

Fertilização in-vitro ou Bebê de Proveta

O grande marco na história da infertilidade ocorreu no dia 25 de julho de 1978, em Manchester – Inglaterra. Graças aos esforços de *Patrick Steptoe e Robert Edwards*, nasceu nesta data o primeiro bebê de proveta do mundo: a menina Louise Brown. De fato, a fertilização do óvulo e do espermatozóide ocorreu em um pequeno tubo de ensaio, e não em uma proveta. Daí o termo fertilização *in vitro* e não *in vivo*. O termo “bebê de proveta” foi emprestado do livro “Admirável Mundo Novo” do autor Aldous Huxley. Hoje o termo médico mais usado é FIV (fertilização in vitro), mas as pessoas em geral utilizam mesmo *é bebê de proveta*.

A indicação inicial da FIV foi alteração nas trompas, como por exemplo obstrução sem condição de correção cirúrgica. Com o desenvolvimento da técnica, outras indicações surgiram tais como fator masculino moderado e grave, endometriose, infertilidade sem causa aparente e fator imunológico. Devemos ter em mente que o tratamento do casal infértil apresenta uma sequência de procedimentos de complexidade crescente. A fertilização in vitro representa a etapa mais avançada no tratamento do casal infértil e, muitas vezes, a única forma de se alcançar uma gravidez.

A fertilização in vitro (FIV) e transferência de embriões (TE) tenta reproduzir em laboratório as condições necessárias para que ocorra a fecundação e as primeiras etapas do desenvolvimento embrionário (FIGURA 10). A duração da etapa realizada in vitro, isto é, fora do organismo, é de aproximadamente 2 a 6 dias. Os espermatozoides e os óvulos são colocados dentro de um meio de cultura especial e cultivados a 37° C dentro de uma incubadora. A partir de então, irá acontecer a fertilização e o desenvolvimento embrionário inicial. Após esse período, o embrião ou os embriões formados serão transferidos para a cavidade uterina através de um catéter especial de plástico inserido através do colo do útero durante um exame ginecológico normal. Este procedimento é indolor, não havendo necessidade de anestesia.

A FIV passo a passo (FIGURA 11):

1. Estimulação ovariana através da utilização de hormônios (gonodotrofinas) em doses suficientes para que ao invés do ovário produzir somente um óvulo, ele possa produzir um número maior de folículos, em média 8 a 12 (FIGURA 12). Essa etapa é controlada através da realização seriada de exames de ultra-som transvaginal e de dosagens sanguíneas de hormônio ovariano (estradiol).

2. Quando os folículos (cada folículo contém um óvulo) alcançam um bom tamanho ao ultra som (entre 18 e 20 mm) e as taxas de hormônio (estradiol) estão adequadas, é utilizada uma outra medicação (hCG) que vai terminar a maturação do óvulo.

3. Antes que o folículo se rompa espontaneamente e libere o óvulo, o que ocorre cerca de 36 a 38 horas após a aplicação do hCG, é realizada a punção de cada um dos folículos através de uma agulha guiada por ultra-som transvaginal. Os óvulos são, então, aspirados de cada folículo e identificados no líquido obtido. Essa etapa é realizada sob anestesia, sendo que a paciente retorna para casa do mesmo dia.

No mesmo dia que a paciente retira os óvulos, o parceiro colhe o sêmem.

4. Já no laboratório, cada óvulo é colocado junto a número adequado de espermatozoides em uma placa com meio de cultura para que ocorra a fertilização.

5. Após a fertilização, os embriões resultantes podem permanecer de 2 a 6 dias em cultivo no laboratório (FIGURA 13), dependendo da técnica utilizada e do número de embriões obtidos.

6. Os embriões são, então, transferidos para o útero através de um cateter especial durante um exame ginecológico comum indolor. O estágio de transferência varia de 4 a 8 células, o que corresponde a 2-3 dias de cultivo, até a fase de blastocisto, equivalente a 5-6 dias de cultivo no laboratório (FIGURA 14).

7. Cerca de 14 dias após a retirada dos óvulos, é realizado o teste de gravidez (-hCG).

8. Geralmente, um dia após a retirada dos óvulos a paciente inicia a utilização de reposição de progesterona. Na FIV o ovário produz a progesterona, mas em quantidades insuficientes. Por isso, de rotina usamos a progesterona natural para complementarmos a produção ovariana. A paciente deverá usar a progesterona até o dia do resultado de gravidez, e se o resultado for positivo, ela deverá utilizá-la até a 12ª semana de gravidez. Existem outras medicações tais como o hCG que podem ser usados em injeções a cada 3 dias, mas geralmente os testes de gravidez irão detectar as moléculas desta substância e o teste poderá dar falso positivo criando, desta maneira, falsas expectativas.

As chances de uma FIV resultarem em gravidez giram em torno de 20 a 35 % por tentativa, dependendo principalmente da idade da paciente (Quanto menor a idade da mulher que realiza uma FIV, melhores são os resultados). Devemos lembrar que a chance de concepção mensal de um casal que não apresente nenhum problema gira em torno de 20 a 22% por mês (por ciclo fértil) e que a FIV recria exatamente um ciclo fértil. Para que um casal tenha uma chance razoável, ele deverá estar preparado para realizar pelo menos três ciclos de FIV.

Os resultados atuais indicam que a chance de um casal realizar uma FIV e apresentar um exame de gravidez positivo é de cerca de 27%; de apresentar uma gravidez clínica, isto é, de fazer um ultra-som e apresentar um feto com batimento cardíaco é de 24%; e de ter um parto, 21%. Isto significa que de cada dez pacientes que realizarem uma FIV, duas terão um bebê em casa. O único fator conhecido que pode aumentar estes resultados é a idade da paciente, como foi dito anteriormente.

Para obtermos estas taxas de gravidez, transferimos para a cavidade uterina até quatro embriões. Quando a paciente engravida, a primeira pergunta que o casal faz é sobre o número de bebês. Das gestações obtidas com FIV, 70% serão gestações únicas, 25% gemêos e 5% triplas ou quádruplas.

Uma grande preocupação que os casais têm quando se pensa em realizar uma FIV é se o filho gerado irá apresentar alguma alteração ao nascer. Muita fantasia se cria quando se imagina um filho sendo gerado dentro do laboratório, mas na verdade a FIV realiza no laboratório uma das etapas da concepção que ocorreria dentro das trompas, que é a união dos espermatozoides com o óvulo. O óvulo ou óvulos assim como os espermatozoides utilizados no processo são obtidos entre aqueles já seriam selecionados pela natureza ao acaso. Desta forma, é importante saber que a chance de nascer uma criança normal após uma FIV é a mesma chance que tem uma criança concebida naturalmente, isto é, é igual à população em geral.

ICSI: Fertilização in vitro por injeção intracitoplasmática de espermatozoide

Até pouco tempo atrás, os casais com infertilidade masculina severa eram excluídos dos programas de Fertilização In-Vitro convencional por não se conseguir bons resultados. Mesmo colocando os espermatozoides próximos do óvulo, as taxas de fertilização e de gravidez eram incrivelmente baixas. Desta forma, aqueles homens que tinham uma alteração grave no sêmem, ou então, que tinham feito uma vasectomia sem possibilidade de reversão, não podiam engravidar. Através do ICSI (FIGURA 15), é possível coletar um único espermatozoide e colocá-lo diretamente dentro do óvulo através de uma agulha sete vezes mais fina do que um fio de cabelo.

Indicações para se realizar ICSI:

- quando houver alterações importantes na quantidade, na movimentação ou na morfologia dos espermatozoides.

- quando existir qualquer alteração que bloqueie o caminho dos espermatozoides do testículo até a sua saída na uretra (ex: vasectomia, ausência congênita dos canais que transportam os espermatozoides). Nestes casos, os espermatozoides necessários para se realizar

a fertilização podem ser obtidos cirurgicamente do epidídimo (local onde se armazenam os espermatozóides) ou do testículo (onde são produzidos os espermatozóides).

- quando existirem alterações relacionadas ao momento da fertilização fazendo com que os espermatozóides não sejam capazes de penetrar dentro do óvulo.

- quando existirem anticorpos anti-espermatozóides (proteínas imunológicas que atacam e destroem os espermatozóides) que dificultem a fertilização.

- quando houver falha de fertilização em tentativas anteriores de FIV clássica.

- quando se tratar de esperma congelado antes de um tratamento de cancer e a quantidade e qualidade deste esperma congelado for limitada.

O procedimento é o mesmo que o da FIV, só que ao invés de se deixar milhares de espermatozóides nadando em volta do óvulo para que somente um penetre e fertilize esse óvulo, uma micropipeta perfura a parede do óvulo e deposita o espermatozóide lá dentro (FIGURA 16). Com essa técnica 70 a 80 % dos óvulos micro-injetados irão apresentar fertilização, com formação de embriões em 60 a 80% das vezes.

Quando não existe espermatozóide no ejaculado (azoospermia), pode ser necessário realizar uma aspiração de epidídimo (local no testículo que armazena os espermatozóides) ou do testículo para obtê-los; mais raramente pode ser necessária a realização de uma biópsia de testículo, quando uma amostra de tecido é retirado. Estes procedimentos são realizados ambulatorialmente e sob anestesia local.

A taxa de gravidez inicial com o ICSI pode variar de 20 a 35 % nos casos bem selecionados, uma vez que outros fatores tais como a idade da parceira e a qualidade dos óvulos obtidos podem diminuir estas taxas de sucesso. Como na FIV clássica, quanto mais nova for a mulher, melhores serão os resultados.

O acompanhamento das crianças nascidas através dessa técnica tem mostrado que não há um aumento nas taxas de mal-formações ou alterações cromossômicas nestas crianças. Em alguns casos de infertilidade masculina grave, a causa pode ser genética e os filhos masculinos gerados por esta técnica podem, quando adultos, apresentar o mesmo problema de infertilidade do pai em cerca de 17% dos casos.

Todos os tratamentos de fertilização in vitro e suas ramificações como veremos a seguir devem seguir as diretrizes do Conselho Federal de Medicina (ver anexo). Outra exigência importante é que todos os casais e pessoas envolvidas no tratamento devem receber informações detalhadas sobre o tratamento que estão para realizar e devem assinar um termo de consentimento pós-informado antes de iniciar cada tratamento.

Eclosão Assistida ou “Assisted Hatching”

Para que o embrião possa se implantar na superfície da cavidade uterina ele precisa se libertar da membrana que o envolve, a zona pelúcida. Provavelmente, este é o primeiro “parto” que passamos. Algumas pacientes, como aquelas com mais de 40 anos, podem apresentar esta membrana mais espessa, o que dificultaria a saída da zona pelúcida e a implantação. A eclosão assistida consiste na realização de um orifício através da utilização de substâncias químicas ou de Laser para facilitar a saída do embrião de dentro de sua “casca”. Não está cientificamente comprovado que esta técnica aumente as chances de gravidez e sua utilização deve ser discutida com a equipe médica.

Congelamento de embriões

É um procedimento comumente realizado quando existem embriões excedentes após uma tentativa de FIV ou ICSI, ou então, quando existe um risco importante de ocorrer a Síndrome de hiperestímulo ovariana; nesse caso todos os embriões são congelados e transferidos em um outro ciclo. Os embriões congelados de um ciclo anterior são transferidos sem necessitar de outra indução da ovulação e coleta cirúrgica dos óvulos. A transferência é feita através de um cateter colocado dentro da cavidade uterina, em uma data adequada que represente o melhor momento para o útero receber os embriões descongelados. Os embriões são congelados em nitrogênio líquido a - 196 °C podendo ficar congelados por longos períodos (FIGURA 17). Normalmente, as Clínicas que realizam o congelamento estipulam com os casais o tempo de congelamento e o que fazer em casos especiais de acordo com as diretrizes do Conselho Federal de Medicina para a prática da Reprodução Assistida (ver as diretrizes no apêndice).

Aproximadamente 60 a 70 % dos embriões permanecem viáveis após o processo de descongelamento. As taxas de gestações clínicas após este processo giram em torno de 15 a 20%. Os embriões que não apresentam qualidade suficiente para serem transferidos a fresco, não devem ser congelados.

A grande vantagem do congelamento é que a paciente não precisa passar por todas as etapas da FIV, que vão da aplicação diária de medicamentos até a retirada dos óvulos por ultrassom e sob anestesia. A paciente irá precisar utilizar uma medicação oral para preparar o útero para receber os embriões que resistirem ao processo de descongelamento. Este processo leva cerca de 30 dias, assim como o ciclo natural.

Congelamento de óvulos ou tecido ovariano

O primeiro nascimento com óvulos congelados ocorreu em 1984, mas muito poucos sucessos foram descritos desde então. O grande problema atual é que o óvulo congelado perde grande parte de sua capacidade de fertilização e os resultados de gravidez ainda são desencorajadores. Pesquisas estão em desenvolvimento para melhorar a capacidade do óvulo resistir ao processo e melhorar as chances de uma gravidez.

Este procedimento é recomendado para mulheres que correm o risco de perder a capacidade do ovário de produzir óvulos. Geralmente é indicado para preservar a fertilidade de mulheres em fase reprodutiva, ou então, de meninas antes da puberdade que vão se submeter a uma quimioterapia ou radioterapia. Outra indicação seria para aquelas mulheres que vão realizar uma retirada cirúrgica do ovário por causa de um câncer em um dos ovários. Geralmente existe um trabalho em conjunto entre os serviços de infertilidade e os serviços de oncologia.

O congelamento do tecido ovariano permite o congelamento de um fragmento de ovário contendo centenas de milhares de óvulos em seu estágio inicial, imaturo. No momento, é possível o congelamento de fragmentos ovarianos sem maiores problemas. Já o descongelamento com o posterior amadurecimento no laboratório (maturação *in vitro* de óvulos) ainda está em desenvolvimento e deverá trazer resultados em um futuro bem breve.

Uma vantagem deste procedimento é que as questões éticas e legais são muita mais simples, uma vez que se trata de gametas e não de embrião, com todas implicações que este último apresenta.

Apesar do congelamento de óvulos e/ou tecido ovariano ainda ser considerado como um *procedimento experimental*, ele deve ser considerado pelos médicos em qualquer caso onde exista uma probabilidade real de perda definitiva da fertilidade da mulher. Caberá ao paciente, e muitas vezes à sua família, juntamente com a equipe médica, a decisão sobre qual a melhor atitude a ser tomada frente a doenças muitas vezes devastadoras

Doação de óvulo

Esta modalidade de tratamento proporcionou que um grupo de mulheres pudesse gestar. São pacientes que apresentam uma falência ovariana precoce, isto é, antes dos 40 anos levando a um quadro chamado menopausa precoce. Outras, são pacientes que ainda apresentam óvulos mas incapazes de serem fertilizados *in vitro* ou de evoluírem para uma

gravidez. Algumas outras tiveram seus ovários retirados cirurgicamente por alguma razão médica ou foram submetidas a quimioterapia ou radioterapia para tratamento de câncer. Mais raramente temos mulheres com doenças genéticas com grande possibilidade de transmissão para os seus filhos.

O processo é, também, uma ramificação da fertilização in vitro. As doadoras são mulheres com menos de 32-34 anos e que se submetem a um tratamento hormonal para provocar uma super ovulação, isto é, produzir um número maior de óvulos. Quando estes óvulos estão maduros, eles são retirados por ultra-som transvaginal e levados para o laboratório (FIGURA 18). O parceiro da paciente que receberá os óvulos doados colhe o sêmen para realizar a fertilização in vitro. Para que a receptora possa receber os embriões formados, ela é submetida a um tratamento medicamentoso para preparar o endométrio e torná-lo adequado para o desenvolvimento de uma gravidez.

As doadoras podem ser: 1) pacientes de Fertilização In-Vitro que concordem em doar os oócitos excedentes. 2) irmãs e familiares das receptoras também são uma opção para doação de oócitos, mas neste caso realiza-se a doação cruzada. Nesta situação, duas mulheres trazem parentes para doar os óvulos e estes óvulos são utilizados em casais opostos, preservando o anonimato. 3) em alguns centros, pacientes que são submetidas à ligadura de trompas concordam em receber estimulação ovariana antes do procedimento cirúrgico, para que doem oócitos. 4) mulheres que voluntaria e altruisticamente concordem em doar oócitos. É interessante observar que o papel social das doadoras as transforma num grupo de mulheres de elite, que oferecem uma contribuição única para a resolução da infertilidade.

As doadoras devem submeter-se previamente a um protocolo de avaliação, que inclui uma avaliação psicológica, para se descartar distúrbios psiquiátricos e/ou emocionais importantes e uma avaliação médica completa que deverá incluir, entre outros, uma investigação de doenças infecto-contagiosas como sífilis, hepatite, AIDS. Deve-se realizar, também, uma avaliação sobre alterações genéticas na família da doadora. Procura-se obter a maior semelhança física possível entre doadora e receptora para se evitar problemas futuros.

Esta é uma das técnicas de concepção assistida com melhor resultado, cerca de 40% de gravidez por tentativa, sendo o único tratamento para mulheres incapazes de produzir óvulos. É importante dizer que a doação de óvulos é sempre anônima e não pode apresentar caráter comercial, isto é, uma paciente não pode contratar outra para doar seus óvulos. Qualquer tipo

de pagamento não pode ser feito, para que não haja nenhum tipo de caracterização de comercialização de tecidos humanos.

Útero de substituição

A gestação de substituição é um dos programas que traz consigo a possibilidade de ajuda a casais antes sem esperanças de ter descendentes genéticos. O primeiro relato da utilização desta técnica foi em 1985 . Esta técnica é conhecida popularmente como “barriga de aluguel”, termo inadequado por que não pode haver nenhum caráter comercial entre as pessoas envolvidas. Ao contrário da doação de óvulos, esse procedimento não deve ser anônimo, e sim realizado com parentes de 1º e 2º grau para se evitar ao máximo o risco da pessoa que gestou não entregar o filho para os pais biológicos.

As indicações para a realização da gestação de substituição referem-se aos casos de mulheres com problemas incorrigíveis da função uterina tais como malformações congênitas do útero ou mesmo ausência de formação; pacientes que tiveram seu útero removido cirurgicamente em fase reprodutiva (histerectomia); pacientes que apresentam alterações importantes da cavidade uterina tais como aderências importantes ou miomas múltiplos sem possibilidade de correção cirúrgica. Uma opção que se abre nos dias de hoje é a utilização do útero de substituição para qualquer problema médico grave que represente elevado risco de vida. Inclui-se neste grupo, pacientes com problemas cardíacos, renais ou pulmonares graves; quadros avançados de diabetes ou hipertensão arterial

O procedimento é o mesmo que a FIV. Os óvulos são fertilizados in vitro com o sêmen do parceiro e no momento da transferência dos embriões, estes são colocados no útero de uma segunda mulher.

O primeiro passo na condução da técnica de substituição é fazer uma adequada avaliação médica e psicológica dos indivíduos envolvidos no processo. Para a doadora temporária do útero é de grande importância a obtenção completo histórico médico incluindo minuciosa historia familiar, genética e obstétrica. Tendo em vista que a aceitação da gestação de substituição envolve a elaboração e reestruturação de conceitos como o de maternidade e o de família, o acompanhamento psicológico especializado para ambos, casal doador temporário do útero e casal infértil, é mandatório incluindo psicoterapia individual e em grupo.

Diagnóstico pré-implantação

É recomendado para casais que apresentam risco de transmitir doenças genéticas para seus futuros filhos. O procedimento é realizado antes de se transferir os embriões para o útero.

O casal realiza a FIV e por volta do 3º de cultivo no laboratório quando o embrião está na fase de 8 células, é retirado uma destas 8 células de cada embrião produzido; esta célula é examinada para saber se aquele determinado embrião apresenta algum problema; somente os embriões sem problemas são colocados dentro do útero. Por enquanto, apenas alguns problemas podem ser identificados, mas em breve técnicas para identificar muitos outros estarão disponíveis.

No Brasil, a única situação onde se pode escolher o sexo do futuro filho é quando existe uma doença genética ligada ao sexo. Neste caso, podemos identificar os embriões masculinos e femininos e só transferir os embriões do sexo que não apresenta uma determinada doença.

Complicações das Técnicas de Fertilização In Vitro

Todas as pacientes que se submetem a qualquer indução da ovulação correm um risco de desenvolver a Síndrome de Hiperestimulo Ovariano (SHO). Esta síndrome é um efeito secundário que a medicação para induzir a ovulação pode produzir. Quando induzimos a ovulação pretendemos recrutar um número maior de óvulos para melhorar a fertilidade. Algumas vezes, o ovário responde aos medicamentos de forma exacerbada produzindo uma quantidade exagerada de óvulos, que por sua vez produzirão uma quantidade anormalmente alta do hormônio estradiol. Pois bem, dependendo da reação de cada paciente, esta elevação hormonal pode levar a um quadro de aumento no tamanho dos ovários, acúmulo de líquido no abdome, náuseas e vômitos e diarreia. Este quadro pode ser diferente pois cada paciente reage de uma forma e dizemos que é uma reação idiossincrática.

Outra complicação que se tornou muito comum com as técnicas de fertilização in vitro é a gravidez múltipla. Naturalmente, a chance de se conceber durante um mês fértil é de cerca de 20 a 22%. No tratamento de FIV, para alcançarmos uma chance próxima desta, devemos transferir para o útero 3 a 4 embriões de boa qualidade. 70% das vezes só um embrião evolui (FIGURA 20); 25% das vezes dois embriões se desenvolvem (a chance de uma gravidez gemelar ocorrer espontaneamente é de 1 caso para cada 90 partos) (FIGURA 21); já a chance de 3 ou 4 se desenvolverem é de 5% (espontaneamente uma gravidez tripla ocorre a cada 8.000 partos e uma gravidez quadrupla ocorre a cada 700.000 partos). De forma objetiva, 1 em cada 4 nascimentos após FIV é gemelar.

Sequencia de eventos

- 1978: Nasce em Manchester – Inglaterra Louise brown, o Primeiro bebê de proveta do mundo.

- 1983: *Nasce o primeiro bebê de proveta no Brasil.*
- 1983: 1º nascimento utilizando óvulos doados.
- 1984: Nasce na Austrália o primeiro bebê após descongelamento de embrião.
- 1985: O primeiro nascimento após útero de substituição.
- 1987: Primeiro nascimento após a utilização de 1 óvulo congelado.
- 1989: *Nasce o primeiro bebê de proveta de Minas Gerais.*
- 1993: Primeira gravidez após ICSI.
- 1994: uma senhora de 62 anos dá a luz a um bebê após doação de óvulos.