CONIC SEMESP

15º Congresso Nacional de Iniciação Científica

TÍTULO: CRIOPRESERVAÇÃO EM REPRODUÇÃO HUMANA ASSISTIDA

CATEGORIA: CONCLUÍDO

ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

SUBÁREA: BIOMEDICINA

INSTITUIÇÃO: CENTRO UNIVERSITÁRIO DAS FACULDADES METROPOLITANAS UNIDAS

AUTOR(ES): ANA CAROLINE DOS SANTOS

ORIENTADOR(ES): SELMA CECILIA BOURROUL

Realização: SEMESP

Apoio: UNAERP Universidade de Ribeirão Preto Campus Ribeirão Preto - Campus Guarujá

RESUMO

O intuito desta revisão bibliográfica que aborda o tema criopreservação em reprodução humana assistida é descrever desde sua descoberta até os dias de hoje. O trabalho apresenta brevemente um pouco da historia da reprodução humana assistida e descreve como foco principal a criopreservação na área da reprodução e suas aplicações como: congelamento de sêmen, preservação da fertilidade masculina em casos de pacientes diagnosticados com câncer, coleta e criopreservação do sêmen antes do inicio do tratamento; também o desenvolvimento das técnicas de congelamento, a fundação do primeiro banco de sêmen e sua importância para a Reprodução Humana Assistida no Brasil. A revisão também descreve a criopreservação de embriões e de oócitos, uma vez que a preservação da fertilidade é muito discutida, pois grande parte das mulheres modernas pensam em trabalhar ter uma vida estável escolher o parceiro certo para depois formar uma família, mas pelo lado genético o ‘’depois’’ pode ser tarde para conceber uma criança de maneira fácil e natural, sabendo-se que após ao 35 anos ocorre diminuição na fertilidade feminina o que poderá dificultar o sucesso desta gestação, em questão falando-se em: preservação da fertilidade, o congelamento de oócitos.

INTRODUÇÃO

Alguns casais tornam-se pais inesperadamente, outros se planejam para isso outros têm sonhos de serem pais de conceber uma criança, enquanto uns fazem de tudo para evitar uma gravidez, outros fazem de tudo para que ela aconteça. Seria fácil e natural que todos conseguissem ter filhos concebidos com amor tranquilidade e prazer, mas infelizmente não é assim, quando se descobre a infertilidade ou a esterilidade, é preciso ter força, pois o processo pelo qual o casal passara para realizar o sonho de ter filhos não será fácil, a palavra “Infértil” mexe muito com o psicológico, é frustrante imaginar que não se pode procriar de modo natural, torna-se uma barreira na vida do casal. A reprodução humana assistida envolve conceitos pessoais, éticos e religiosos que com o passar dos tempos foi se encaixando no termo “normal” perante a sociedade, embora ainda seja um termo delicado em se

falar, mesmo com toda essa controvérsia muito casais procuram a reprodução assistida, seja para tentativa de engravidar quando para preservação da fertilidade, com o desenvolvimento das técnicas de criopreservação a postergação da gravidez se torna mais segura e confiante.

A infertilidade ou esterilidade pode- se da por diversos fatores, tanto de origem feminina quanto masculino, sendo eles: oligoospermia (Baixa concentração de espermatozoides), azoospermia (Ausência de espermatozoide), varicocele, fatores ambientais (fumo, álcool e sedentarismo), fatores imunológicos, obstrução na trompa, endometriose, idade (falência ovariana) causa não aparente etc. O diagnostico da causa da infertilidade que muitas vezes são mais de uma em um único parceiro, ajuda na escolha de qual técnica da reprodução assistida a ser aplicada.

A infertilidade atinge cerca de 8 a 10% da população e pode ser definida como a inabilidade de um casal na tentativa de concepção após um ano de tentativa, sem a utilização dos métodos contraceptivos (PASQUALOTTO, 2007).

A medicina reprodutiva tem passado por diversos avanços, desde a Inseminação Intrauterina de Espermatozoides (IIU) ate a Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI), com o foco no aumento da fecundidade implantação e desenvolvimento embrionário, no avanço dessas técnicas surgiram algumas que não apresentaram sucesso por diversos fatores: Dissecção Parcial da Zona Pelúcida (PZD) e Inseminação Subzonal de Espermatozoides (SUZI).

Com o passar dos tempos à medicina reprodutiva foi se aprimorando cada vez mais, até o surgimento do grande marco histórico em 1978, com o nascimento da Louise Brown o primeiro bebe nascido à partir da técnica de Fertilização In vitro (FIV). Em continuação do desenvolvimento das técnicas em 1992 surgiu a Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI) que até hoje apresenta grande sucesso nas taxas de fertilização de desenvolvimento embrionário.

O desenvolvimento de todas as técnicas da reprodução humana, fez com que se aborde um pouco mais sobre a técnica da criopreservação em reprodução, uma técnica que também vem passando por diversos avanços dentro da medicina reprodutiva, visando suas diferentes aplicabilidades.

A criopreservação é usada em reprodução assistida, para preservar a fertilidade, também proporciona a possibilidade de armazenamento de diferentes células envolvida no processo de fertilidade sendo esses: congelamento de sêmen, oócitos, embriões e tecidos gonadais, esses procedimentos fazem parte da reprodução assistida, nas ultimas três décadas (ALMODIM; COSTA, 2014).

OBJETIVO

O principal objetivo deste trabalho é descrever o desenvolvimento das técnicas de criopreservação em reprodução humana assistida, visando suas diferentes aplicabilidades na infertilidade, passando por estudos que levam desde as primeiras técnicas utilizadas ate as técnicas nos dias de hoje.

METODOLOGIA

Para realização deste trabalho sobre criopreservação em reprodução humana assistida, foram utilizados como método de pesquisa; livros, revistas relacionadas com o tema, diversos artigos científicos retirados de sites.

DESENVOLVIMENTO

O Termo Criobiologia, vem do grego que significa: Cryo=frio, bios= vida e logos= ciência, é uma área da biologia em que se estuda os efeitos de organismos vivo como: células, tecidos e organismo em baixa temperatura, os primeiro relatos da técnica criopreservação, surgiram ainda no período neolítico (Idade da pedra Polida), onde as pessoas procuravam alguma forma de conservar seus alimentos, relata-se que elas utilizavam do frio para manutenção e estocagem dos alimentos, eles utilizavam o local mais escuro e fresco da caverna para armazenagem, foram buscando melhoras sendo

assim utilizando seus primeiro crioprotetores: argila, mel, azeite, vinho, vinagre e a gordura, essa criopreservação, também há relatos desde 2.500 a.C, em que era utilizadas compressa gelada em fraturas no crânio e feridas, na medicina por volta de 400 a.C, Hipócrates para reduzir hemorragias e edemas utilizavas baixas temperatura, Barão Dominique, observou que poderia amputar membros congelados dos saldados, devido ao frio intenso provocando um efeito anestésico (ALMODIN; COSTA, 2014).

As técnicas existentes para congelamento de oócitos e embriões são: o congelamento lento, rápido, ultrarápido e a vitrificação. Basicamente a principal diferença entre essas técnicas se da pela velocidade do congelamento e nas diferentes concentrações de crioprotetores utilizados em cada uma delas (ALMODIN; COSTA, 2014).

Os mais utilizados hoje em são: o congelamento lento e a verificação, no congelamento lento pode se utilizar equipamentos adequados que iria permitir a programação da velocidade da perda de temperatura, que será especifica para cada tipo de célula, para a verificação parti de uma temperatura positiva próxima a zero e submergindo a amostra diretamente ao nitrogênio liquido em temperatura de – 196°C (SILVA, 2006).

Os processos de congelamento mesmo com o desenvolvimento das técnicas podem trazer implicação na viabilidade do material a ser criopreservado, variação muito intensa de temperatura pode interferir no transporte de água através da membrana celular, e fazer com que haja a formação de cristais de gelo e depósito de sais no interior da célula, para diminuir esses danos celulares e teciduais é importante a utilização dos crioprotetores, que são agentes com alta solubilidade e baixa toxicidade, que impede a formação de cristais de gelo no interior da célula, os componentes mais utilizados nos meios de criopreservação são: Dimetilsulfóxido, propanediol, etilenoglicol, glicerol e a sacarose (SILVA, 2006).

O estudo da criopreservação teve inicio por volta dos anos de 1776, quando foi observado que em baixa temperatura os espermatozoides

tornavam-se lentos e baixando a temperatura até que ele chegue ao estado de inativação, em 1938 foi observado que ao manter o sêmen armazenado em CO^2 em temperatura de -79 °C, sua sobrevivência era por longo período, a partir daí houve uma conclusão onde os espermatozoides sobreviveriam sob temperatura abaixo de -160°C (CIPRIANO; FREITAS, 2013)

A idéia de preservar no estado congelado um organismo vivo torna serealidade quando, por acidente, C. Polge fez a descoberta do glicerol no ano de 1948, ele observou a viabilidade de espermatozoides após congelá-los em uma temperatura de – 70°C foi utilizado neste estudo sêmen de touro (ALMODIN; COSTA, 2014).

Nas batalhas por volta de 1866, surgiu a ideia do banco de sêmen humano, para criopreservação de amostras dos homens mortos na guerra (CIPRIANO; FREITAS, 2013).

Ao longo dos anos esta técnica foi se revolucionando, incluindo a criopreservação de células e tecidos, Smith em 1950 aprofundou-se nas pesquisas com o objetivo de criopreservar eritrócitos de sangue humano, oque ajudou muito no desenvolvimento da criopreservação, por se descobrir a necessidade da utilização dos agentes crioprotetores (CASTRO ***et al***., 2011).

Com o avanço das técnicas de criopreservação, pode-se preservar a fertilidade exemplos em homens adultos com câncer, garantindo a possibilidade de paternidade biológica, mesmo que a azoospermia seja o resultado obtido pós o tratamento (ALVAGENGA **et al**., 2012).

Ocorreu na França o primeiro registro de solicitação para utilização de sêmen congelado após a morte, na época a opinião publicada foi favorável a mulher, pois o marido havia solicitado o congelamento da amostra seminal entes de iniciar o tratamento para o câncer que o levou a morte, foi feita Inseminação intrauterina técnica realizada com êxito (OLIVEIRA; JR, 2000)

Em caso de utilização do sêmen criopreservado após o falecimento do marido, é possível desde que haja autorização prévia especificas do falecido, para uso do material biológico de acordo com a legislação vigente (AVILA; SILVA, 2013).

O oncologista juntamente com o especialista em infertilidade tenta oferecer a melhor condição para um paciente diagnosticado com câncer, no sentido de preservar sua fertilidade, esse paciente possivelmente será encaminhado para que faça a criopreservação da amostra do sêmen, antes que iniciem os tratamentos químicose/ou radioterápicos (SCHUFFNER *et al*.; 2004).

Sabe se que nos dias de hoje temos etapas diferente dentro técnicas para criopreservação, sendo basicamente: exposição aos agentes crioprotetores, com o objetivo de permitir a difusão desses agentes nos componentes celulares, resfriamento com redução da temperatura (congelamento lendo ou vitrificação) pelo qual o material passa de temperatura ambiente para criogênica, preservando o material em temperatura ultrabaixo por tempo indeterminado (CASTRO et al.; 2011).

O primeiro caso de gestação utilizando-se oócitos criopreservados ocorreu em 1986, às taxas de sucesso com o congelamento de oócito até alguns anos atrás eram bem baixas por volta de 1% a taxa de gravidez, isso se dava por técnica de congelamento inadequado para os oócitos, por ser uma célula muito sensível e carregar uma quantidade de água dentro de si maior do que as outras células, atualmente com o desenvolvimento das técnicas de congelamento, essa taxa de gravidez já alça 20%. Criopreservação de óvulos acredita-se uma ótima alternativa para preservação da fertilidade da mulher (CAMBIAGHI; CASTELLOTTE, 2007).

As mulheres nascem com um numero limitado de oócito, que a partir da primeira menstruação vai eliminado gradativamente esses óvulos, até chegar na menopausa quando já não haverá tantos ovócitos disponíveis para serem fertilizados, o que colocar em risco a fertilidade da mulher, o

congelamento de ovócito oferece bons resultados para gravidez futura, a vantagem que se tem em congelar oócitos e não embriões é que são células, caso futuramente não for mas desejados poderá ser descartados (CAMBIAGHI; CASTELLOTTE, 2008).

A descoberta dos crioprotetores exemplo: o glicerol, que inicialmente era apenas aplicado para técnicas de criopreservação de sêmen em 1949, passou a ser utilizado também para criopreservação de embriões de origem humana na década de 80. O recurso a criopreservação de embriões foi imposto em 1983, no ano em que foi registrado a primeira gravidez e nascido vivo por transferência de embriões criopreservados na Austrália (PEREIRA, 2014).

A criopreservação de embriões proporciona para homens e mulheres que passam pelo processo de reprodução assistida, a oportunidade de armazenar os embriões excedentes do procedimento anterior, após realizando a transferência de embriões criopreservados sem a necessidade de estimulação ovariana novamente evitando desconforto, também a oportunidade de doar os embriões seja para casais ou para pesquisa (PEREIRA, 2014).

Segundo a resolução CFM n° 2.013/2013, as clinicas ou centros que prestam serviços da área de reprodução humana assistida têm a permissão de armazenar: ovócitos, embriões, espermatozoides e tecidos gonadicos dos seus pacientes. O numero total de embriões produzidos pelo laboratório será comunicado ao paciente, onde iram decidir o numero de embriões a serem transferidos respeitando o permitido por idade, caso haja embriões excedentes viáveis, obrigatoriamente serão criopreservados, no momento da criopreservação os pacientes deveram expressar suas vontades por escritor dando destino a esse embriões, quer em caso de divorcio, doenças graves ou falecimento de um deles ou ambos caso desejam doá-los, se os pacientes optarem pelo descarte dos embriões é permitido esse procedimento a partir do 5 ano de congelamento (AVILA; SILVA. 2013).

Para realização da técnica de criopreservação para tecido ovariano é necessário que seja feito uma laparoscopia ou minilaparotomia, onde será removido um ovário e o outro preservado. Será selecionado a parte do ovário que contem os oócitos, e cortado em varias finas do tecido e congelado a –196°C, congelamento feito pela técnica de vitrificação (MORAES, 2010)

Em 2014 houve o primeiro relato do nascimento de uma criança após a criopreservação de tecido ovariano com o autotransplante ortotópico, esse relato ocorreu na Bélgica, no Brasil foi observado com êxito na recuperação da fertilidade de ovelhas também de coelhas. Essa técnica foi se desenvolvendo sendo feito vários estudos bem sucedidos, um grupo de espanhol reportou o nascimento de gêmeos, em 2009 após o tratamento quimioterápico e criopreservação de tecido ovariano seguido de transplante (ALMODIN; COSTA, 20014).

Resultados

Não houve conflito de interesse, essa revisão mostra que nos dias de hoje muitos fatores que interferiam na qualidade de um embrião, oócitos, tecidos (ovariano ou testicular) ou sêmen criopreservado foram superados, graças a melhoria no desenvolvimento das técnicas e meios de cultivo.

Considerações Finais

A criopreservação é um ramo da medicina reprodutiva, que ajuda no resultado positivo de uma gravidez de varias formas, é de extrema importância essa técnica dentro da reprodução humana, suas aplicabilidades são completamente necessárias, essa técnica vem passando por diversos estudos e avançando cada dia mais, o desenvolvimento das técnicas e meios de cultivo ajudou muito para essa atuação nos dias de hoje.

A reprodução humana assistida e a porta para quem tem sonhos de conceber uma família que infelizmente por motivos naturais ou fatores ambientais não conseguem realiza-lo de maneira natural, esta revisão mostra

como a historia da criopreservação mudou, desde sua descoberta até os dias atuais, um ramo da reprodução que veio para aumentar as chances de uma gravidez, sabemos que hoje as taxas de gestação de transferência de embriões criopreservados não são muito diferentes das taxas de transferência a fresco, isso se deve a implantação da técnica de vitrificação e desenvolvimento na qualidade e aplicabilidade dos meios de cultivo para congelamento, o congelamento de embriões excedentes que facilita para um próximo procedimento evitando que a paciente passe por todas as etapas novamente, indução da medicação que causa desconforte a paciente, com o embriões já criopreservados evita-se tudo isso tornando o procedimento mais rápido e simples. A preservação da fertilidade tanto para homens quanto para mulheres, poderíamos dizer que seria umas das maiores vantagens da criopreservação.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMODIN, C.G.; COSTA, R.R.; **Criopreservação em reprodução**. Dental Press Ed.1° Ed.2014.288p**.**

ALVAGENGA, C.; CARDOSO, G.P.A.; COCCUZZA, S.M.; SROUGI, M. **Preservação da fertilidade em homens jovens com câncer:** Rev.Medv.-,pn.-,p.223-8, 2012 jul.-set.

AVILA,L.R.; SILVA,B.H.; GALLO,S.H.J. **RESOLUÇÃO CFM Nº 2.013/2013** Publicada no D.O.U. de 09 de maio de 2013, Seção I, p. 119.

CAMBIAGUI, S.A.; CASTTELOTE, S.D. **Preservação da fertilidade em pacientes com câncer:***Rev. Bras. Hematol. Hemoter***.**v.-,pn-,p.406-410, 2008.

CASTRO,V.S.; CARVALHO, A.A.; SILVA, G.M.C.; R.;L.V. **Agentes crioprotetores intracelulares: característica e utilização na criopreservação de tecidos ovarianos e oócitos**. 39(2): 957. Ceara 2011.

CIPRIANO, F.T.V.; FREITAS, C.V**. O impacto da criopreservaçao na qualidade seminal**: r e p r o d c l i m, v.-,pn.-,p.116-112, 2013.

MORAES, I.G. ***Preservação da fertilidade em pacientes portadoras de neoplasias malignas****. Rev. Med. Res. 2010;12(1):35-44.*

OLIVEIRA, A.C.D.; J.R.B.E **Reprodução assistida: até onde podemos chegar.** Gaia 1°ed.200.158p.

PASQUALOTTO, F. P. **Investigação reprodução assistida no tratamento da infertilidade masculina**. RevBrasGinecolObstet, v-,pn-,p.103-112,2007

PEREIRA, C.M.M. **Visões sobre a duração da criopreservação de embriões em utilizadores de procriação medicamente assistida**. Porto 2014

SCHUFFNER, A. *et.al.* **Criopreservaçao de gametas- uma esperançao para pacientes com câncer**. Revista Brasileira de Cancerologia 2004; 50(2): 117-1206

SILVIA, R.S.J.C.A**. Preservação da fertilidade:** VerBrasGinecolObstet, v.-,pn-,p.365-72, 2006.