

Instalação de banco de sêmen

Semen cryobanking installation

CARLOS G. ALMODIN*
ATILLIO MOREIRA*
SERGIO STORTI*

Resumo

Para a instalação de um banco de sêmen é necessário planejar o cadastramento das amostras, critérios de avaliação dos doadores e do sêmen, colheita e classificação do material, escolha do meio crioprotetor, armazenamento e recuperação dos espermatozoides após descongelamento. Os espermatozoides armazenados são utilizados para inseminações ou fertilizações, homóloga ou heteróloga, aumentando o sucesso da clínica de reprodução.

Com o recente avanço tecnológico da Reprodução Humana e incremento das clínicas de infertilidade, tornou-se necessário a criopreservação de sêmen humano para supri-las. A finalidade do banco de sêmen é o armazenamento para uso futuro, podendo ser para uso homólogo, quando o sêmen armazenado se destina exclusivamente à esposa do doador, ou heterólogo, quando se destina às mulheres, cujos maridos não possuem sêmen de qualificação suficiente para engravidar suas esposas com sucesso. O armazenamento homólogo seria para estoque de segurança em pacientes submetidos à vasectomia, aumento de volume e quantidade de espermatozoides em pacientes com oligospermia, fertilização *in vitro* e inseminações artificiais dispensando a presença do marido. A heteróloga para casais com azoospermia irreversível, maridos vasectomizados que não querem tentar a recanalização do deferente, oligospermia severa com tentativas de fertilização sem sucesso, pacientes com disfunção ejaculatória sem correção, em mulheres com isoimunização severa com fator Rh negativo e marido Rh positivo, e marido portador de desordem genética conhecida, como hemofilia, doença de Huntington e anormalidade cromossômica.

Na instalação de um banco de sêmen é necessário planejar o cadastramento dos doadores e amos-

tras, critério de avaliação dos doadores e do sêmen, colheita e classificação do material, escolha e avaliação do meio crioprotetor, armazenamento e recuperação dos espermatozoides no descongelamento.

Seleção dos doadores

Os doadores são avaliados previamente por um urologista, colhendo o histórico médico completo com particular preocupação em evidenciar casos de defeitos genéticos na família, tais como: polipose múltipla de cólon, retinite pigmentosa, síndrome de Marphan, retinoblastoma, trissomia e também epilepsia, diabetes *mellitus* e psicoses. O exame físico e de genitais com atenção à fenda palatina, espinha bífida, hipospádia, malformação cardíaca, albinismo, hemofilia, neurofibromatose, hipercolesterolemia hereditária, asma, artrite reumatóide, fibrose cística, talassemia, herpes genital, hepatite crônica e úlcera genital. Tais patologias aumentam a possibilidade de transmissibilidade e/ou alterações no feto e estes doadores são afastados do programa. Atenção especial ao histórico sexual do possível doador, preferindo-se doadores que tenham somente uma parceira; nunca são aceitos bissexuais ou homossexuais.

O doador, sendo aprovado no exame clínico, é então avaliado laboratorialmente com espermograma que revele pelo menos 1ml com 50 milhões ou mais de espermatozoides móveis por ml, com pelo menos 60% com movimentação ativa e direcional e pelo menos com 60% de forma ovalada normal. Apesar da afirmação da não transmissibilidade da AIDS pelo sêmen, fazemos o teste, e também sorologia para sífilis e hepatite B rotineiramente e, quando necessário, cultura uretral para *Neisseria gonor-*

*Materbaby

Recebido em: 15.7.91

Aprovado em: 22.8.91

Endereço: Carlos Gilberto Almodin
Av. Angelo Moreira da Fonseca, 3334
CEP 87500 - Umuarama-PR

hooae e *Chlamydia trachomatis*. O doador é avaliado a cada 90 dias e em menos, havendo troca de parceira sexual. De cada doador são congeladas 10 amostras e este doador é utilizado até obtermos, no máximo, 10 gestações, sendo depois excluído do programa, para reduzir a possibilidade de possível consangüinidade futura.

Colheita do sêmen e cadastramento da amostra

O sêmen é colhido por masturbação com abstinência de três dias, após lavagem cuidadosa das mãos e do pênis com sabão neutro. O ejaculado é mantido em béquer de 100ml esterilizado durante 30 a 60 minutos para liquefação. Após a liquefação faz-se nova avaliação a fresco; sendo a amostra aprovada, então será cadastrada e seguirá para congelamento. Para o cadastro das amostras, desenvolvemos um programa de computador que emite um número aleatório para cada amostra, sendo escrito nos paletes e registrado no computador com quantidades de paletes congelados e disponíveis, grupo sanguíneo, cor da pele, subgrupo étnico, cor e tipo dos cabelos, cor dos olhos e tipo de nariz. Quando desejamos utilizar o sêmen, colocamos estes dados do marido da paciente receptora e o computador faz a busca automática da amostra, revelando-nos se temos sêmen com tais características, número de paletes disponíveis e quantos já foram utilizados.

Meio crioprotetor

Após liquefação do sêmen em temperatura ambiente por, aproximadamente, 30 minutos, adicionamos meio crioprotetor gota a gota vagarosamente e misturamos gentilmente até uma proporção de 1 para 1. Utilizamos a formulação proposta por Matheson & col, que consiste na mistura de 15% de glicerol, 20% de gema de ovo, 1,15g de citrato de sódio, 1,8g de glucose, 1g de glicina, 100000UI de penicilina e 50mg de estreptomicina, após a homogeneização completa e ajustar pH para 7,2 a 7,4, é inativado por 30 minutos a 56 graus centígrados em banho maria. A mistura é colocada em tubos com 5ml cada, sendo então congelada. Quando necessário, enquanto o sêmen se liquefaz, um tubo é descon-

gelado e aquecido a 32 graus centígrados para, então, iniciar-se a mistura. O meio crioprotetor não deve ser recongelado e cada preparado deve ser utilizado, no máximo, por 90 dias.

Após a mistura do sêmen com crioprotetor estar homogênea, é transferida para os paletes, já datados e codificados, com capacidade de 0,5ml cada. Estes paletes são colocados em vapor de nitrogênio líquido e mantidos por 10 minutos, sendo, após, transferidos ao tambor de armazenamento.

A recuperação dos espermatozoides, quando necessária, é geralmente feita com utilização de cinco paletes. Os paletes são retirados do tambor de congelamento e mantidos em temperatura ambiente por 15 minutos para descongelamento. Após, são secos com gaze esterilizada e descarregados em tubos de centrífuga com 1ml cada, adicionando-se 2ml de Ham F 10 com hipoxanthine e 15% de soro de cordão inativado e centrifugados a 425 G por 10 minutos. Retira-se o sobrenadante e ressuspende-se o precipitado com mais 2ml de Ham F 10 e novamente centrifugado; após retirar o sobrenadante é adicionado 0,5ml de Ham F 10 e colocado em incubadora com 5% de CO₂, 37 graus centígrados e umidade de 90% por duas horas, quando então é analisado e utilizado.

Conclusão

O banco de sêmen vem, sem dúvida, facilitar o trabalho de quem atua com fertilização *in vitro* ou atende aos casais estéreis, oferecendo-lhes mais alguma vantagem quanto à procura incansável por um filho. A utilização de sêmen heterólogo cada vez mais é aceita, dando, assim, oportunidade à mãe de também gestar.

Summary

To a semen cryobanking installation is necessary to plan the samples recorded, valuation of donor and sperm, classification of the samples, choose a cryoprotective medium, keeping and recovering the sperms after cryopreservation. The sperms are used in intra-uterine insemination or "in vitro" fertilization increasing the success of the reproductive clinic.

Referências bibliográficas

1. Fraser, F.C. & Forse, R.A.: On genetic of donor for artificial insemination. *Am J Med Genet*, 10:399, 1981.
2. Harrison, R.F. & Sheppard, B.I.: A comparative study in methods of cryoprotection for human semen. *Cryobiology*, 17:25, 1980.
3. Jacobs, P.A.: Recurrence risks for chromosomal abnormalities. *Birth Defects*, 15:71, 1979.
4. Mahadevan, M.M.; Trouson, A.O. & Leeton, J.F.: Successful use of human semen cryobanking for in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 40:340, 1983.
5. Serafini, P. & Mans, R.: Computerized staged-freezing technique improve sperm survival and preserves penetration of zona free hamster ova. *Fertil Steril*, 45:854, 1986.
6. Sherman, J.K.: Dimethyl sulfoxide as a protective agent during freezing and thawing of human spermatozoa. *Proc Soc Exp Biol Med*, 117:261, 1964.
7. Yavetz, H. & col.: Prerequisites for successful human sperm cryobanking: sperm quality and prefreezing holding time. *Fertil Steril*, 55:812, 1991.