000).

Apresentamos uma revisão sobre as recentes contribuições sobre o tema.

Malformações Congênitas e Técnicas de Reprodução Assistida

Um número crescente de casais vem recorrendo a TRA devido ao rápido progresso alcançado pela Medicina Reprodutiva e, atualmente, mesmo casais com graves problemas de infertilidade podem alcançar sucesso após tratamentos para infertilidade. Com isso, o número de conceptos gerados através de TRA vem aumentando a cada ano, e diversas questões relacionadas a possíveis riscos associados às metodologias começam a emergir.

Uma série de trabalhos publicados nos últimos anos vem sugerindo um aumento na incidência de MCS em associação à utilização de TRA. As evidências ainda não são definitivas e não foi esclarecido se o possível aumento no risco é devido ao procedimento ou a possíveis componentes biológicos dos pacientes (Ludwig & Katalinic 2003; Buckett & Tan, 2005). Fatores potencialmente associados ao aumento de risco são gestação múltipla e prematuridade, que ocorrem mais frequentemente após TRA.

Estudos recentes sugerem que o aumento no risco seja principalmente influenciado por fatores biológicos dos genitores (Katalinic *et al.*, 2004; Kallen *et al.*, 2005). Geralmente, mulheres que recorrem a TRA apresentam idade mais avançada, são primíparas e, podem apresentar distúrbios uterinos (Hansen *et al.*, 2002; Wittemer *et al.*, 2004; Katalinic *et al.*, 2004). Dentre os fatores masculinos de infertilidade, já foi observado que homens com parâmetros espermáticos anormais, várias das vezes, são portadores de alterações genéticas. Pacientes com ausência congênita de vaso deferente podem apresentar mutações no gene (Patrizio *et al.*, 1993) e pacientes com oligozoospermia ou azoospermia não obstrutiva podem ser portadores de microdeleções na região AZF (Girardi *et al.*, 1997).

Na maior parte dos trabalhos não há distinção em relação à forma de obtenção dos gametas e este parâmetro pode, eventualmente, estar associado a um risco aumentado em relação a defeitos congênitos, anomalias cromossômicas ou distúrbios de (Fedder *et al.*, 2007). Malformações congênitas associadas à utilização de espermátides já foram relatadas na literatura (Zech *et al.*, 2000), entretanto, não há evidência concreta que confirme esta associação (Ludwig & Katalinic 2002; Bonduelle *et al.*, 2002; Fedder *et al.*, 2007).

Os dados brutos de associação entre MCS e TRA podem identificar uma correlação que perde a significância estatística ou torna-se limítrofe após ajuste para fatores de risco potenciais. Bergh *et al.* (1999), em um estudo retrospectivo envolvendo 5.856 crianças concebidas através de TRA determinou um risco relativo (RR) de 1,39 (Intervalo de Confiança – IC 95% 1,25-1,54), sem, contudo, realizar ajustes para idade materna e paridade. A análise de 1.303 conceptos gerados através de TRA em comparação a 10.125 controles naturalmente concebidos revelou um risco de 0,93 (IC 95% 0,63-1,24) (Xiaoyan, 2003). Um risco de 1,75 (IC 95% 1,19-2,58) foi observado em uma amostragem de 1.139 crianças concebidas através de ICSI após ajuste em relação à região, ano de nascimento e idade materna, por Wennerholm *et al.* (2000), entretanto, a segregação de gestações únicas e múltiplas decresceu o risco para 1,19 (IC 95% 0,79-1,81).

Katalinic *et al.* (2004), comparando 2.687 crianças concebidas por ICSI e 7.938 concebidas naturalmente, determinaram um risco de 1,44 (IC 95% 1,25-1,65), que decresceu para 1,22 (IC 95% 1,06-1,42) após ajuste para idade materna, histórico prévio de malformações ou de natimorto. Após classificar os diferentes tipos de malformação de acordo com o órgão ou sistema afetado, os resultados revelaram risco significativo em malformações cardíacas (RR 1,52; IC 95% 1,13-2,04), gastrointestinais (RR 2,59; IC 95% 1,46-4,62) e renais/urinárias (RR 2,50; IC 95% 1,83-3,42).

No estudo realizado por Ericsson & Kallen (2001), com 9.175 crianças concebidas através de TRA, o risco de 1,47 (IC 95% 1,34-1,61) desapareceu após ajuste para ano de nascimento, idade materna, paridade e tempo de infertilidade. Entre as malformações observadas, os riscos variaram de 0,4 (IC 95% 0,0-2,4) para hérnia de diafragma a 3,5 (IC 95% 1,50-6,90) para atresia esofágica. Estes resultados foram confirmados em um estudo posterior envolvendo 16.280 conceptos, no qual um risco aumentado de 42% foi eliminado após ajuste para idade materna, tempo de infertilidade, paridade e tabagismo (Kallen *et al.*, 2005). No estudo de Olson *et al.* (2005), a comparação das taxas de defeitos congênitos entre 1.462 conceptos gerados através de FIV e 347 através de inseminação intra-uterina (IUI) em relação a 8.422 crianças naturalmente concebidas, revelou um risco, após ajuste, de 1,30 (IC 95% 1,00-1,67) para FIV e 1,11 (IC 95% 0,67-1,84) para IUI. A classificação dos tipos de defeito indicou associação significativa apenas em relação às malformações musculares/esqueléticas e cardiovasculares.

Bonduelle *et al.* (2005) relataram pouca influência do ajuste para fatores sócio-demográficos no cálculo de risco associado à MCS em conceptos gerados naturalmente (n = 538), através de ICSI (n = 540) ou FIV (n = 437), tendo determinado um risco de 2,77 (IC 95% 1,41-5,46) para ICSI e 1,80 (IC 95% 0,85-3,81) para FIV. A manutenção de significância estatística após ajuste para idade materna, paridade, sexo e gemelaridade foi também relatada por Hansen *et al.* (2002), ao comparar 301 crianças concebidas por ICSI e 837 por FIV com 4.000 conceptos gerados naturalmente. Neste caso, os riscos observados após ajuste foram de 2,0 (IC 95% 1,3-3,2) para ICSI e 2,0 (IC 95% 1,5-2,9) para FIV e a classificação por tipo de malformação indicou riscos significativos para malformações musculares/esqueléticas em ICSI e malformações urogenitais, cardiovasculares e musculares/esqueléticas em FIV.

Por outro lado, os dados de Klemetti *et al.* (2005) revelaram que os riscos de 1,31 (IC 95% 1,10-1,57) associados à FIV (n = 4.559) e de 1,21 (IC 95% 1,02-1,44) associado a outras metodologias de TRA (n = 4.467) perdiam significância estatística quando agrupados em relação a sexo e gemelaridade. Neste trabalho, entretanto, foi observado um decréscimo no risco

(RR 0,45; IC 95% 0,22-0,93) em conceitos do sexo feminino, gerados através de FIV em gestação múltipla.

A meta-análise de 19 trabalhos que incluíram 28.524 crianças concebidas por IVF e 7.234 por ICSI realizada por Rimm *et al.* (2004) revelou um risco de 1,29 (IC 95% 1,01-1,67) de apresentar defeito congênito em relação aos controles. A comparação da ocorrência de MCS associada a ICSI em relação a outras técnicas de reprodução assistida realizada por Lie *et al.* (2005) revelou um risco relativo de 1,12 (IC 95% 0,97-1,28).

Na ampla revisão realizada por Hansen *et al.* (2005), cobrindo o período de 1978-2003, foram identificados 25 estudos que apresentavam resultados sobre a associação entre TRA e MCS. Após uma criteriosa avaliação epidemiológica dos trabalhos, que incluiu a seleção dos estudos adequados a uma meta-análise por um grupo independente de especialistas, o risco aumentado de MCS associado à TRA foi estimado em 1,40 (IC 95% 1,28-1,53).

A utilização de TRA pode, ainda, ter associação com MCS provocadas por defeitos epigenéticos, ou seja, defeitos que não envolvem alterações na sequência do DNA, mas são transmitidos através da divisão celular (revisto em Gosden *et al.*, 2003). Os processos de metilação do DNA e acetilação de histonas estão diretamente envolvidos com os fenômenos epigenéticos, sendo de extrema importância para o desenvolvimento do organismo, através da correta regulação espacial e temporal da expressão gênica. Estudos recentes sugerem esta associação em doenças tais como as síndromes de Beckwith-Wiedemann e Angelman, provocadas por defeitos na regulação de genes que sofrem marcação genômica (Cox *et al.*, 2002; De Baun *et al.*, 2003).

Apesar dos esforços que vem sendo conduzidos para se estudar a possível associação entre uma maior incidência de MCS e a utilização de TRA, uma série de questões permanece não respondida. Os fatores biológicos são efetivamente preponderantes na incidência de malformações? Em que grau a metodologia pode interferir no desencadeamento das anomalias?

A incidência de MCS relatada na literatura varia de 1 a 15% em ICSI e 0 a 12% em FIV, entretanto, a ampla variedade de estratégias utilizadas para coleta de dados, diferenças na definição de malformações congênitas e no registro das informações relacionadas aos procedimentos utilizados impede a avaliação conjunta dos dados (Hansen *et al.*, 2005). Desta forma, para a realização de estudos que permitam relacionar a incidência de MCS em indivíduos concebidos através de TRA, torna-se imprescindível o registro preciso de todos os procedimentos envolvidos com a utilização da técnica, incluindo, além das metodologias propriamente ditas, o tipo de protocolo de estimulação, o meio de cultura, método de cultivo e o período de transferência do embrião (Shiota & Yamada, 2005).

Uma tentativa de exclusão de fatores de risco associados a um componente genético de infertilidade seria a determinação da incidência de malformações congênitas em casais que recorreram a TRA devido a problemas de causa primária não biológica, como, por exemplo, falha na reversão de ligadura de trompas ou de vasectomia (Hansen *et al.*, 2005) e indivíduos concebidos através de TRA por casais não definidos como inférteis. Esta estratégia foi utilizada no trabalho de Zhu *et al.* (2006), que avaliaram a ocorrência de MCS em prenhez únicas de casais que conceberam naturalmente (grupo A; n = 50.897), casais que conceberam naturalmente, mas são considerados inférteis segundo a definição de tempo de tentativa de gestação superior a 12 meses (grupo B; n = 5.794) e casais inférteis que recorreram a TRA (grupo C; n = 4.588). Os riscos calculados após ajuste para idade de materna, gestação prévia, obesidade, tabagismo, ingestão de álcool

e café e profissão foram de 1,20 (IC 95% 1,07-1,35) para o grupo B e 1,39 (IC 95% 1,23-1,57) para o grupo C.

A especificação de protocolos aplicados, meios de cultivo utilizados, tempo de transferência, dentre outros parâmetros, pode auxiliar a esclarecer estas questões. Entretanto, o tamanho amostral necessário para permitir um poder estatístico de análise não seria alcançado por apenas um centro ou grupo de pesquisa. Cohen (2007) sugere um trabalho multicêntrico internacional, preferencialmente conduzido por uma Sociedade, Rede ou Federação de Medicina Reprodutiva, para que o rigor científico requerido possa ser alcançado.

CONCLUSÃO

Diversos estudos vêm sugerindo uma associação entre a utilização de técnicas de reprodução assistida e um aumento no risco de defeitos congênitos severos. Os resultados são controversos e, na maior parte dos trabalhos em que a associação é observada, o aumento de risco encontra-se nos limites de significância estatística ou perde significância após ajuste. A categorização das malformações sugere que defeitos cardiovasculares, urogenitais e musculares/esqueléticos, em conjunto com as anomalias cromossômicas, apresentariam maior risco entre as diversas malformações. Entretanto, estes dados devem ser examinados com cautela por serem baseados em amostras de tamanho reduzido.

Diversos fatores podem contribuir para um possível efeito adverso na utilização de TRA, entretanto, a exclusão precisa de todos os potenciais fatores intrínsecos que podem contribuir para um risco aumentado de malformações congênitas é bastante difícil. Razões metodológicas impedem, ainda, o agrupamento das observações de diferentes centros.

Como o grau de envolvimento do componente genético em parte dos casos de infertilidade é desconhecido, é importante haver um questionamento sobre a possibilidade de transmissão hereditária deste componente, que pode estar efetivamente associado à ocorrência de uma anomalia. Esta questão torna-se relevante já que uma série de doenças genéticas apresenta um amplo espectro de expressão fenotípica, que é dependente de um background genético específico. Desta forma, uma avaliação mais criteriosa dos fatores associados a um aumento no risco de ocorrência de malformações congênitas severas deve ser delineada, permitindo a determinação destes parâmetros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Bergh T., Ericson A., Hillensjö T., Nygren K.G., Wennerholm U.B. Deliveries and children born after in-vitro fertilization in Sweden 1982-95: a retrospective cohort study. *Lancet* 354:1579-85, 1999.
- Bonduelle M., Liebaers I., Deketelaere V., Derde M., Camus M., Devroey P., Van Steirteghem A. Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and of 2995 infants born after IVF (1983-1999). *Hum. Rep.* 17:671-94, 2002.
- Bonduelle M., Wennerholm U.B., Loft A., Tarlatzis B.C., Peters C., Henriët S., Mau C., Victorin-Cederquist A., Van Steirteghem A., Balaska A., Emberson J.R., Sutcliffe A.G. A multi-centre cohort study of the physical health of 5-year-old children conceived after intracytoplasmic sperm injection, in vitro fertilization and natural conception. *Hum. Rep.* 20:413-9, 2005.
- Buckett W.M., Tan S.T. Congenital abnormalities in children born after assisted reproductive techniques: how much is associated with the presence of infertility and how much with treatment? *Fertil. Steril.* 84:1318-9, 2005.
- Cohen J. Infertile couples, assisted reproduction and increased risks to the children. *RBM OnLine* 15:245-6, 2007.
- Cox G.F., Burger J., Lip V., Mau U.A., Sperling K., Wu B.L., Horsthemke B. Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. *Am. J. Hum. Genet.* 71:162-4, 2002.
- DeBaun M.R., Niemitz E.L., Feinberg A.P. Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of and . *Am. J. Hum. Genet.* 72:156-60, 2003.

Artigo de Revisão

- Fedder J., Gabrielsen A., Humaidan P., Erb K., Ernst E., Loft A. Malformation rate and sex ratio in 412 children conceived with epididymal or testicular sperm. *Hum. Rep.* 22:1080-5, 2007.
- Girardi S.K., Mielnik A., Schlegel P.N. Submicroscopic deletions in the Y chromosome of infertile men. *Hum. Rep.* 12:1635-41, 1997.
- Gosden R., Trasler J., Lucifero D., Faddy M. Rare congenital disorders, imprinted genes, and assisted reproductive technology. *Lancet* 361:1975-7, 2003.
- Hansen M., Kurinczuk J.J., Bower C., Webb S. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N. Engl. J. Med.* 346:725-30, 2002.
- Hansen M., Bower C., Milne E., de Klerk N., Kurinczuk J.J. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects – a systematic review. *Hum. Rep.* 20:328-38, 2005.
- Hsu L.Y.F. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. In Milunsky A. (Ed.) *Genetic Disorders and the Fetus*, 4th Ed. John Hopkins university Press, Baltimore, 179-248, 1998.
- Kallen B., Finnstrom O., Nygren G., Olausson P.O. In vitro fertilization (IVF) in Sweden: Risk for congenital malformations after different IVF methods. *Birth Def. Res. Part-A* 73:162-9, 2005.
- Katalinic A., Rosch C., Ludwig M. Pregnancy course and outcome after intracytoplasmic sperm injection: a controlled, prospective cohort study. *Fertil. Steril.* 81:1604-16, 2004.
- Klemetti R., Gissler M., Sevón T., Koivurova S., Ritvanen A., Hemminki E. Children born after assisted fertilization have an increased rate of congenital anomalies. *Fertil. Steril.* 84:1300-7, 2005.
- Lie R.T., Lyngstadaas A., Orstavik K.H., Bakketeig L.V., Jacobsen G. Birth defects in children conceived by ICSI compared with children conceived by other IVF-methods; a meta-analysis. *Int. J. Epidemiol.* 34:696-701, 2005.
- Ludwig M., Katalinic A. Pregnancy course and health of children born after ICSI depending on parameters of male factor infertility. *Hum. Rep.* 18:351-7, 2003.
- Ménézo Y.J.R., Veiga A., Pouly J.L. Assisted reproductive technology (ART) in humans: facts and uncertainties. *Theriogenology* 53:599-610, 2000.
- Nyboe Andersen A., Gianaroli L., Felberbaum R., de Maison J., Nygren N.G. Assisted reproductive technology in Europe, 2001. Results generated from European registers by ESHRE. *Hum. Rep.* 20:1158-76, 2005.
- Olson C.K., Kepppler-Noreuil K.M., Romitti P.A., Budelier W.T., Ryan G., Sparks A.E., Van Voorhis B.J. In vitro fertilization is associated with an increase in major birth defects. *Fertil. Steril.* 84:1308-15, 2005.
- Palermo G., Joris H., Devroey P., Van Steirteghem A.C. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 340:17-8, 1992.
- Patrizio P., Ord T., Silber S.J., Asch R.H. Cystic fibrosis gene mutations impair the fertilization rate of epididymal sperm from men with congenital absence of vas deferens. *Hum. Rep.* 8:1259-63, 1993.
- Pinborg A., Loft A., Rasmussen S., Schmidt L., Langhoff-Hoos J., Greisen G., Nyboe Andersen A. Neonatal outcome in a Danish national cohort of 3438 IVF/ICSI and 10362 non-IVF/ICSI twins born between 1995-2000. *Hum. Rep.* 19:435-41, 2004.
- Rimm A.A., Katayama A.C., Diaz M., Katayama K.P. A meta-analysis of controlled studies comparing major malformation rates in IVF and ICSI infants with naturally conceived children. *J. Assis. Rep. Genet.* 21:437-44, 2004.
- Shiota K., Yamada S. Assisted reproductive technologies and birth defects. *Congenital Anomalies* 45:39-43, 2005.
- Wennerholm U.B., Bergh C., Hamberger L., Lundin K., Nilsson L., Wikland M., Kallen B. Incidence of congenital malformations in children born after ICSI. *Hum. Rep.* 15:944-8, 2000.
- Wittermer C., Machev N., Viville S. Les enfants de l'ICSI sous la loupe. *Medicine/Sciences* 20:352-6, 2004.
- Xiaoyan S. Congenital malformations and sex ratio in 1,303 infants born after IVF and ICSI (1995-2001). *Fertil. Steril.* 80(3):S74-5, 2003.
- Zech H., Vanderzwalmen P., Prapas Y., Lejeune B., Duba E., Schoysman R. Congenital malformations after intracytoplasmic injection of spermatids. *Hum. Rep.* 15:969-71, 2000.
- Zhu J.L., Basso O., Obel C., Bille C., Olsen J. Infertility, infertility treatment, and congenital malformations: Danish national birth cohort. *BMJ*, doi:10.1136/bmj.38919.495718.AE.

Sugestão para a Revista?

E-mail: jornalsbra@cmb.com.br

O Valor do Estudo da Face Humana na Reprodução Assistida

The Value of the Study of the Face Human In the Assisted Reproduction

Paulo Franco Taitson¹
Thiago Pacheco Heringer²
Hélio Henrique de Araújo Brito²

¹Pós-Doutorado em Reprodução Humana pela UFRJ. Professor Adjunto Doutor do ICBS/PUC Minas.

²Curso de Mestrado em Ortodontia da FO/PUC Minas.

Endereço para correspondência

Prof. Dr. Paulo Taitson
 Grupo de Pesquisa Anatomia Funcional do Aparelho Urogenital (CNPq/PUC Minas)
 Rua Rodrigues Caldas, 600/18
 30190-120 Belo Horizonte MG
 Tel: (31) 3337-1960
 pftaitson@bol.com.br

RESUMO

A face e o crânio foram alvos de vários trabalhos para tentar estabelecer padrões, e diferenciar tipos de face e crânio. A face humana, como a parte anatômica mais especializada do corpo, apresenta grandes variações tanto funcionais, quanto estruturais. As diferenças estruturais são as que fazem as pessoas serem diferentes e únicas em se tratando da aparência da face. Muitas vezes a equipe multidisciplinar que trabalha nos centros de reprodução humana encontra dificuldades na seleção de um doador que apresente compatibilidade com o casal receptor. O conhecimento, ainda que genérico, das diferenças faciais permite uma melhor caracterização e estudo do biótipo craniofacial nos protocolos de seleção de doadores para casais em centros de reprodução assistida.

Palavras-chave: face, desenvolvimento maxilofacial, banco de sêmen.

ABSTRACT

The face and the cranium have been the focus of many studies in the literature. A great number of them were done to establish different facial patterns. The human face is the most specialized part of the human body with many functional and structural variations. The structural variations grant individuality to the persons making them unique and different from each other.

The multidisciplinary teams working in human reproduction centers have often found difficulties to proper select

compatible donors. Knowing the different facial types may help to improve the protocols for donor selection.

Key words: face, maxillofacial development, sperm banking.

INTRODUÇÃO

O interesse pela face na espécie humana pôde ser estabelecido com o registro através das artes, especialmente com a escultura na idade antiga. Esculturas que buscavam harmonia e proporções faciais remontam desde o tempo dos egípcios antigos, onde as esculturas que retratavam os faraós evidenciavam o conceito de beleza daquela civilização, que era o de uma face mais arredondada, com uma ponte nasal estreita e olhos evidenciados. Os egípcios foram à primeira cultura a capturar a aparência facial em pedra, mas os gregos e romanos foram os primeiros em transpor beleza da face da escultura para a filosofia. Filósofos gregos buscaram proporções e medidas para explicar a beleza da face, desse ponto em diante começou o estudo da face como ciência (Peck & Peck, 1970).

Existem três tipos faciais. São: leptoprosopo, mesoprosopo e euriprosopo. Esses padrões da face são determinados geneticamente e por aspectos funcionais. Com relação ao aspecto funcional, é relatado que o desenvolvimento ósseo se processa através da atividade muscular que pode acelerar ou impedir o crescimento do osso. A construção de uma estrutura óssea depende da musculatura, língua, lábios, bochechas, tecido mole, mucosas, tecidos conjuntivos, nervos, vasos sanguíneos, espaço aéreo, faringe, cérebro como massa orgânica, tonsilas, adenóides, etc. Estes fatores definem o ritmo dos tecidos histogênicos que produzem o desenvolvimento ósseo. A variação no crescimento facial é

Recebido em 01/09/2007
 Avaliado e aceito em 23/11/2007

justificada através do conceito de interação dos componentes funcionais externos e internos. Os componentes funcionais externos se referem à musculatura mastigatória e da mímica e outros tecidos moles na parte anterior da cabeça e pescoço, incluindo seu comportamento em repouso. Os componentes funcionais internos se referem às cavidades bucais, nasais e faríngeas e às atividades dentro das cavidades. Como ainda não se pode interferir na carga genética de um indivíduo, tenta-se atuar em nível da atividade funcional, alterando a posição muscular e redirecionando o crescimento ósseo (Van der Linden, 1990; Enlow, 2002).

O complexo dentofacial pode ser considerado como um sistema com três subsistemas: esqueleto, dentadura e função. Em um indivíduo normal em crescimento, os três subsistemas irão amadurecer de diferentes maneiras em velocidades diferentes, mas estão em equilíbrio e cada um ficará situado dentro da extensão normal de variação. Na maioria dos distúrbios funcionais os fatores internos provavelmente são mais importantes do que os externos, mas o prognóstico de alteração é menos favorável para os aspectos funcionais internos (Van der Linden, 1999).

A face, e o crânio foram alvos de vários trabalhos para tentar estabelecer padrões, e diferenciar tipos de face e crânio. A face humana, como a parte anatômica mais especializada do corpo, apresenta grandes variações tanto funcionais, quanto estruturais. As diferenças estruturais são as que fazem as pessoas serem diferentes e únicas em se tratando da aparência da face. Muitas vezes a equipe multidisciplinar que trabalha nos centros de reprodução humana encontra dificuldades na seleção de um doador que apresente compatibilidade com o casal receptor. O conhecimento, ainda que genérico, das diferenças faciais permite uma melhor caracterização e estudo do biótipo craniofacial nos protocolos de seleção de doadores para casais em centros de reprodução assistida (Taitson, 2005).

Características do tipo facial leptoprosopo

Na vista frontal a área zigomática parece mais aplainada que o normal e o terço inferior da face é longo e desproporcional ao terço médio. Este excesso do terço inferior impede o selamento labial passivo, causando contração do músculo mentoniano durante o selamento labial; expõe excesso de incisivos superiores e gengiva tanto em repouso, e durante o sorriso. O nariz do indivíduo leptoprosopo é verticalmente mais comprido e muito mais protruído. A inclinação do nariz tende a seguir a mesma inclinação da testa ao contrário do braquicefálico que o nariz irrompe de uma frente mais bulbosa. Por ser protrusivo, o nariz tende a curvar-se produzindo um tipo aquilino. A curvatura aumenta com a idade. A região nasal possui a tábua óssea externa da frente mais inclinada e a glabella e as margens supra-orbitais tendem a ser mais proeminentes proporcionando uma bochecha pouco aparente e olhos mais profundos (Enlow, 2002; Gimenez *et al.*, 2006).

O perfil é caracterizado por um lábio superior curto, o inferior evertido, distância interlabial aumentada, mandíbula retrusa, com uma linha mento cervical curta e o ângulo entre a pescoço e o mento fechado. Esses sinais podem não estar todos presentes e nem sempre evidentes. A face mais alongada do leptoprosopo e a forma aberta (obtusa) da flexão da base do crânio possibilitam uma rotação da mandíbula para baixo e para trás, tendendo a um perfil convexo. O tamanho dos músculos dos maxilares nos indivíduos leptoprosopos é mais de 30% menor que os dos indivíduos mesoprosopos e que a força máxima da mordida é metade em relação à normalidade.

Nos indivíduos leptoprosopos, a principal característica detectável por radiografia é o aumento da altura facial anterior inferior, o que resulta no aumento da altura facial total anterior e uma desproporção desta com a altura facial posterior. A mandíbula apresenta alteração de forma com abertura significativa do ângulo goníaco. Em relação à posição dentária, se observam a extrusão dos incisivos superiores e inferiores, caracterizando a compensação e também uma extrusão dos dentes posteriores superiores. Cefalometricamente observa-se que a forma do contorno facial é alterada, os arcos dentários geralmente são estreitos, a maxila pode ou não se apresentar bem posicionada em relação à base do crânio, enquanto a mandíbula geralmente sofre rotação pósterio-inferior. Apresentam-se aumentadas as seguintes medidas: a altura facial total, a altura facial inferior, os ângulos goníaco, do plano mandibular e interincisivos e apresentam-se diminuídos o ângulo do perfil e da proporção de altura facial proposta por Jarabak (Capelozza Filho, 2004; Gimenez *et al.*, 2006).

O leptoprosopo por possuir o cérebro longo na horizontal e relativamente estreito possibilita que a base do crânio seja achatada, ou seja, flexura entre as partes média e anterior do assoalho craniano é mais aberta. Em consequência disso, o complexo nasomaxilar assume uma posição protrusiva com relação à mandíbula que gira para baixo e para trás devido ao rebaixamento do complexo nasomaxilar. A fossa anterior do crânio estreita e mais comprida estabelece um palato e um arco maxilar mais longos, estreitos e profundos. Com a miscigenação étnica, os tipos faciais tendem a se mesclar não produzindo padrões faciais puros, mesmo assim nas extremidades norte e sul da Europa continental, assim como em grande parte da Inglaterra, Escócia, Escandinávia, norte da África e alguns países do Oriente Médio e Irã, Afeganistão, Índia, Iraque e Arábia, o tipo leptoprosopo tende a predominar.

Com relação ao sexo, o homem apresenta, predominantemente, características faciais de um leptoprosopo enquanto que as mulheres predominam as características de um euriprosopo. Ao realizar uma avaliação do biótipo craniofacial no doador e no casal receptor nos centros de reprodução assistida, tais caracteres devem ser considerados. O homem apresenta a base do crânio longa e estreita e as vias aéreas amplas e protrusivas. O homem leptoprosopo, como na mulher face longa, as características de forma da cabeça acentuam o nariz, fronte, ossos malar, globos oculares profundos, mandíbula retrusiva, etc. Com relação à faixa etária, a criança tende a ter uma face mais larga e com o crescimento, a face assume posição mais vertical (aumento das vias aéreas e dentição), de modo que a face mais estreita caracteriza o adulto (ENLOW, 2002).

Características do tipo facial mesoprosopo

Um tipo intermediário de forma da cabeça é o chamado mesoprosopo. Seus parâmetros se situam entre o tipo leptoprosopo e o euriprosopo. Na forma da cabeça de um mesoprosopo, o cérebro tem o comprimento e a largura intermediários, ou seja, nem longo nem curto, nem estreito nem largo. Assim, a flexura existente entre a base craniana anterior e média é correspondentemente intermediária, determinando um adequado posicionamento da mandíbula. Indivíduos assim apresentam uma face equilibrada e, geralmente, na análise facial possuem simetria aparente, distância intercomissural medial dos olhos similar à largura do nariz, distância interpupilar similar à largura da comissura bucal e proporção entre os terços faciais. No terço inferior, há uma proporção de 1 para 2 entre a porção superior e inferior e no perfil um grau moderado de convexidade ou perfil retro.

Características do tipo facial euriprosopo

Existe um complexo de características faciais que caracterizam um euriprosopo, tais como: seios frontais menores, testa mais vertical e bulbosa, arcos supra-orbitários e glabella não tão proeminentes. O nariz é pouco protrusivo e a ponte nasal é mais baixa. A maxila e a mandíbula parecem ser mais proeminentes porque a região nasal superior é menos protrusiva. Os málares têm aparência mais proeminente, o queixo parece proeminente e mandíbula parece mais cheia. Há uma maior probabilidade de ocorrência de perfil ortognato. A cabeça tem forma arredondada, horizontalmente mais curta e mais larga (caracterizam indivíduos orientais e algumas populações caucasianas (Enlow, 1993).

Os indivíduos ou grupos étnicos deste tipo facial têm um cérebro mais arredondado, mais curto (horizontalmente) e mais largo. A base do crânio é mais vertical e tem a flexura mais fechada, o que diminui a dimensão horizontal efetiva da fossa craniana média. O resultado facial é um posicionamento posterior da maxila. O comprimento horizontal do complexo nasomaxilar é também relativamente curto. Pelo fato da base do crânio ser mais larga, porém menos alongada no sentido antero-posterior, as fossas cranianas média e anterior são correspondentemente escurçadas. A fossa craniana anterior proporciona a base que estabelece o comprimento horizontal e a largura bilateral do complexo nasomaxilar e um posicionamento relativamente mais anterior de toda a mandíbula. A fossa craniana média é mais em pé e a trajetória do cordão espinhal mais vertical, os indivíduos que possuem essas várias características têm também tendência a uma postura mais ereta, com a cabeça em posição de atenção fixa.

Na análise facial frontal pode-se observar a ausência de exposição dos dentes anteriores em repouso e pouca exposição no sorriso. A face larga e quadrada, pela fartura da musculatura no ângulo goníaco mandibular, e uma avaliação dos terços faciais justificam o uso do termo curta, pela discrepância para menor do terço inferior. A proporção esperada para o terço inferior deve ser menor que 60% da altura facial total. O nariz tende a ser normal ou largo e a expressão zigomática plena. A relação dos incisivos superiores com o lábio superior pode ser normal, principalmente em crianças e jovens. Quando a relação entre os lábios e incisivos é deficiente, o paciente em repouso fica com os seus dentes escondidos atrás do lábio superior, e quando ele sorri, a exposição dos dentes é discreta, sem exibir gengiva. Quando em oclusão, os lábios são comprimidos e os sulcos peribucais, nasogeniano e mento labial, apresentam uma profundidade desproporcional à idade do paciente. Em indivíduos com idade mais avançada e principalmente com desgaste dentário, a linha de contato labial curva para baixo e os cantos da boca ficam abaixo da relação labial (ENLOW, 1993).

Deve ser notado que o ponto mais importante é a deficiência do terço inferior em relação ao terço médio e a conseqüente compressão labial quando a boca está fechada, com os dentes em oclusão. O perfil apresenta também aspectos marcantes, ele tende a ser reto ou moderadamente convexo. O terço médio tem aparência normal, com depressão infra-orbitária denotando bom desenvolvimento do zigomático e um nariz normal. A altura facial anterior inferior está diminuída. O ângulo nasolabial é normal ou agudo, e o sulco mentolabial marcado e profundo, principalmente quando o paciente está em oclusão. O vermelhão do lábio inferior pode estar aumentado e desproporcional ao do lábio superior. A linha mento-cervical é adequada ou longa. A face na vista lateral também demonstra ser quadrada, devido ao ângulo goníaco fechado, musculatura farta e mento proeminente. Esses sinais podem

não estar todos presentes e sempre tão evidentes.

Os lábios guardam uma relação compressiva que, dependendo da gravidade, pode dar a eles uma protrusão. O lábio inferior pode estar evertido por conta dessa compressão, e o sulco mentolabial é profundo por conta dessa posição do lábio inferior, somando ao mento forte. O perfil é pouco convexo e a altura anterior da face está diminuída, com um terço médio normal e um inferior diminuído. A estrutura arquitetural dos indivíduos do padrão face curta é forte e o esqueleto aparece marcado na imagem radiográfica. Isso é especialmente detectável na mandíbula, que apresenta um ramo largo, um ângulo goníaco fechado, um corpo de tamanho geralmente normal posicionado horizontalmente, com uma sínfise larga e curta. Essa característica de sínfise larga e curta é fortemente correlacionada com o padrão face curta, a ponto de ser considerada fator de predição. Do ponto de vista vertical, apresenta um plano palatino paralelo em relação ao plano da base do crânio, provavelmente normal, e que guarda um ângulo pouco divergente do plano mandibular. Essa é uma forte característica do padrão de face curta. A sua largura anterior, assim como a sínfise mandibular, tende a ser maior, com altura menor (Gil, 2001; Kim, 2007).

Nanda (1990) relatou que em pessoas com altura facial anterior inferior reduzida, os planos faciais como base do crânio, planos palatino, oclusal e mandibular tendem a ser mais paralelos. Segundo ele, numerosas investigações indicaram que um ângulo goníaco relativamente pequeno é associado com mordida profunda e as características morfológicas da face são dependentes dos quatro planos horizontais. Como característica de indivíduos do tipo facial estudado, Lavelle, em 1979, ressalta ainda que como conseqüência da forma do crânio larga e arredondada, a base do crânio é mais levantada, com uma flexura relativamente fechada, diminuindo, portanto, as dimensões horizontais da fossa média craniana. Para se estabelecer um padrão de divisão de acordo com o formato da cabeça, foi criado o índice cefálico, que nada mais é do que a razão entre a largura total e a altura total da cabeça. Nos dolicocefalos esse índice é menor que 75.9, nos mesocéfalos ele varia de 76 a 80.9 e nos braquicéfalos esse índice é maior que 81. (Enlow, 1990) (Fig.1).



Figura 1. Tipos cranianos existentes.

A face pode também ser analisada a partir de uma vista lateral, onde é evidenciado o aspecto ântero-posterior, que nos da a leitura do tipo de perfil que a pessoa apresenta. Pessoas que na análise facial apresentam um perfil reto demonstram uma boa relação de crescimento antero-posterior entre a maxila e a mandíbula, conseqüentemente há uma harmonia nesse tipo de perfil. (Landgraf, 2002).

As pessoas que apresentam um perfil convexo, geralmente têm a maxila numa posição mais anterior em relação à mandíbula. Uma leve convexidade do perfil é uma condição

característica dos caucasianos. Há uma condição chamada de bi-protrusão, onde a maxila guarda uma boa relação com a mandíbula, porém as duas se encontram muito à frente da base craniana. Indivíduos que tem um perfil côncavo apresentam uma situação contrária dos que possuem o perfil convexo, ou seja, a maxila dos que tem perfil côncavo se situa no plano horizontal, mais posteriormente do que a mandíbula. Esse tipo de condição revela pouco crescimento maxilar, ou excessivo crescimento mandibular, ou ainda uma combinação de ambos (Figura 2).



Figura 2. Tipos de perfis faciais.

Na análise lateral da face, a avaliação da projeção zigomática tem um papel fundamental na harmonia facial. A projeção zigomática, ou “maçã do rosto”, torna o sulco naso-geniano pouco ou muito marcado, contribuindo assim para o aspecto mais jovial ou não do indivíduo. Pouca projeção zigomática denota uma deficiência do crescimento maxilar no sentido ântero-posterior. Essa situação é condizente com as pessoas que apresentam um perfil côncavo, o que leva a um pronunciamento do sulco naso-geniano, contribuindo assim para o envelhecimento do indivíduo. O contrário também é verdadeiro, ou seja, onde a projeção zigomática é muito evidente, denotam-se perfis mais convexas e por consequência sulcos naso-genianos menos marcados (Mayoral & Mayoral, 1997).

A mandíbula também pode ser avaliada numa visão lateral da face, para tal deve-se analisar o lábio inferior, o sulco mento-labial e a linha mento pescoço. A deficiência sagital da mandíbula causa uma eversão do lábio inferior, que pode também estar associada a uma altura facial reduzida. Essa situação do lábio inferior tem relação direta com o sulco mento labial, ou seja, quanto maior essa característica do lábio, mais pronunciado o sulco mento-labial. A linha mento pescoço está ligada ao tipo facial, assim indivíduos dolicocefalos apresentam uma linha mento pescoço curta, enquanto indivíduos braquicefalos têm essa linha mais longa, e os indivíduos mesocéfalos se situam intermediariamente. (Zaher *et al.*, 1994; Proffit, 2007).

Para que o indivíduo seja considerado dentro de um padrão de normalidade, certos requisitos devem ser preenchidos quanto à proporcionalidade de sua face. A face pode ser dividida em três terços: O terço superior se estende desde o ponto trichio, que é o ponto onde começa o couro cabeludo, até a glabella que é o ponto médio entre as sobrancelhas, o terço médio se estende da glabella até a base do nariz, e o terço inferior vai da base do nariz ao ponto mentoniano, que se situa na borda inferior do queixo (fig. 3).

Uma relação harmoniosa entre os terços faciais está na proporção de 1:1, ou aceitando-se um leve ganho do terço inferior da face sobre os outros numa proporção de 5:6. O terço inferior vai do ponto subnasal até o mento, englobando o lábio superior, lábio inferior e mento, sendo que essas es-

truturas também devem guardar uma certa proporção entre si para que se tenha um aspecto de normalidade nessa parte da face. (Landgraf, 2002; Proffit, 2007).

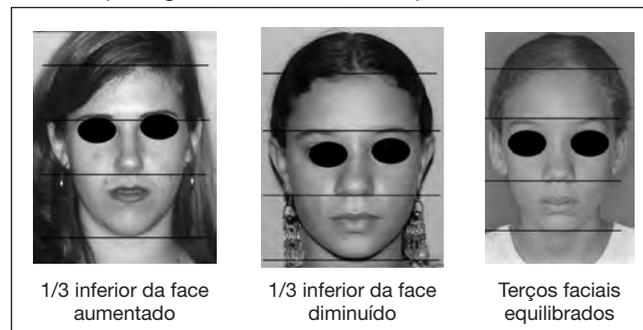


Figura 3. Variações dos terços faciais humanos.

As larguras oculares (distância entre o canto ocular externo ao canto ocular interno) devem ser iguais entre si e iguais a largura nasal. Já a distância entre os cantos internos do olho, também devem ser iguais a largura nasal. A largura interpupilar deve ser igual a distância entre as comissuras labiais. O lábio superior, que corresponde à distância entre a base do nariz até o ponto mais inferior do lábio superior, e deve ocupar 1/3 do comprimento total do terço inferior da face, deixando os 2/3 restantes para que o lábio inferior e o mento ocupem. Na vista frontal da face também pode-se fazer uma análise das estruturas transversais faciais, pois essas também devem guardar certas proporções para que o indivíduo permaneça numa faixa de normalidade (Figura 4). A proporção divina de Fibonacci (relação entre os elementos do corpo humano, 1/1.618) é largamente utilizada para a avaliação das proporções faciais no sentido transversal. Nessa vista podem ser avaliadas as proporções da largura facial com as respectivas estruturas que compõem um conjunto harmonioso, tal como a relação entre a distância intercantal e a largura do nariz. (Ricketts, 1982).

Forma da Cabeça Humana:		
<input type="checkbox"/> dolicocefalo	<input type="checkbox"/> braquicefalo	<input type="checkbox"/> normocéfalo
Perfil facial:		
<input type="checkbox"/> côncavo	<input type="checkbox"/> convexo	<input type="checkbox"/> reto
Nariz:		
<input type="checkbox"/> largo	<input type="checkbox"/> estreito	
Aberturas nasais:		
<input type="checkbox"/> simétricas	<input type="checkbox"/> assimétricas	
Raiz do Nariz:		
<input type="checkbox"/> larga	<input type="checkbox"/> estreita	
Asa do nariz:		
<input type="checkbox"/> proeminente	<input type="checkbox"/> imperceptível	
Olhos:		
<input type="checkbox"/> grandes	<input type="checkbox"/> tendência ao hipotelorismo	
Perfil da íris		
<input type="checkbox"/> íris sob a pálpebra superior	<input type="checkbox"/> maior parte da íris exposta	
Canto lateral do olho:		
<input type="checkbox"/> mais baixo que o canto medial	<input type="checkbox"/> mais alto que o canto medial	

Lobo da orelha:		
<input type="checkbox"/> fusionado com a face	<input type="checkbox"/> dependurado	
Tragus da orelha:		
<input type="checkbox"/> longo e	<input type="checkbox"/> curto e delicado	
Músculos faciais:		
<input type="checkbox"/> sem expressão	<input type="checkbox"/> com expressão	
Oclusão labial:		
<input type="checkbox"/> presente	<input type="checkbox"/> ausente	
Linha dos lábios:		
<input type="checkbox"/> definida	<input type="checkbox"/> não definida	
Extensão do lábio superior:		
<input type="checkbox"/> longo	<input type="checkbox"/> curto	
Perfil do lábio superior:		
<input type="checkbox"/> côncavo	<input type="checkbox"/> achatado	
Lábio inferior:		
<input type="checkbox"/> protusivo protuídos	<input type="checkbox"/> retrusivo	<input type="checkbox"/> ambos os lábios
Perfil mandibular:		
<input type="checkbox"/> protusivo	<input type="checkbox"/> retrusivo	

Figura 4. Proposta de Protocolo para Estudo de Compatibilidade do Casal – Biótipo Craniofacial (Taitson , 2005).

CONCLUSÃO

A análise facial é muito importante nas diversas áreas que lidam com estética, como a ortodontia e a cirurgia plástica. O estudo da face remonta desde a antiguidade, onde se buscava um modelo ideal de face. Muitos fenômenos que são vistos no crescimento do corpo como um todo, são expressos, embora que de certa forma diferente, no crescimento da face. O surto de crescimento, mais notável no período da adolescência, ocorre no ramo da mandíbula. Observa-se que o comportamento do crescimento da face está, de algum modo, entre o crescimento do neurocrânio e o crescimento físico em geral. Isto se aplica não apenas à proporção de crescimento alcançado nas idades precoces, mas também ao período da adolescência (Van der Linden, 1990; Suguino *et al*; 1996).

Algumas postulações são interessantes, quando se observa que todos os indivíduos são diferentes. Não existem duas pessoas iguais. O mesmo indivíduo é diferente de si mesmo a cada momento: momentos condicionais. A hemiface direita apresenta diferenças da hemiface esquerda. Essas diferenças individuais não são caóticas. Elas obedecem a determinadas

leis. De fato, os elementos ponderáveis e mensuráveis, quando estudados num grupo de indivíduos, se distribuem, em termos de frequências, segundo uma curva de distribuição normal de Gauss. Dentro das diferenças existem semelhanças, que permitem agrupar os indivíduos em tipos. A variação é uma lei básica da ciência. O conjunto de variações estruturais, funcionais e genéticas e patológicas sempre está presente em uma população de qualquer espécie devido à capacidade de adaptação ao ambiente mutável. Isso aumenta a possibilidade de sobrevivência para os indivíduos que têm características mais adequadas às necessidades do tempo. A face humana certamente tem sua parcela de variações. Na verdade, provavelmente existem tipos mais básicos e divergentes de padrões faciais do ser humano. Isso ocorre porque houve adaptações faciais e cranianas incomuns relacionadas a expansão do cérebro humano. Conclui-se assim, que a utilização de um estudo de compatibilidade do casal baseado no seu biótipo craniofacial pode ser útil na seleção e caracterização de doadores e casais em um banco de sêmen.

REFERÊNCIAS

- Bishara S. E., Peterson, L.C., Bishara, E.C. Changes in facial dimensions and relationships between the ages of 5 and 25 years. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 85: 238-252, 1984.
- Capelloza Filho, L. Diagnóstico em Ortodontia. Dental Press, 1994.
- Enlow D. H. Crescimento Facial. 3 ed. São Paulo: Artes Médicas, 1998.
- Enlow D. H., Hans, M.G. Noções Básicas sobre Crescimento Facial. São Paulo: Santos, 2002.
- Gil C. T. L. A. Proporção áurea craniofacial. São Paulo: Santos, 2001.
- Gimenez C. M. M. et al. Avaliação cefalométrica do perfil mole de pacientes face longa submetidos à cirurgia ortognática: estudo retrospectivo. *Rev. Dental Press Ortodon Ortop Facial.* 11: 91-103, 2006.
- Kim Y. H. Easy facial analysis using the facial golden mask. *J Craniofac Surg.*, 18: 643-649, 2007.
- Lavelle C. L. B. A study of craniofacial form. *Angle Orthod.*, 49: 65-72, 1979.
- Mayoral J., Mayoral G. Ortodontia, Principios fundamentales y práctica. Madrid: Editora Habor, 1997.
- Nanda S. K. Growth patterns in subjects with long and short faces. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 98: 247-258, 1990.
- Peck H., Peck S. A concept of facial esthetics. *Angle Orthod.*, 40: 284-317, 1970.
- Proffit W. R. Ortodontia contemporânea. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.
- Ricketts R. M. The biological significance of the divine proportions and Fibonacci numbers. *Am. J. Orthod.*, 81: 285-289, 1982.
- Spyropoulos M. N., Halazonetis, D J. Significance of the soft tissue profile on facial esthetics. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 119: 464-471, 2001.
- Suguino R. et al. Análise facial. *Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Maxilar.* 1: 86-107, 1996.
- Taitson P.F. Proposta de Protocolo de Estudo do Biótipo Craniofacial para Banco de Sêmen. *J. Brasileiro Rep. Assist.*, 9: 11-15, 2005.
- Van Der Linden F. Crescimento e Ortopedia. São Paulo: Quintessence, 1990.
- Van Der Linden P. M. G. O. Desenvolvimento das Faces Longas e Curtas e as Limitações do Tratamento. *Rev. Dental Press Ortodon Ortop Facial.* 4: 6-11, 1999.
- Zaher A. R., Bishara S. E., Ortho D., Jakobsen J. R. Posttreatment changes in different facial types. *Angle Orthod.*, 64: 425-436, 1994.

SBRA

**SOCIEDADE BRASILEIRA DE
REPRODUÇÃO ASSISTIDA**

A

Filie-se a Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida

Benefícios aos Associados:
Recebimento do Jornal SBRA
Desconto na Inscrição para
as reuniões anuais da SBRA

**Cadastre-se no site www.sbra.com.br
e envie a ficha de inscrição abaixo
acompanhada de cheque nominal no valor
de R\$ 70,00 (anuidade) para SBRA
Av. Brigadeiro Luiz Antonio, 4251
São Paulo-SP - CEP. 01401-002**

Nome: _____ CRM: _____
Especialidade: _____ Data de Nasc.: ____ / ____ / ____ Outra Formação: _____
Cons. Regional _____
Endereço Comercial: _____ Bairro _____
Cidade: _____ Estado _____ CEP _____
Telefone:(Cons) _____ (Res) _____ (Cel) _____ (Fax) _____

Procurando por experiência em comunicação científica...



ALAMTEC

Soluções inteligentes
para comunicação científica.
Procure-nos!

Serviços

- Brindes • CME (Continuing Medical Education) • Criação • Editoração Eletrônica • Folders e Banners
- Fotolito e Provas Digitais • Foto Digital • Guias de Prescrição e Conduta por Especialidades
- Informação ao Paciente • Livros Científicos • Literaturas • Mailing • Memento • Newsletter
- Projetos Especiais • Publicações Científicas • Reprints • Representações Internacionais
- Suplementos • Tradução de Protocolos • Visual Aid

Parcerias & Publicações

ARS
CVRANDI

GPC
GLOSSARIUM

JORNAL BRASILEIRO DE
REPRODUÇÃO
ASSISTIDA




ALAMTEC
TECNOLOGIA EM INFORMAÇÃO

Rua Cabo José Clemeneano de Carvalho, 3
Jardim Avelino - CEP 03226-000 - São Paulo-SP
Tel/Fax: (11) 6341-8045 / 3493-7618

Todo dia é dia de consulta.



GPC

12a.
edição

GUIA DE PRESCRIÇÃO E CONDUTA
GLOSSARIUM

alamtec@br.inter.net - (11) 6341-8045 / 3493-7618

JANEIRO

34th Annual Conference of the IETS

January 5-9
Denver, Colorado

FEVEREIRO

Congress on Controversies in ART failure

(Anniversary Of Avesina Infertility Clinic Establishment)
February 7
Tehran, Iran

Gene, Environment, Lifestyle Interaction and Human Reproduction

February 7-9
Malmo, Sweden

3rd Bi-Annual Joint Caribbean Infertility Conference 2008

– ‘Moving Points in Reproductive Medicine’
Moving Points in Reproductive Medicine
(Boston IVF & Sims Fertility Clinic Dublin)
February 18-20
Antigua, West Indies

13th World Congress of Gynecological Endocrinology

28 de fevereiro – 2 de março
Florença, Itália
e-mail: isge2008@biomedicaltechnologies.com
www.biomedicaltechnologies.com ou www.gynecologicalendocrinology.org

MARÇO

20th EBCOG European Congress of Obstetrics and Gynaecology

18th Portuguese Congress of Obstetrics and Gynaecology
March 4-8
Lisbon, Portugal
e-mail: monica_ribeiro@mundiconvenius.pt
www.mundiconvenius.pt/2008/ebcog

17ª Jornada de Ginecologia e Obstetrícia da Maternidade Sinhá Junqueira

Março 5-8
Ribeirão Preto - SP
e-mail: eventos@sinhajunqueira.com.br
www.sinhajunqueira.com.br

10th World Congress on Endometriosis

March 11-14
Melbourne, Australia
e-mail: wce2008@conferenceconnection.com.au
www.wce2008.com

ABRIL

Basic genetics for ART practitioners ESHRE Campus Workshop organised by the

ESHRE Special Interest Group Reproductive Genetics

April 5
Athens, Greece

56th Annual Meeting of the Pacific Coast Reproductive Society

April 9-13
Rancho Mirage, CA

2nd Congress of the Asia Pacific Initiative on Reproduction (ASPIRE2008) & 6th Biennial Meeting of the Pacific Rim Society for Fertility & Sterility (PRFSFS2008)

April 11-13
Singapore

8th International Symposium on Preimplantation Genetic Diagnosis

April 23-25
Barcelona, Spain

10th Congress of the European Society of Contraception

“Non-contraceptive impact of contraception and family planning”
April 30–May 3
Prague, Czech Republic
e-mail: congress@contraception-esc.com
www.contraception-esc.com

MAIO

ALPHA

2-4 May
Istanbul
http://www.alpha2008istanbul.org/abstract_submission.php

Assisted Reproduction Technology – a Masters level short course

May 12-15
Coventry, UK

Regulation of Follicle Development and its Clinical Implications

May 23-24
Rome, Italy

JUNHO

6th ISSCR Annual Meeting

June 11-14
Philadelphia, PA USA

JULHO

24th Annual Meeting of the ESHRE

July 6-9
Barcelona, Spain

AGOSTO

XII - Congresso Brasileiro de
Reprodução Assistida – SBRA
São Paulo – SP
www.sbra.com.br

SETEMBRO

International Symposium on PREVENTIVE ART FERTILITY PRESERVATION & PREIMPLANTATION DIAGNOSIS

September 12-14
Chania, Crete,
Greece

17º Congresso Baiano de Ginecologia e Obstetrícia

Setembro 24-27
Salvador, BA
e-mail: sogiba@sogiba.com.br
www.sogiba.com.br

OUTUBRO

The Fertility Society of Australia Annual Scientific Meeting 2008

October 20-22
Hilton Hotel, Brisbane

NOVEMBRO

64th Annual Meeting of the ASRM

November 8-12
San Francisco, USA

13º World Congress on Human Reproduction

November 16-19
Tel Aviv, Israel
e-mail: info@comtecmed.com
www.comtecmed.com

XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Humana

Novembro 26-29
São Paulo, SP
e-mail: sbrh@terra.com.br
www.sbrh.med.br

Annual Meeting of the Canadian Fertility and Andrology Society

November 26-29
Calgary, Canadá

UTROGESTAN® - progesterona natural micronizada

USO ADULTO

Composição: cada cápsula contém progesterona 100 mg ou 200 mg; excipientes qsp. **Indicações:** UTROGESTAN® é indicado para os distúrbios relacionados à deficiência de progesterona, como alterações do ciclo menstrual e amenorréia secundária; na insuficiência lútea; na pré-menopausa e na reposição hormonal da menopausa (como complemento à terapia estrogênica). UTROGESTAN® via vaginal é indicado também na implantação do embrião e manutenção da gravidez durante o primeiro trimestre e como suporte da fase lútea durante os ciclos de reprodução assistida. **Contra-indicações:** este medicamento é contra-indicado em doenças graves do fígado. Hipersensibilidade do princípio ativo ou a qualquer outro componente da fórmula. **Precauções:** alterações leves ou moderadas da função hepática, pacientes com disfunção renal. **Advertências:** Este medicamento não trata todas as causas de aborto espontâneo precoce e, particularmente, ele não tem ação sobre abortos provenientes de defeitos genéticos (o que corresponde a mais da metade das causas de aborto). **Pacientes idosos:** Não há dados que indiquem a necessidade do ajuste de dose para a paciente idosa. **Gravidez - Amamentação:** Nenhuma relação entre o progesterona e malformações fetais foi observada durante diversos estudos epidemiológicos em mais de mil pacientes. **Interações medicamentosas:** o uso crônico de barbitúricos, carbamazepinas, hidantoínas ou rifampicina pode diminuir a eficácia de UTROGESTAN®. Por outro lado, UTROGESTAN® pode potencializar os efeitos farmacológicos da ciclosporina, teofilina ou beta-bloqueadores. **Posologia:** Via Oral: Na insuficiência de progesterona, na insuficiência lútea o regime de tratamento usual é de 200mg por dia: --> 10 dias por ciclo, habitualmente do 17º dia ao 26º dia, inclusive. Em terapia de reposição hormonal para menopausa, a terapia estrogênica isolada não é recomendada (risco de hiperplasia endometrial). Conseqüentemente, a progesterona é combinada em dose de 200 mg por dia, da seguinte forma: --> dose única de 200 mg à noite antes de dormir, de 12 a 14 dias por mês. Na dose de 200 mg é comum observar-se um sangramento de privação após o uso da progesterona. Via vaginal: Cada cápsula gelatinosa deve ser introduzida profundamente na vagina. Suplementação da fase lútea (segunda fase do ciclo menstrual) durante ciclos de FIV: A dosagem recomendada é de 400 a 600 mg por dia, divididos em duas a três doses, do dia da injeção HCG até a 12ª semana de gravidez. Suplementação da fase lútea durante ciclos espontâneos ou induzidos: a dosagem recomendada é de 200 a 400 mg por dia, divididos em duas doses, a partir do 17º dia do ciclo, durante 10 dias. O tratamento será rapidamente reiniciado se a menstruação não ocorrer novamente e, sendo diagnosticada uma gravidez, até a 12ª semana desta. Ameaça de aborto precoce ou prevenção de aborto comum devido à insuficiência lútea: a dosagem recomendada é de 200 a 400 mg por dia divididos em duas doses até a 12ª semana de gravidez. **Forma farmacéutica e apresentações:** UTROGESTAN® 200 mg é apresentado em caixas contendo blister com 14 cápsulas gelatinosas. UTROGESTAN® 100 mg é apresentado em caixas contendo blister com 30 cápsulas gelatinosas. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA.** Registro no M.S.: 1.0390.0167. Farm Resp.: Dr. Wessel de Oliveira Cunha CRF-RJ: 2184. Fabricado por: CAPSUGEL PLOERMEL. Zone Industrielle Camagnon, B. P. 320 - 56803 Poermeil Cedex - Embalado por: Laboratórios Besins International Bélgica. Distribuído por: Farmoquímica S/A. Rua Viúva Cláudio, 300 - Rio de Janeiro - RJ - Indústria Brasileira - CNPJ: 33.349.473/0003-10 - SAC 0800 25 0110 - Para ver o texto de bula na íntegra, acesse o site www.fqm.com.br

O único análogo de GnRH não injetável¹

Synarel[®]

acetato de nafarrelina

Eficácia na fertilização *in vitro*^{1,2,4}

Maior comodidade

Spray Nasal vs. injetável (leuprolida)¹

Reduz*

Número de ampolas de hMG²

Dias de estímulo²

Custo total do tratamento²

Menor necessidade de hMG do que leuprolida²

*Indícios mostrados na meta-análise de Wong JM et al, 2001²

Referências Bibliográficas: 1. Penzias AS et al. Nafarelin versus leuprolide in ovulation induction for in vitro fertilization: a randomized clinical trial. *Obstet Gynecol.* 1992;79(5 (Pt 1)):739-42. 2. Wong JM et al. Efficacy of nafarelin in assisted reproductive technology: a meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2001;7(1):92-101. 4. Henzi MR. Gonadotropin-releasing endometriosis: a review. *Clin Obstet Gynecol.* 1988; 31(4):840-856. 7. DEF 2006/07. Produção JBM (Jornal Brasileiro de Medicina).

SYNAREL[®] (acetato de nafarrelina). Solução nasal. 2 mg/ml. Embalagem com 1 frasco de 8 mL com válvula. Uso intranasal. USO RESTRIÇÃO A PACIENTES DO SEXO FEMININO E ADULTAS. **Indicações:** SYNAREL[®] é indicado no tratamento da endometriose genital e extragenital, incluindo alívio da dor e redução das lesões endometriais, no tratamento clínico do mioma uterino antes da miomectomia ou histerectomia planejada, incluindo alívio dos sintomas, redução do fibroma e do volume uterino e para estimulação ovariana controlada prévia à fertilização *in vitro*. **Contra-indicações:** SYNAREL[®] é contra-indicado a pacientes que apresentem hipersensibilidade a nafarrelina, a análogos de agonistas do hormônio de liberação da gonadotropina (GnRH) ou a qualquer componente do produto. SYNAREL[®] é também contra-indicado a mulheres grávidas (ou a pacientes que possam se tornar grávidas), lactantes e a pacientes com sangramento vaginal de causa não determinada. **Posologia:** Cada pulverização de SYNAREL[®] libera aproximadamente 100 µL de solução, que corresponde a uma dose de 200 mcg de nafarrelina. A paciente deve inclinar a cabeça ligeiramente para trás, depois de aplicar o produto e obedecer a um intervalo de 30 segundos entre cada pulverização. **Endometriose, incluindo alívio da dor e redução das lesões endometriais:** 1 pulverização (200 mcg de nafarrelina) em uma fossa nasal pela manhã e uma pulverização na outra fossa à tarde (dose total diária = 400 mcg). Iniciar o tratamento entre o 2º e o 4º dia do ciclo menstrual. Duração do tratamento: 3 a 6 meses, de acordo com a gravidade da doença e a resposta da paciente. Se a paciente não responder ao tratamento, aumentar 1 pulverização (200 mcg de nafarrelina) em cada fossa nasal, duas vezes ao dia (dose total diária = 800 mcg). **Tratamento clínico do mioma uterino antes da miomectomia ou histerectomia planejada, incluindo alívio dos sintomas, redução do fibroma e do volume uterino:** 1 pulverização (200 mcg de nafarrelina) em uma fossa nasal pela manhã e uma pulverização na outra fossa nasal à tarde (dose total diária = 400 mcg). Duração do tratamento: 3 a 6 meses. **Estimulação ovariana controlada prévia à fertilização *in vitro*:** 1 pulverização em uma ou em ambas as fossas nasais pela manhã (200-400 mcg de nafarrelina) e uma pulverização na outra ou em ambas as fossas nasais à tarde (dose total diária = 400 ou 800 mcg). **Protocolo curto:** nos protocolos "curtos", inicia-se a administração de GnRHs precocemente no ciclo folicular, com gonadotropinas exógenas (por exemplo, gonadotropina menopausária humana (hMG) adicionadas logo em seguida, enquanto o efeito "agudo" inicial do agonista está ocorrendo. Assim, o protocolo curto incorpora o efeito agudo como parte do processo de estimulação. O GnRH continua a ser administrado concomitantemente, com doses variáveis de gonadotropinas por mais 10-15 dias, até que os folículos estejam grandes o suficiente. Nesse ponto, o agonista e as gonadotropinas são suspensos e administra-se hormônio gonadotrófico humano (hCG) para estimular o surto espontâneo de hormônio luteinizante (LH) e o desencadeamento dos processos que levam ao amadurecimento do oócito. Os oócitos são, então, retirados dos folículos antes da ocorrência da ovulação espontânea. **Protocolo longo:** nos protocolos "longos" de estimulação ovariana controlada, inicia-se a administração de GnRH no começo da fase folicular (2º dia) ou na metade ou final da fase lútea (em geral, 21º dia) do ciclo menstrual. O GnRH é administrado até que o efeito agudo termine e ocorra a *down-regulation*. A hipofisária, evidenciada pelo aparecimento de sangramento com menstruação e, em alguns centros, pela determinação das concentrações séricas de estradiol, que aparecem diminuídas. Depois da *down-regulation*, que ocorre dentro de quatro semanas, a estimulação ovariana controlada é iniciada com gonadotropinas. A estimulação normalmente dura de 8-12 dias e, então, o agonista e as gonadotropinas são suspensas e o hormônio gonadotrófico coriônico humano (hCG) é administrado, seguido da coleta de oócitos. A preferência pelo protocolo "longo" ou "curto" depende de fatores como experiência do médico, características e história da paciente e fatores específicos da equipe, como sistemas de monitorização. Iniciar o tratamento no começo da fase folicular (2º dia) ou na metade da fase lútea (21º dia do ciclo menstrual). O tratamento deve ser mantido até ser atingida a *down-regulation*. Se esta não ocorrer num prazo de 12 semanas, a nafarrelina deve ser descontinuada. Quando ocorrer *down-regulation* (usualmente em 4 semanas), o tratamento com gonadotropina deve ser adicionado à nafarrelina até se atingir um estágio adequado de desenvolvimento folicular, quando então, ambos os fármacos são descontinuados e inicia-se a administração de gonadotropina coriônica para induzir a ovulação. **Advertências e Precauções:** Da mesma forma que com outros fármacos desta classe, foi relatada a ocorrência de cistos ovarianos durante os primeiros dois meses de terapia com nafarrelina. A maioria desses eventos ocorreu em pacientes com síndrome do ovário policístico. Este aumento de cistos pode apresentar resolução espontânea, em geral, depois de quatro a seis semanas de tratamento; mas, em alguns casos, pode requerer descontinuação do fármaco e intervenção cirúrgica. Se os sintomas da endometriose recorrerem após um período de tratamento, demandando a repetição da terapia, recomenda-se a avaliação da densidade óssea antes de iniciar o novo tratamento, para assegurar que os valores situam-se dentro dos limites da normalidade. O tratamento não pode ser recomendado uma vez que não estão disponíveis dados de segurança para sua realização. A eficácia do tratamento da endometriose em mulheres abaixo de 18 anos não foi estabelecida. Se a utilização de um descongestionante nasal for necessária, recomenda-se a administração pelo menos 2 horas após a aplicação da nafarrelina. Se a paciente espirrar durante ou imediatamente após a aplicação da nafarrelina a absorção do fármaco pode ser prejudicada. Portanto, neste caso, recomenda-se repetir a aplicação. A administração da nafarrelina em doses terapêuticas inibe o eixo hipotálamo-hipofisário e restaurado normalmente entre 4 e 8 semanas após a descontinuação do tratamento. Portanto, as provas funcionais do eixo hipotálamo-hipofisário efetuadas durante o tratamento ou neste período de 4 a 8 semanas, são de difícil interpretação. **Uso na gravidez:** SYNAREL[®] (acetato de nafarrelina) não deve ser utilizado durante a gravidez ou na suspeita de gravidez, pois pode causar dano fetal. Estudos em ratos revelaram anomalias fetais com a administração de nafarrelina durante o período de organogênese: houve aumento da mortalidade e diminuição do peso fetal, relacionados com a dose administrada. Os efeitos sobre a mortalidade fetal em ratos são conseqüências esperadas da alteração nos níveis hormonais induzida pelo fármaco. Antes de se iniciar o tratamento com nafarrelina, deve-se assegurar que a paciente não esteja grávida. O uso regular de SYNAREL[®] nas doses recomendadas, usualmente inibe a ovulação e a menstruação, porém a contracepção não está assegurada. Se a paciente esquecer de algumas doses durante o tratamento, pode ocorrer ovulação e, conseqüentemente, o potencial de concepção existe. Durante o tratamento, deve-se evitar a gravidez utilizando métodos contraceptivos de barreira (diáfragma, dispositivo intra-uterino ou preservativos), e não anticoncepcionais orais. Se a paciente engravidar durante o tratamento, a administração do medicamento deve ser suspensa e a paciente deve ser informada sobre os riscos potenciais para o feto. **Uso na lactação:** Não se sabe se a nafarrelina é excretada pelo leite materno. Portanto, como medida de segurança, não se deve fazer uso de nafarrelina durante o período de amamentação. **Interações Medicamentosas:** A nafarrelina não causa interações de ordem farmacocinética, uma vez que sua degradação é devida à ação das peptidases e não ao sistema enzimático P-450. Dado que a ligação proteica (principalmente à albumina) da nafarrelina ocorre em apenas cerca de 80%, as interações medicamentosas derivadas da ligação às proteínas plasmáticas são pouco prováveis. A administração de um vasoconstritor 30 minutos antes da nafarrelina diminui a absorção desta. **Reações Adversas:** O início do tratamento com nafarrelina pode causar exacerbação transitória da endometriose e de outros sintomas do desequilíbrio estrogênico. O tratamento crônico pode induzir um estado menopausial. Em aproximadamente 0,2% das pacientes ocorrem sintomas sugestivos de hipersensibilidade ao fármaco, como dor no peito, prurido, rash, dispnéia e urticária. O início do tratamento com nafarrelina pode causar exacerbação transitória da endometriose e de outros sintomas do desequilíbrio estrogênico. O tratamento crônico pode induzir um estado menopausial. **VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA. SAC: 0800-166575**

SAC
0800 166575

ZODIAC

Utrogestan 100 mg também voltou.

Maior flexibilidade para o fertileuta.

Utrogestan®

progesterona natural micronizada

Infertilidade

- Eficaz nos defeitos da fase lútea⁽¹⁾
- Progesterona de escolha na insuficiência lútea⁽²⁾

Apresentações

- Caixa contendo blisters 30 caps. com 100 mg
14 caps. com 200 mg



Referências bibliográficas: (1) - Daya S, Ward S, Burrows E. Progesterone profiles in luteal phase defect cycles and outcome of progesterone treatment in patients with recurrent spontaneous abortion. Am J Obstet Gynecol 1988; 158: 225-30. (2) - Dale LF. Alterações do Desenvolvimento Folicular e Defeitos da Fase Lútea. In: Busso NE, Acosta AA, Remohi J. Indução da Ovulação. São Paulo: Editora Atheneu, 1999. p 60-64.

“A PERSISTIREM OS SINTOMAS, O MÉDICO DEVERÁ SER CONSULTADO.”



Laboratoires
Besins International
Spécialiste en hormonothérapie

FQM
Farmaquímica
A Arte de Promover Saúde

