

A SELEÇÃO DE GAMETAS MASCULINOS NA INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDE FISIOLÓGICA E MORFOLÓGICA

Gleice Sartorio

Nathalia Rizo Lacerda¹

Diogo Vivacqua de Lima²

RESUMO

A infertilidade é um problema que afeta um grande percentual de pessoas no mundo todo. Essa doença é resultante de outras alterações sistêmicas como doenças congênitas, infecções e fatores ambientais. Apesar do número expressivo de casais inférteis, novas tecnologias e procedimentos têm auxiliado na intervenção do homem no processo de procriação natural através da Reprodução Assistida, com o objetivo de possibilitar que pessoas com problemas de infertilidade satisfaçam o desejo de alcançar a maternidade ou a paternidade. Entre essas técnicas está a injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), uma técnica análoga à fertilização *in vitro* convencional, mas que seleciona apenas um único espermatozoide para a fecundação. A técnica de ICSI tem sido cada vez mais aprimorada e novos segmentos da técnica têm surgido como a injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados (IMSI) e injeção intracitoplasmática de espermatozoides fisiologicamente selecionados (PICSI). Essas técnicas têm se mostrado cada vez mais eficientes e promissoras: estudos têm mostrado altas taxas de gravidez e de natalidade e baixas taxas de abortos espontâneos. Tendo em vista a importância dessas técnicas para causas de infertilidade masculina grave, objetivou-se nesse estudo revisar as causas de infertilidade masculina e a técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides e as diferentes formas de seleção de espermatozoides (IMSI e PICSI).

Palavras-chave: Infertilidade Masculina. ICSI. IMSI. PICSI.

¹ Graduandas do curso de Biomedicina da Faculdade Multivix Cachoeiro de Itapemirim.

² Doutor em Fisiologia e Reprodução de Ruminantes pela Universidade Federal de Viçosa. Mestre em Fisiologia e Reprodução de Ruminantes pela Universidade Federal de Viçosa. Graduado em Medicina Veterinária pela Facastelo. Diretor Científico da Associação Capixaba dos Criadores de Nelore. Professor Universitário na Faculdade Multivix Castelo e Faculdade Multivix Cachoeiro de Itapemirim.

ABSTRACT

Infertility is a problem that affects a big percentage people in the world. This disease is due to other changes such as congenital systemic diseases, infections and environmental factors. Despite the significant number of infertile couples, new technologies and procedures have helped the human intervention in the natural breeding process by Assisted Reproduction, in order to enable people with infertility problems satisfy the desire to achieve motherhood or fatherhood. Among these techniques is intracytoplasmic sperm injection (ICSI), a procedure similar to conventional fertilization in vitro, but that selects only one sperm for fertilization. The ICSI technique has increasingly been enhanced and new technical segments have emerged as intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI) and intracytoplasmic sperm injection physiologically selected (PICSI). These techniques have proven to be more efficient and promising: Studies have high rates of pregnancy and birth and low rates of miscarriages. Given the importance of these techniques for severe male infertility causes, this study aimed to review the causes of male infertility and intracytoplasmic sperm injection technique and the different forms of sperm selection (IMSI and PICSI).

Keywords: Male Infertility. ICSI. IMSI. PICSI.

1 INTRODUÇÃO

A infertilidade humana afeta aproximadamente 15% dos casais no mundo (CRUZ, 2010). Pode influenciar negativamente o desenvolvimento psíquico da pessoa, do casal e muitas vezes da própria família, produzindo frustração. Se antigamente a infertilidade era considerada como sendo de responsabilidade feminina, atualmente é vista de outra forma, uma vez que o fator masculino é tão frequente quanto o feminino (SANTOS, 2010). A infertilidade masculina pode ser ocasionada por meio de uma doença única, mas também é comum encontrar diferentes fatores que, quando associados, levam a uma importante redução do potencial fértil.

Novas tecnologias e procedimentos têm auxiliado casais a alcançarem o sonho de gerar uma vida, entre as técnicas de alta complexidade destaca-se a injeção

intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) e segmentos dessa técnica: a injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfológicamente selecionados (IMSI) e a injeção intracitoplasmática de espermatozoides fisiologicamente selecionados (PICSI) (SILVA et al, 2012).

A técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides foi criada na década de 1990, antes disso, a medicina não dispunha de um método tão eficaz para tratamento da infertilidade masculina, desse modo, a inserção do ICSI revolucionou o seguimento de reprodução assistida e abriu novas oportunidades para pacientes com problemas de infertilidade grave. No entanto, logo observou-se as limitações dessa técnica, entre elas, a possível seleção de gametas com problemas morfológicos graves, como a presença de vacúolos, mas que não visualizados no aumento usado na ICSI. Desse modo, mais tarde chega a ICSI de alta magnificação, a IMSI, que permite detectar alterações morfológicas mais precisamente, utilizando um microscópio com um sistema de aumento muito maior. A seleção com base na morfologia do gameta, no entanto, não refletia sua funcionalidade, logo, desenvolveu-se uma forma de verificar a real capacidade do espermatozoide em fecundar, através de sua capacidade de ligação com ácido hialurônico, surge a PICSI.

Objetivou-se nesse estudo revisar as formas de seleção de gametas masculinos com base em critérios morfológicos (ICSI e IMSI) e fisiológicos (PICSI) a fim de verificar o procedimento mais eficaz. Como objetivo específico pretendeu-se: caracterizar a infertilidade humana visando explorar notadamente a infertilidade masculina. Poucos estudos revisam essas técnicas de seleção no Brasil, assim, esse trabalho contribui fornecendo um material de pesquisa sobre o tema.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Anatomia dos Testículos

Os testículos são os órgãos produtores de espermatozoides, sendo que a partir da puberdade produzem também hormônios, que são responsáveis pelo aparecimento dos caracteres sexuais secundários. São em número de dois, ovoides, facilmente

palpáveis dentro da bolsa que os aloja, o escroto, onde o esquerdo está em geral em um nível inferior ao direito. É revestida por uma membrana fibrosa túnica albugínea (DANGELO; FATTINI, 2004).

São formados na cavidade abdominal e durante o desenvolvimento fetal descem da direção do escroto, para ocupá-lo definitivamente, o que ocorre em geral até o 8º mês da vida intrauterina (DANGELO; FATTINI, 2004).

2.2 Morfologia do Espermatozoide

Um dos parâmetros habitualmente avaliado no espermograma é a morfologia que implica a análise da normalidade estrutural do espermatozoide (BARBOSA, 2009). Os gametas também podem ser chamados de células sexuais que possuem metade do número de cromossomos e por isso eles são células haplóides (n) especializadas e são produzidos por meiose, os gametas femininos e masculinos durante a fecundação se fundem formando assim um ovo ou zigoto, que conforme vai se desenvolvendo recebe o nome de embrião e com o passar do tempo acarretará em um feto (BARBOSA, 2009).

A produção dos gametas ocorre nas gônadas. E a esse processo chama-se de gametogênese (ou espermatogênese). Tem duração de cerca de 64-74 dias, portanto, após algum tratamento, só veremos resultados no espermograma cerca de três meses depois. A espermatogênese ocorre nos túbulos seminíferos dos testículos e divide-se em quatro fases: Multiplicação, Crescimento, Maturação e Diferenciação ou Espermiogênese (Figura 1) (BARBOSA, 2009).

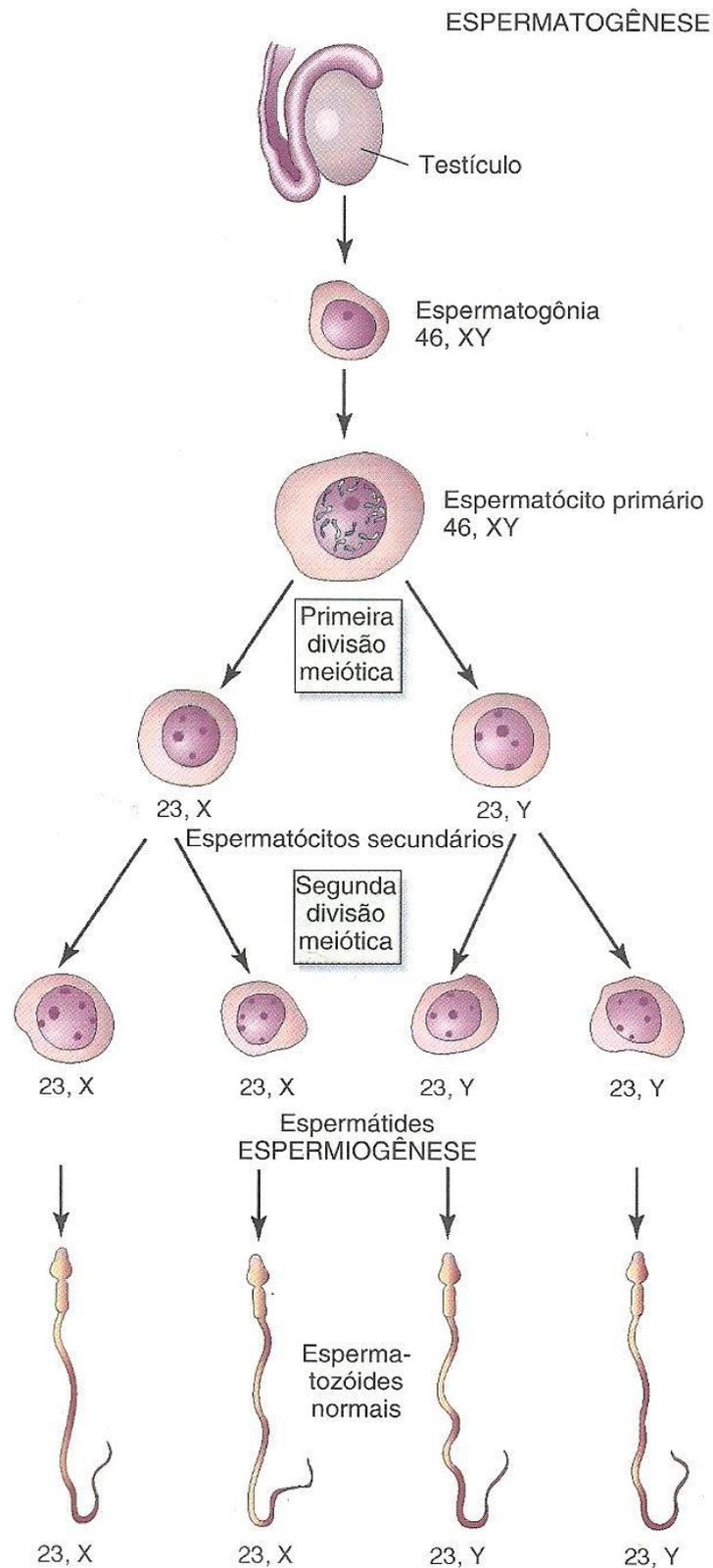


Figura 1: Processo de espermatogênese
 Fonte: Moore et al, 2008

O espermatozoide utiliza-se de uma estrutura chamada de flagelo para auxiliar na

sua locomoção, o qual é chamado de cauda. Enquanto o espermatozoide se locomove, o óvulo não se movimenta por si só. O espermatozoide é formado por cabeça, cauda ou flagelo. A sua cabeça é constituída de núcleo, que é o local onde fica armazenado o material genético fazendo com que as características do filho sejam parecidas com a do pai. Um espermatozoide normal possui uma cabeça oval, com um contorno normal e uma capa acrossomica que cubra mais de um terço da superfície da cabeça (FIGURA 2) (BARBOSA, 2009).

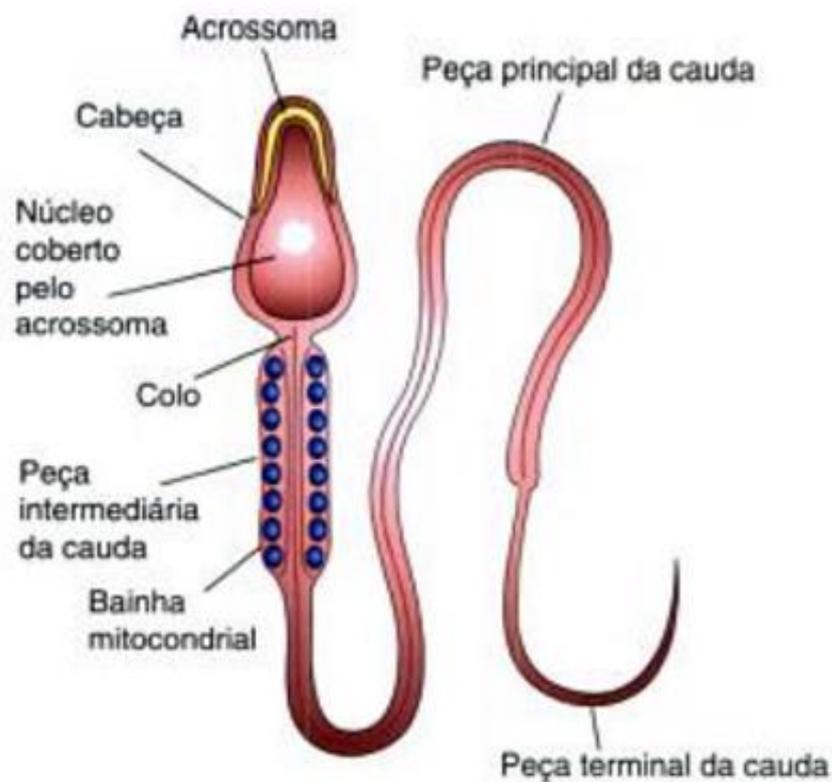


Figura 2: Morfologia do espermatozoide

Fonte: Moore et al, 2008

2.3 Infertilidade Masculina

O sistema reprodutor é composto por vários órgãos responsáveis pela produção e maturação dos gametas femininos e masculinos (GUYTON, 1998; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2012). Para que a fecundação ocorra é necessário que todos estes órgãos estejam em perfeito funcionamento. A fertilidade, isto é, a capacidade de produzir células viáveis e capazes de produzir fecundação, depende de todos esses fatores, todos esses órgãos funcionando (SADLER, 2005). Contudo, em muitos

casos, há um desequilíbrio homeostático, causado por algum problema, e não há a produção de células capazes de fecundar.

A infertilidade é uma doença caracterizada pela incapacidade de um casal obter uma gravidez ou o nascimento de um bebê vivo, após um ano de relações sexuais regulares (SANTOS 2010). Estima-se que 15 a 30% dos casais de todo o mundo sofram com problemas relacionados à infertilidade (SADLER, 2005). Cerca de 40% das causas de infertilidade são de fatores relacionados ao sistema reprodutor masculino (MUNDT; SHANAHAN, 2012).

A infertilidade masculina pode ser ocasionada por múltiplos fatores, Pasqualotto (2007) destaca três fatores genéticos mais frequentes relacionados à infertilidade masculina: aberrações cromossômicas, mutações gênicas e microdeleções do cromossomo Y; há ainda fatores ambientais como as promovidas pela quimioterapia, radioterapia, traumas, uso de entorpecentes e varicocele, que podem afetar a espermatogênese e comprometer o processo reprodutivo. As causas são divididas em: testiculares, resultado de doenças dos testículos propriamente ditos como a varicocele, substâncias tóxicas, criptorquidismo, problemas genéticos, quimioterapia, radioterapia e infecções; pré-testiculares provocada por alterações externas ao sistema reprodutor masculino, que interferem no eixo hipotálamo-hipofisário, são alterações hormonais que mexem no funcionamento do testículo, como hipotireoidismo, diabetes, tumores produtores de androgênios; e pós-testiculares que são problemas que impedem a saída de espermatozoides na ejaculação, são as obstruções ou a ausência do canal deferente, dificuldades de ejaculação, disfunção sexual e ejaculação retrógrada (ROSENBLATT et al, 2010).

Alterações na glândula hipófise que promovem aumento ou diminuição da secreção da glândula também são definidas como causas pré-testiculares. Neoplasias, infecções e doença granulomatosa pode alterar a atividade da glândula. Pacientes submetidos a transfusões sanguíneas, como portadores de anemia hemolítica, tendem a sofrer alterações na glândula pelo excesso de ferro que pode se depositar no tecido (PASQUALOTTO, 2007; ROSENBLATT et al, 2010).

A varicocele é a principal causa de infertilidade masculina, essa doença caracteriza-

se pelo comprometimento da drenagem das veias e consequente dilatação das veias do plexo pampiniforme. Essa dilatação leva ao acúmulo de sangue quente na bolsa escrotal, o que leva ao acúmulo de radicais livres levando à oxidação lipídica e fragmentação do DNA dos gametas (ALVARENGA, 2013).

As causas pós-testiculares são problemas que afetam o transporte de espermatozoides, o que pode ser por causas congênitas ou adquiridas. Entre as patologias congênitas estão o bloqueio congênito do sistema ductal e fibrose cística. Infecção é a principal causa de bloqueio do sistema ductal adquirido, entre as principais infecções relacionadas estão à gonorreia, tuberculose, varíola e clamídia (ROSENBLATT et al, 2010; FONSECA; MACEDO, 2015). A tabela 1 reúne as principais causas de infertilidade masculina.

TABELA 1 - FREQUÊNCIA DE SURGIMENTO DE FATORES DE INFERTILIDADE MASCULINA

ETIOLOGIA	%
VARICOCELE	20 - 40
INFECÇÃO	15
OBSTRUÇÃO	10
CRIPTOQUIDIA	5 - 10
HORMONAL	5
IMUNOLÓGICO	5
GENÉTICO	5
IDIOPÁTICO	25

Fonte: Neves, 2002

Após o insucesso na obtenção de uma gravidez, a verificação da infertilidade masculina deve ser feita. Algumas avaliações clínicas devem ser realizadas no início. O espermograma é o primeiro exame a ser realizado, pois é de baixo custo e fornece informações quantitativas e qualitativas do sêmen (FEIJÓ; ESTEVES, 2012). A partir do espermograma podem-se obter informações sobre funcionamento da glândula prostática e vesícula seminal, presença de infecções e sobre a quantidade, morfologia e motilidade dos gametas masculinos. As principais alterações no espermograma são a oligozoospermia (redução no número de espermatozoides inferior), astenozoospermia (motilidade inadequada) ou teratozoospermia (espermatozoides com morfologia anormal). (FIGURA 3) (STRASINGER;

DILORENZO, 2009; MUNDT; SHANAHAN, 2012).

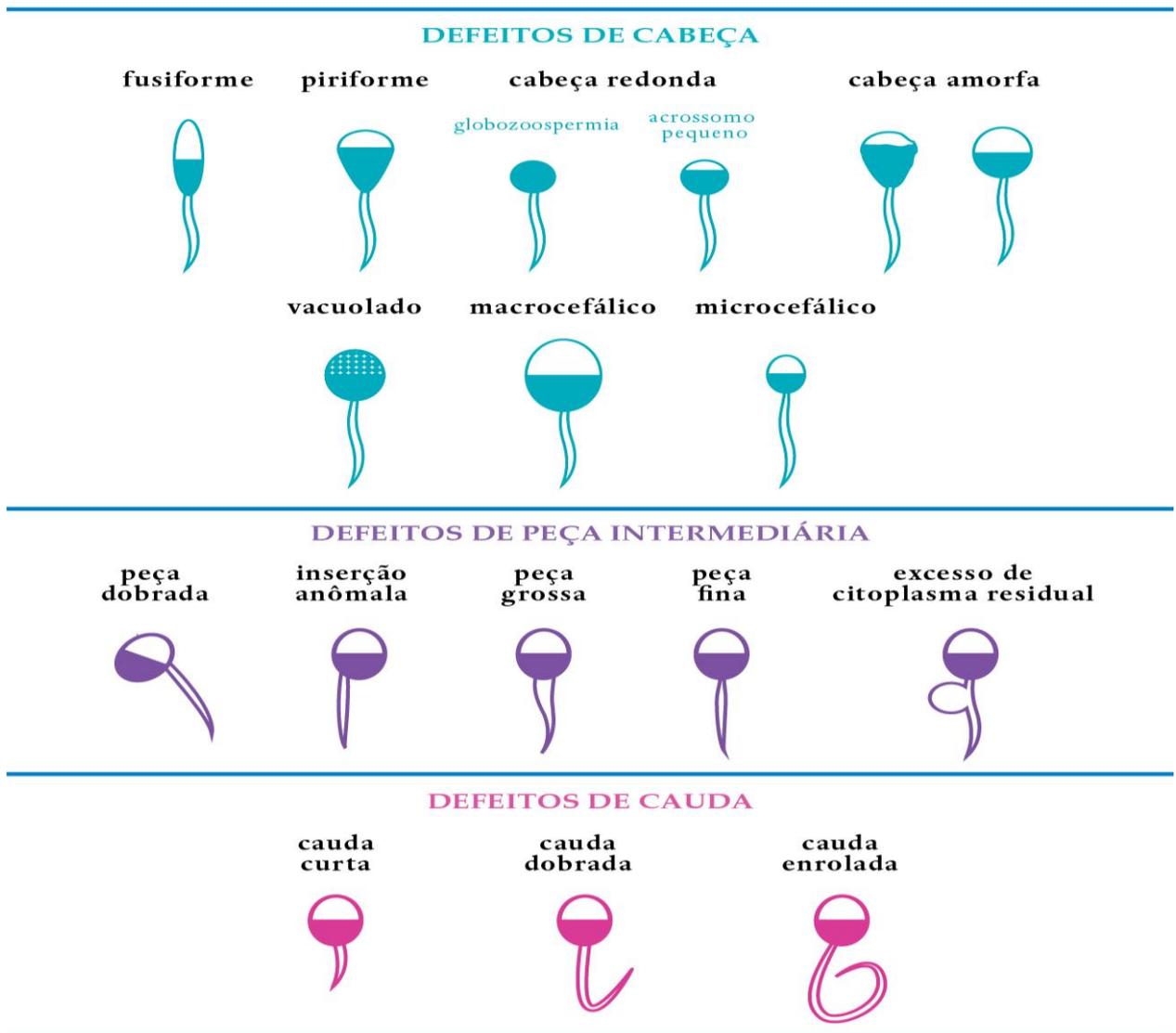


Figura 3: Alterações do espermatozoide no espermograma

Fonte: Centro de Reprodução Humana do Instituto Paulista de Ginecologia e Obstetrícia, acesso em 05 out. 2015.

Tradicionalmente, o diagnóstico de infertilidade masculina depende de uma avaliação descritiva dos parâmetros do ejaculado, com ênfase na concentração, motilidade e morfologia dos espermatozoides. Acreditava-se que a análise seminal era o teste considerado padrão ouro para avaliar a capacidade fértil do homem; entretanto, pesquisas mostram que mais de 80% dos homens inférteis possuem concentrações espermáticas que excedem os valores de normalidade da Organização Mundial da Saúde (OMS) (TABELA 2). Desta forma, é necessário enfatizar que a análise seminal não é um teste de fertilidade. A avaliação de

fertilidade é um fenômeno complexo e multifatorial que envolve a avaliação do casal. (PASQUALOTTO, 2007)

TABELA 2 - VALORES DE NORMALIDADE DO ESPERMOGRAMA

	COMO ERA	COMO FICOU
PARÂMETROS SEMINAIS	1999	2010
TEMPO ABSTINÊNCIA SEXUAL (DIAS)	2 a 5	2 a 7
CONCENTRAÇÃO (M/ml)	≥ 20	≥ 15
CONCENTRAÇÃO TOTAL (M/EJACULADO)	≥ 40	≥ 39
VOLUME (mL)	≥ 2,0	≥ 1,5
MOTILIDADE TOTAL (PROGRESIVOS E NP)	≥ 60	≥ 40
MOTILIDADE (SPTZS PROGRESSIVOS)	≥ 50	≥ 32
VITALIDADE (%)	> 75	≥ 58
MORFOLOGIA DE KRUGER (%)	> 14	≥ 4

Fonte: Organização Mundial da Saúde, apud Centro de Reprodução Humana do Instituto Paulista de Ginecologia e Obstetrícia, acesso em 05 out. 2015.

Outros exames complementares podem ser realizados para investigação da causa de infertilidade, como a pesquisa de anticorpos anti-espermatozoides, dosagens de hormônios como FSH, LH, prolactina e testosterona, ultrassonografia transretal que permite a detecção de obstruções nos ductos, ultrassonografia escrotal, que avalia a anatomia testicular, vasografia e testes da função espermática (ROSENBLATT et al, 2010). (Tabela 3)

TABELA 3: EXAMES PARA PESQUISA DE CAUSAS DE INFERTILIDADE

Pesquisa Básica	
EXAME	INDICAÇÃO
Espermograma Capacitação espermática Espermocultura	Todos os casos
Pesquisa Avançada	
EXAME	INDICAÇÃO
Avaliação de bolsa escrotal - Exame Físico e ultrassom de bolsa escrotal	Qualquer alteração seminal
Avaliação hormonal -FSH, LH , prolactina, estradiol, SDHEA, androstenediona, testosterona total e livre	Qualquer alteração seminal
Fragmentação do DNA dos Espermatozoides	Idade Avançada Hábitos Inadequados Alteração da morfologia dos espermatozoides Falha de tratamento anterior Aborto Recorrente
Cariótipo com Banda G	Oligospermia severa Azoospermia Falha de tratamento anterior Aborto Recorrente
Microdeleção do Cromossomo Y	Oligospermia severa Azoospermia não obstrutiva
Pesquisa de Fibrose Cística	Azoospermia obstrutiva por agenesia do ducto deferente
Biópsia testicular	Indicada pelo urologista em situações especiais de azoospermia

Fonte: Organização Mundial da Saúde, apud Centro de Reprodução Humana do Instituto Paulista de Ginecologia e Obstetrícia, acesso em 05 out. 2015.

A partir do diagnóstico clínico o paciente é aconselhado a realizar uma técnica de reprodução assistida. Atualmente, dispõe-se de inúmeras técnicas como fertilização in vitro, inseminação artificial, contudo, atualmente, a técnica mais recomendada em casos graves é a injeção intracitoplasmática de espermatozoides, que será melhor detalhada a seguir (SANTOS 2010).

3.2 Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides: conceito e aplicações

A injeção intracitoplasmática de espermatozoides é uma técnica análoga à

fertilização in vitro, contudo, nessa técnica apenas um espermatozoide é selecionado e inserido no ovócito, ultrapassando a corona radiata, zona pelúcida e oolema, o que aumenta as taxas de fecundação. O ICSI é uma técnica muito promissora, uma vez que é capaz de solucionar os problemas de infertilidade de um grande número de casais, em que a quantidade ou a motilidade dos espermatozoides é reduzida significativamente (SANTOS, 2010).

A injeção intracitoplasmática tem um custo mais elevado, porém comparada a outras técnicas, tem um baixo índice de complicações, como gestações múltiplas e síndrome da hiperestimulação ovariana e têm altas taxas de sucesso na fecundação e implantação, as taxas de gestação variam 30% a 90%, o que é muito superior a outros métodos em reprodução humana assistida (SANTOS, 2010).

A morfologia e motilidade dos espermatozoides podem variar por problemas genéticos e também pela idade: a qualidade do sêmen decai à medida que aumenta sua idade devido a alterações em sua morfologia (SILVA et al, 2012).

Para execução da técnica, o espermatozoide é colhido do ejaculado, do testículo, do epidídimo ou do parênquima testicular, através de biópsia. Esses gametas são selecionados individualmente com base em sua morfologia e motilidade, para tanto são visualizados em microscópios óticos com um aumento de 400 vezes. Após a seleção o espermatozoide é manipulado através de microagulhas que permitem a imobilização deste. Este procedimento ocorre dentro de um micromanipulador que fica acoplado a um microscópio, a membrana torna-se permeável e o núcleo é exposto ao ooplasma, desse modo, há a fecundação e formação do pronúcleo masculino, em seguida, há formação do pronúcleo feminino, após liberação do corpúsculo polar (TAKEUCHI et al, 2004; SANTOS, 2010).

A ICSI é indicada, principalmente, para pacientes com problemas severos no espermograma como oligozoospermia, astenozoospermia e algumas anormalidades morfológicas. Essa técnica não é afetada por fatores como baixa concentração e/ou baixa motilidade (KOSAKA et al, 2007; SANTOS, 2010). É indicada para pacientes com altos níveis de anticorpos anti-espermatozoide, distúrbios na ejaculação, como a ejaculação retrógrada, obstrução dos canais e homens que se submeteram à

vasectomia. Estudos demonstram que a injeção intracitoplasmática de espermatozoides tem se mostrado eficaz no tratamento da infertilidade masculina grave (PASQUALOTTO, 2007).

A seleção utilizando apenas os critérios de motilidade e morfologia torna a técnica um tanto limitada, pois não permite a detecção de problemas morfológicos mais graves e não refletem a funcionalidade do gameta e sua habilidade em fertilizar o ovócito (BERKOVITZ et al., 2004). Em estudo realizado por Lopes et al (1998), foi observado que a técnica permite a seleção de espermatozoides com alta taxa de DNA fragmentado, o que contribui para o insucesso da fertilização e implantação. Sendo assim, novas técnicas têm sido desenvolvidas e aprimoradas com a finalidade de preencher esses espaços.

3.3 Injeção de Espermatozoides Morfollogicamente Selecionados

Na ICSI a seleção do espermatozoide é realizada com base na morfologia dos espermatozoides, portanto, algumas anormalidades morfológicas não são detectadas podendo gerar embriões com baixo potencial de implantação, além disso, o processo de fertilização, qualidade do embrião e formação do blastocisto são afetados negativamente por anormalidades morfológicas (WILDING et al, 2011; ANTINORI, 2012). A injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfollogicamente selecionados (IMSI) preenche essa lacuna deixada pela ICSI.

A IMSI conhecida também como injeção intracitoplasmática de espermatozoides de alta magnificação ou Super ICSI é uma técnica que seleciona criteriosamente os gametas com base em sua morfologia. Para isso, um microscópio com um conjunto de lentes que permitem um aumento maior que 6.000 vezes é utilizado, diferente da ICSI que usa um aumento de 400X que não permite a identificação de algumas anormalidades morfológicas (GONZÁLEZ et al, 2010; SERMONDADE et al, 2011).

A morfologia do espermatozoide é vista detalhadamente o que permite a seleção de um gameta ideal, com maiores chances de fecundar e levar o embrião ao desenvolvimento (NADALINI et al, 2009). As anormalidades morfológicas e a fragmentação do DNA são identificadas com precisão (SIMON; CARRELL, 2012).

A ampliação permite a detecção de gametas com vacúolos, como mostra a figura 4. Há ainda controvérsias sobre as consequências da fertilização de um espermatozoide com vacúolos e o desenvolvimento do embrião, contudo, alguns estudos sugerem que a fertilização de espermatozoides com vacúolos provocar danos moleculares que levam à remodelação da cromatina durante a maturação, provocando danos ao DNA do gameta (NADALINI, et al., 2009).

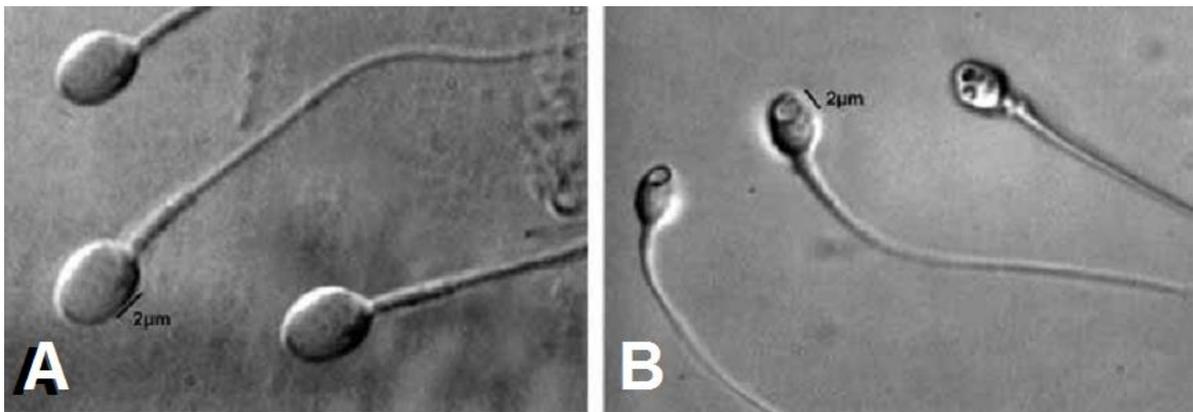


Figura 4: Morfologia dos espermatozoides observados em alta magnificação (8.450 vezes)
Em A espermatozoides normais. Em B espermatozoides com vacúolos.

Fonte: Silva et al, 2010.

A IMSI difere-se da ICSI convencional não apenas pelos critérios de seleção, mas também pela manipulação. Neste processo a manipulação é mais prolongada, e o espermatozoide é preparado de forma diferente: as placas são diferentes e o espermatozoide é armazenado antes da injeção, entre outros (SIMON; WILCOX; CARRELL, 2012).

O equipamento utilizado na avaliação consiste em um microscópio constituído por múltiplas lentes com diferentes aumentos e um seletor de magnificação que permite um aumento muito maior. Todo o sistema é acoplado a um monitor que promove um aumento. A imagem produzida pelo gradiente ótica e a imagem gerada é monocromática e em três dimensões (ANTINORI, 2012).

A eficiência do IMSI é comprovada: a aplicação do IMSI permite a obtenção de blastocistos com melhor qualidade e com maior potencial para implantação como

mostra a figura 5 (VANDERZWALMEN et al, 2012). González et al (2010) avaliando a eficácia da injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados em pacientes com insucessos com o ICSI, obteve uma taxa de gravidez maior do que na técnica convencional (63 vs.50%). A IMSI também apresentou melhor taxa de implantação (44,8% vs. 29,7%).

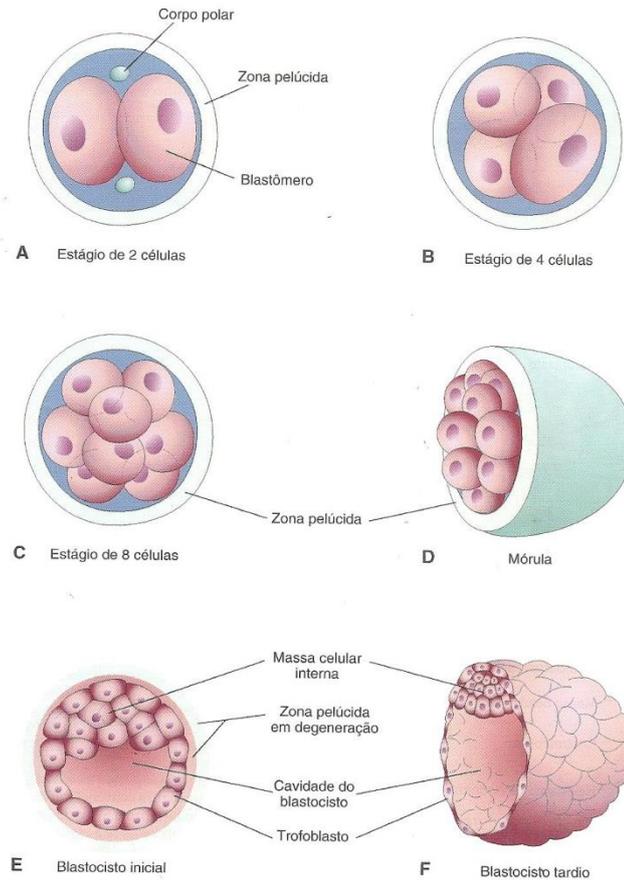


Figura 5: Blastocisto

Fonte: Moore et al, 2008

Em outro estudo realizado por Berkovitz et al (2004) houve maiores taxas de gravidez e menores taxas de aborto em pacientes submetidas à IMSI, quando comparadas aos submetidos à ICSI convencional. Antinori et al (2008) obteve os mesmos resultados em estudo similar. Sermondade et al (2011) obteve resultados satisfatórios em pacientes com globozoospermia, condição na qual 100% dos espermatozoides possuem a região da cabeça redonda, concluindo que a técnica pode ser usada em pacientes com essa disfunção.

O IMSI é indicado para homens com alterações morfológicas importantes no espermatozoide como vacúolos nucleares que estão associados à cromatina não condensada e espermatozoides com fragmentação do DNA, aneuploidia nos gametas (GAROLLA et al, 2008); insucesso em tratamentos anteriores de FIV, altas taxas de fragmentação do DNA dos espermatozoides e abortos repetidos.

3.4 Injeção de Espermatozoides Fisiologicamente Selecionados (PICSI)

Nas técnicas de ICSI e IMSI, os espermatozoides eram selecionados baseados em sua morfologia, contudo, esses critérios de seleção não refletem a integridade genômica e a maturidade do espermatozoide. A seleção de gametas geralmente é realizada baseada em critérios morfológicos e na motilidade espermática, contudo, selecionar o espermatozoide com base em suas características funcionais pode resultar na seleção de um gameta mais apropriado propiciando resultados mais satisfatórios (NASR-ESFAHANI; MARZIYEH, 2013).

A injeção de espermatozoides fisiologicamente selecionados (PICSI ou HA-ICSI) é um método que seleciona os espermatozoides com base em seu nível de maturação (SBRH, 2013). Os espermatozoides selecionados são aqueles que conseguem se ligar ao ácido hialurônico. O ácido hialurônico compõe a matriz extracelular do cumulus ooforus que recobre o ovócito, ele tem um papel muito importante na seleção fisiológica dos espermatozoides, pois atua como uma barreira permitindo a passagem de espermatozoides com receptores específicos que conseguem se ligar e digerir o ácido hialurônico e deste modo, penetrar a zona pelúcida e fertilizar o ovócito (PARMEGANI et al, 2010; SEUNG et al, 2012).

Espermatozoides maduros conseguem se ligar ao ácido hialurônico e realizar as etapas posteriores, espermatozoides imaturos, no entanto, não possuem os receptores específicos e possuem altos níveis de creatina quinase e outras enzimas citoplasmáticas que promovem a peroxidação lipídica e, conseqüentemente, a fragmentação do DNA (PARMEGANI et al, 2010). Os espermatozoides maduros possuem maior maturação nuclear, menores fragmentação do DNA, baixas aneuploidias que consistem em alterações no número de cromossomos, como monossomias, dissomias e trissomias, devido à distribuição cromossômica errônea

durante a meiose e boa morfologia nuclear, portanto, oferecem menores riscos de doenças genéticas por desbalanceamento cromossômico, quando comparado a outras técnicas (PARMEGIANI et al, 2010; SBRH, 2013).

A seleção de espermatozoides maduros é realizada em uma placa de petri que mimetiza o momento de ligação do espermatozoide no ovócito. Para isso, as placas de Petri contêm microgotas de ácido hialurônico, os espermatozoides são preparados e incubados nessas placas a 37°C por, em média, 15 minutos (PARMEGIANI et al, 2010). Os espermatozoides que conseguem se ligar ao ácido são selecionados e inseridos no ovócito como na ICSI convencional.

Muitos estudos têm demonstrado a eficiência dessa técnica (SEUNG et al, 2012). Mokánszki et al (2014) comparou a eficiência de PICSÍ com o ICSI convencional e observou taxas de fertilização, implantação e natalidade maior em pacientes submetidos à PICSÍ. A taxa de aborto foi significativamente maior em pacientes submetidos ao ICSI convencional. Também nesse estudo, foi observada correlação entre a concentração de espermatozoides e capacidade de ligação ao ácido hialurônico.

Em estudo realizado por Azevedo et al (2013), as técnicas de ICSI e PICSÍ foram comparadas. No estudo dez casais foram submetidos às técnicas de ICSI e PICSÍ. A ICSI apresentou uma taxa de gravidez de 20% e uma taxa de aborto de 100%. Já a PICSÍ foi observada uma taxa de gravidez de 80% e uma taxa de aborto de 12,5%. O estudo levou à conclusão também que a PICSÍ pode aumentar a taxa de gravidez e diminuir a taxa de aborto mesmo em casais com idade mais avançada. Parmegiani et al (2010a) comparando as duas técnicas observou que pacientes submetidos à PICSÍ apresentaram embriões com maior qualidade e implantação.

A PICSÍ é indicada principalmente para pacientes que obtiveram resultados ruins na ICSI, histórico de desenvolvimento de embriões de baixa qualidade, altas taxas de fragmentação do DNA. Para pacientes com número limitado de ovócitos e pacientes com alta taxa de fragmentação nuclear (PARMEGIANI et al, 2010).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Buscando reduzir a infertilidade masculina, a seleção de gametas masculinos na injeção intracitoplasmática de espermatozoide fisiológica e morfológica mostrou-se eficiente nos dois métodos.

5 REFERÊNCIAS

ALVARENGA, G.M. Replication stress and cancer: a review. **Anais do Congresso de Iniciação Científica do Centro Universitário do Distrito Federal**, 2013.

ANTINORI, M. in: GARDNER, D.K; WEISSMAN, A; HOWLES, C.M; SHOHAM, Z. **Textbook of assisted reproductive techniques**. 4 ed. Volume 1. 2012.

ANTINORI, M; LICATA, E; DANI, G; CERUSICO, F; VERSACI, C; D'ANGELO, D; ANTINORI, S. Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection: a prospective randomized trial. **Reproductive BioMedicine**. v.16, n. 6, p. 835–841, 2008.

AZEVEDO, A.C. et al. Comparison conventional PVPICSI vs HAPISCI: is there significant improvement in pregnancy rate? **Fertility and Sterility**. v.100, n. 3, p. 1328, 2013.

BARBOSA, F.F DA S. **Influência dos antioxidantes na qualidade do sêmen de homens em tratamento de fertilidade**. Dissertação. Instituto Valenciano de Infertilidad – Lisboa, 2009.

BERKOVITZ, A; ELTES, F; YAARI, S; KATZ, N; BARR, I; FISHMAN, A; BARTOOV, B. The morphological normalcy of the sperm nucleus and pregnancy rate of intracytoplasmic injection with morphologically selected sperm. **Hum. Reprod**. v. 20, n. 1, p.1851-1890. 2004.

CENTRO DE REPRODUÇÃO HUMANA DO INSTITUTO PAULISTA DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA. Fertilidade do homem. s.d. Disponível em: <<http://www.ipgo.com.br/infertilidade-masculina/>>. Acesso em 05 out. 2015.

CRUZ, JP. **Fatores genéticos na infertilidade masculina**. Dissertação. Universidade do Porto. Viana do Castelo, 2010.

DANGELO, J.G; FATTINI, C. **Anatomia humana sistêmica e segmentar para o estudante de medicina**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

FEIJÓ, C.M.; ESTEVES, S.C. **Métodos diagnósticos: consulta rápida**. 2. ed. São Paulo: Artmed, 2012.

FONSECA, R.P; MACEDO, L.C. Varicocele: a principal causa de infertilidade masculina. **Revista Saúde e Pesquisa**. v. 8, n. 1, p. 167-174, 2015.

GAROLLA, A.; FORTINI, D.; MENEGAZZO, M.; DE TONI, L.; NICOLETTI, V.;

MORETTI, A., et al. High-power microscopy for selecting spermatozoa for ICSI by physiological status. **Reproductive Biomedicine Online**, n.17, p. 610–616, 2008.

GONZALÉZ, C. et al, Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI) vs intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in patients with repeated ICSI failure. **Ginecol Obstet Mex.** v.78, n.12, p.652-659, dec. 2010.

GUYTON, AC. **Fisiologia humana**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

JUNQUEIRA, LCV; CARNEIRO, J. **Histologia básica texto e atlas**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012

KOSAKA, K; FUJIWARA, H; YOSHIOKA, S; FUJII, S. Vascular endothelial growth factor production by circulating immune cells is elevated in ovarian hyperstimulation syndrome. **Hum Reprod.** n. 22, p. 1647-1651, 2007.

LOPES, S. et al. Sperm Deoxyribonucleic Acid Fragmentation is Increased in Poor-Quality Semen Samples and Correlates with Failed Fertilization in Intracytoplasmic Sperm Injection 1. **Fertility and Sterility**. v. 69, n. 3, p. 528-532, 1998.

MOKÁNSZKI, A.; TÓTHNÉ, E. V.; BODNÁR, B.; TANDOR, Z.; MOLNÁR, Z.; JAKAB, A. Is sperm hyaluronic acid binding ability predictive for clinical success of intracytoplasmic sperm injection: PISCI vs ICSI? **Syst Biol Reprod Med**. v. 60, n. 6, p. 48-54, 2014.

MOORE, K; PERSAUD, T.V.N. **Embriologia clínica**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

MUNDT, L.A; SHANAHAN, K. **Exame de urina e de fluidos corporais de Graff**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

NADALINI, M. et al. Impact of intracytoplasmic morphologically selected sperm injection on assisted reproduction outcome: a review. **Reproductive Biomedicine Online**. v. 19, p. 45-55, 2009.

NASH-ESFAHANI, MARZIYEH, T. Sperm Selection for ICSI using the hyaluronic acid binding assay. **Methods Mol Biol**. n. 927, p.263-268.2013.

NEVES PA. **Infertilidade masculina**. São Paulo: Atheneu; 2002.

PARMEGIANI, L; COGNIGNI, G.E; SILVIA BERNARDI, S; TROILO, E; CIAMPAGLIA, W; FILICORI, M. “Physiologic ICSI”: Hyaluronic acid (HA) favors selection of spermatozoa without DNA fragmentation and with normal nucleus, resulting in improvement of embryo quality. **Fertility and Sterility**, v. 93, n. 2, 2010.

PASQUALOTTO, F.F Investigação e reprodução assistida no tratamento da infertilidade masculina. **Rev Bras Ginecol Obstet**. v. 29, n. 2, p. 103-112, 2007.

ROSENBLATT, C; DELGADO FILHO, M.A; DELGADO, D.R; DELGADO, F.R. Infertilidade Masculina - Novos Conceitos. **Prática Hospitalar**. 2010. Ano XII (71).

SADLER, TW. **Embriologia médica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

SANTOS, M.F.O. Injeção intracitoplasmática de espermatozoides: questões éticas e legais. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.**, Recife, 10 (Supl. 2): S289-S296 dez., 2010

SERMONDADE, N; HAFHOUF, E; DUPONT, C; BECHOUA, S; PALACIOS, C; EUSTACHE, F; PONCELET, C; BENZACKEN, B; LÉVY, R; SIFER, C. Successful childbirth after intracytoplasmic morphologically selected sperm injection without assisted oocyte activation in a patient with globozoospermia. **Hum. Reprod.** 2011

SEUNG, AH. C; JIN CHUL, T, MI JOVEM, S.; HYUN JUNG, K. CHUNG KIM, H; JOONG YEUP, L; DOYEONG, H; KI CHUL, K; CHANG SUK, S; BYUNG CHUL JEE. Application of Sperm Selection Using Hyaluronic Acid Binding in Intracytoplasmic Sperm Injection Cycles: A Sibling Oocyte Study. **J Korean Med Sci.** v.27, n. 12, p.1569-1573.dec. 2012.

SILVA, LF. BATISTA, J. OLIVEIRA; PETERSEN, C.G; MAURI, A.L. **Efeito da idade do homem na avaliação do sêmen pela motile sperm organelle morphology examination (MSOME)**. Dissertação. Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2012.

SIMON, L.; WILCOX, A.; CARREL, D. T. Intracytoplasmic Morphology-Selected Sperm Injecton. **Methods in Molecular Biology.** p. 247-256. 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE REPRODUÇÃO HUMANA (SBRH). BOLETIM 2013. ano 11, n. 3, setembro de 2013

STRASINGER, SK; DILORENZO, MS. **Urinálise e fluidos corporais**. 5 ed. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2009.

TAKEUCHI T.; COLOMBERO TC.; NERI QV.; ROSENWAKS Z.; PALERMO, GD.; Does ICSI require acrosomal disruption? An ultrastructural syudy. **Hum Reprod.** N.19, p.114-117, 2004.

VANDERZWALMEN, P.; NAGY, Z. P.; ALEX C.; VARGHESE A. A. **Practical Manual of In Vitro Fertilization**. Springer, 2012.

WILDING, M. et al. Intracytoplasmic injection of morphologically selected spermatozoa (IMSI) improves outcome after assisted reproduction by deselecting physiologically poor quality spermatozoa. **J Assist Reprod Genet.** v.28, n.3, p. 253-262, mar. 2011.