

Fertilização in vitro e transferência de embrião

In vitro fertilization and embryo transfer

KARAM ABOU SAAB
CARLOS GILBERTO ALMODIN

Resumo

Aplicou-se a técnica de fertilização in vitro e transferência de embrião em 32 pacientes portadoras de esterilidade, principalmente por fator tubário irreversível. Foram estudados 39 ciclos entre espontâneos, induzidos com gonadotrofina de mulher menopausada (HMG) e gonadotrofina coriônica humana (HCG) ou com citrato de clomifene e gonadotrofina coriônica humana. O desenvolvimento folicular foi acompanhado com ecografia seriada, e a colheita de oócitos, precedida por laparoscopia. Os oócitos foram incubados e fertilizados em meio de cultura Ham F 10 enriquecido com soro de cordão, numa temperatura de 37°C e atmosfera com 5% de gás carbônico. Dezesseis oócitos apresentaram clivagem e, destes, sete foram considerados embriões normais e transferidos. Não houve gravidez.

A fertilização *in vitro* vem sendo aplicada e tem-se mostrado alternativa terapêutica válida em casos específicos de esterilidade, principalmente por fator tubário. Inicialmente era tida como processo altamente sofisticado e não condizente com a nossa realidade. Hoje, a quase padronização das técnicas em diferentes países e a sua simplificação têm permitido taxas de êxito cada vez mais elevadas. O fato encorajou-nos a aplicá-la em nosso meio.

MATERIAL E MÉTODO

Foram estudados 39 ciclos em 32 pacientes, seis dos quais induzidos pela associação de gonadotrofina de mulher na menopausa (HMG) e gonadotrofina coriônica humana (HCG), nove espontâneos e 24 induzidos com citrato de clomifene mais gonadotrofina coriônica humana. O momento da colheita de oócito foi determinado por ecografia seriada do desenvolvimento folicular, estudo do muco cervical, esfregaço vaginal e aspecto do colo uterino. A punção folicular era realizada através de laparoscopia e o líquido aspirado colocado em recipiente Falcon 3002 e examinado em microscópio estereoscópico para identificação do oócito, o qual era imediatamente transferido para um recipiente Falcon 3037 contendo meio de cultura Ham F 10 enriquecido com 7,5% de soro de cordão (meio de fertilização), numa osmolaridade de 280-285 mOsmol e pH de 7,35-7,40, e incubado a 37°C, numa atmosfera com 5% de gás carbônico.

A fertilização era realizada seis a oito horas após a colheita do oócito, com espermatozoides do marido, lavados duas vezes em meio de fertilização. Quinze horas após a fertilização, o oócito, já com os pronúcleos identificados, era transferido para outro recipiente Falcon 3037 contendo meio de cultura Ham F 10 enriquecido com 15% de soro de cordão (meio de crescimento) e novamente incubado. Quarenta e quatro a quarenta e seis horas após a fertilização, reexaminávamos os oócitos, esperando encontrar clivagem em três a quatro células para, em seguida, efetuar a transferência do embrião para o útero da paciente.

RESULTADOS

Nos 39 ciclos estudados foi encontrado, durante as laparoscopias, um total de 63 folículos, sendo que nove já haviam ovulado e se apresentavam com corpo lúteo e estigma; 54 foram aspirados, obtendo-se de 1,5 a 6ml de líquido folicular. Em 35 folículos aspirados encontramos oócitos e em 19 não os encontramos. Dos 35 oócitos colhidos, classificamos 25 como pré-ovulatórios e maduros, oito como imaturos e dois como pós-maduros (Tabela 1). Todos foram submetidos a fertilização. Ocorreu clivagem em 16, sendo que nove atingi-

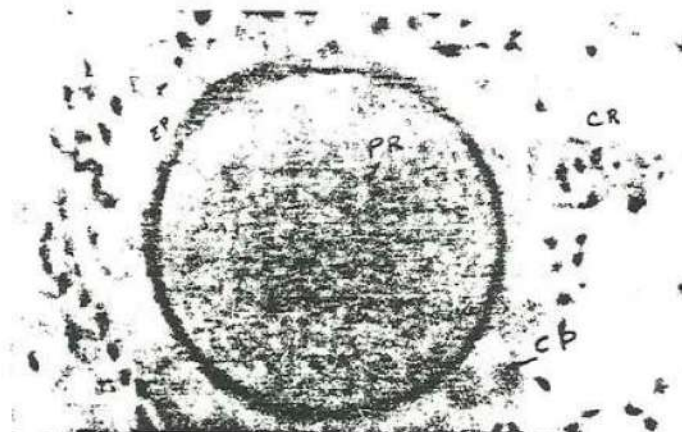


Figura 1 — Oócito maturado *in vitro*. Cr: corona radiata, Zp: zona pelúcida, Pr: pronúcleo, Cp: corpúsculo polar.

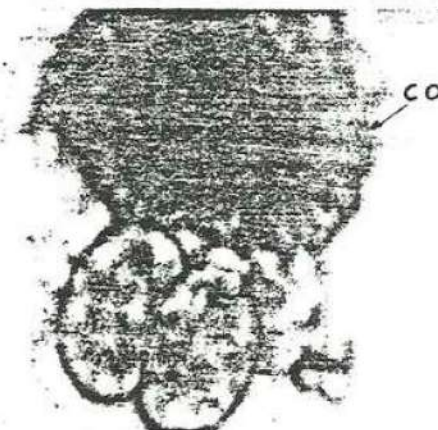


Figura 2 — Ovo após primeira divisão; duas células. Co: Cumulus oophorus.

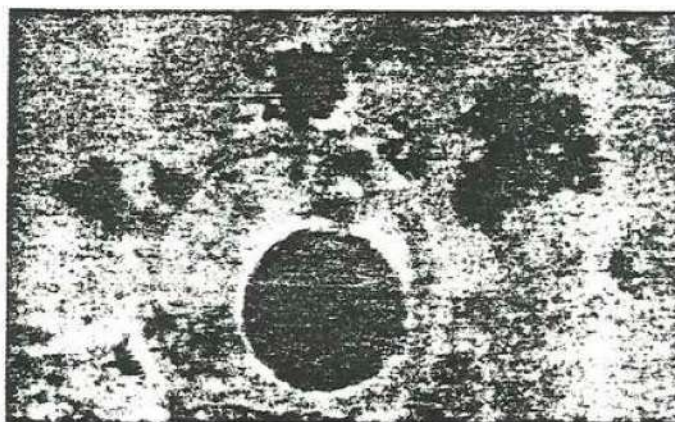


Figura 3 — Óvulo degenerado.

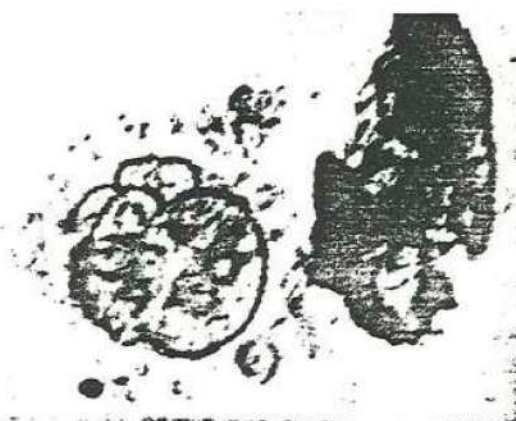


Figura 4 — Ovo com divisão anômala.

CEMIL — Centro Médico Materno-Infantil — Umuarama-PR

Recebido em: 24/10/83

Aprovado em: 8/11/83

Endereço: Karam Abou Saab
Av. Paraná, 5005 — Caixa Postal 164
CEP 87500 — Umuarama-PR

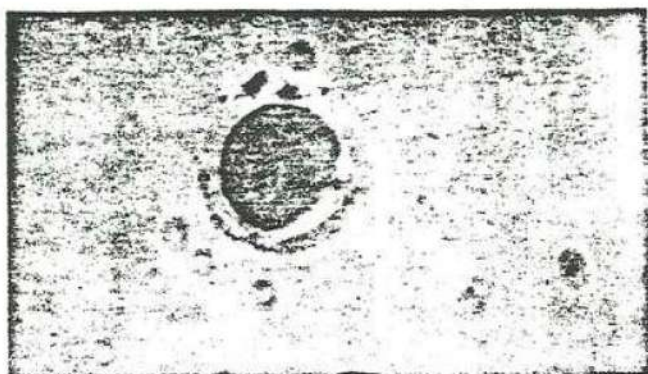


Figura 5 — Óvulo pós-maduro.

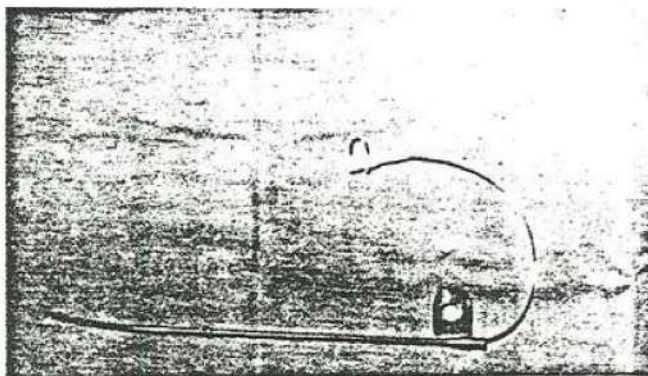


Figura 6 — Material para transferência de embrião.

TABELA 1
CLASSIFICAÇÃO DOS OÓCITOS COLHIDOS

Tipos	N.º	%
Pré-ovulatórios (maduros)	25	71,4
Imaturos	8	22,8
Pós-maduros	2	5,7
Total	35	100

ram o estágio de três a seis células regulares, e, destes, sete foram transferidos para as pacientes e dois perdidos durante o manuseio da transferência. Três oócitos tiveram seu meio de crescimento contaminado, dois desenvolveram clivagem anômala e outros dois apresentaram polispermia, sendo todos abandonados. Dos 19 que não dividiram, sete eram imaturos, dois eram pós-maduros, em quatro os maridos eram oligospermicos e dois degeneraram precocemente. Em outros quatro, não encontramos justificativas. As sete pacientes que receberam os embriões foram tratadas com progesterona natural na expectativa de corpo lúteo insuficiente. Não houve gravidez.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blandau, J.R.: In vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril*, 33:1, 1980.
- Crespigny, L.J.C. & col.: Ultrasound in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril*, 35:25, 1981.
- Dvorak, M. & col.: Fine structure of human two-cell ova fertilized and cleaved in vitro. *Fertil Steril*, 37:5, 1982.
- Eduards, R.G. & col.: Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *Br J Obstet Gynaecol*, 87:9, 1980.
- Feichtinger, W. & col.: Results of laparoscopic recovery of preovulatory human oocytes from nonstimulated ovaries in an ongoing in vitro fertilization program. *Fertil Steril*, 36:707, 1981.
- Jones, H.W. & col.: A technique for the aspiration of oocytes from human ovarian follicles. *Fertil Steril*, 37:1, 1982.
- Jones, H.W. & col.: The program for in vitro fertilization at Norfolk. *Fertil Steril*, 38:14, 1982.
- Leeton, J. & col.: The technique for human embryo transfer. *Fertil Steril*, 38:2, 1982.
- Testart, J. & col.: Apparatus for the in vitro fertilization and culture of human oocytes. *Fertil Steril*, 38:3, 1982.
- Wood, C. & col.: A clinical assessment of nine pregnancies obtained by in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril*, 35:5, 1981.

TABELA 2
DESTINO DOS OÓCITOS

Tipos	N.º	%
Clivados	16	45,7
Transferidos	7	20
Contaminados	3	8,5
Divisão anômala	2	5,7
Perdidos no manuseio	2	5,7
Polispermia	2	5,7
Não-clivados	19	54,3
Imaturos	7	20
Pós-maduros	2	5,7
Bons sem divisão	4	11,4
Oligospermicos	4	11,4
Degeneração precoce	2	5,4
Total	35	100

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos foram considerados aquém do desejado, a que atribuímos inúmeros obstáculos que a técnica apresenta: indução da ovulação, determinação do melhor momento para a colheita dos oócitos, manuseio e manutenção dos oócitos em condições artificiais, fertilização, transferência dos embriões, nidação e manutenção da gravidez. Acreditamos que essas dificuldades poderão ser sanadas após adquirirmos maior experiência. Atingiremos, então, resultados que nos habilitem a adotar a técnica como terapêutica nos casos de esterilidade por fator tubário irreversível.

Summary

The authors used in vitro fertilization and embryo transfer in 32 infertile patients mainly because of irreversible tubal damage. Thirty-nine cycles had been studied among spontaneous cycles, induced with HMG and HCG or clomiphene citrate and HCG. The follicular development was watched with repeated ecography and the oocytes recovery via operative laparoscopy. The oocytes were incubated and fertilized in Ham F 10 with human cord serum at 37°C and 5% CO₂. Sixteen oocytes had cleft and seven of them were considered normal embryos and were transferred. There weren't pregnancies.