

Infertilidade de causa hormonal para o ginecologista

CARLOS ROBERTO IZZO

Assistente do Centro de Reprodução Humana Governador Mário Covas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP)

Mestre e doutor em Obstetrícia e Ginecologia pela FMUSP

Conceito

A anovulação crônica se caracteriza por alterações menstruais, tais como amenorréia, oligomenorréia ou sangramento uterino disfuncional e infertilidade. Os distúrbios ovulatórios ocorrem em aproximadamente 20% a 30% das mulheres com infertilidade. A anovulação crônica é de etiologia múltipla e apresenta amplo espectro clínico. O sucesso do tratamento depende de diagnóstico etiológico preciso e da correção de possível disfunção endocrinológica prévia, tais como hiper ou hipotireoidismo e disfunções da adrenal.

Insuficiência hipotálamo-hipofisária

A insuficiência hipotalâmica congênita inclui pacientes com amenorréia primária, anosmia e baixa concentração sérica de gonadotropinas (síndrome de Kallmann), levando à deficiência na produção de hormônio liberador das gonadotropinas (GnRH).

A insuficiência hipotalâmica adquirida está relacionada à perda excessiva de peso, às desordens do apetite (bulimia e anorexia nervosa), ao exercício físico excessivo, à desnutrição, ao uso de determinados medicamentos (anticoncepcionais hormonais, metoclopramida, metildopa, anfetaminas) e ao estresse crônico que levam à supressão da liberação dos pulsos de GnRH e ao conseqüente hipogonadismo.

A anovulação crônica de origem hipofisária tem como principais etiologias: síndrome de Sheehan (necrose aguda hipofisária); tumores hipofisários intra-selares primitivos ou metastáticos; tumores extra-selares (craniofaringeomas, meningiomas); síndrome da sela vazia (deficiência congênita do diafragma selar); cirurgias hipofisárias; irradiações hipofisárias; moléstias granulomatosas (micoses profundas, sífilis, tuberculose, doença de Hodgkin e sarcoidose); e apoplexia hipofisária (infarto maciço de tumor hipo-

fisário), que pode ocorrer nas vasculopatias diabéticas, nas anemias falciformes, nas trombozes do seio cavernoso, nas arterites temporais, nos aneurismas carotídeos e nas fraturas de base de crânio.

A presença de baixas concentrações de gonadotropinas (FSH < 5mUI/mL), associada à deficiência estrogênica, pode sugerir o diagnóstico de hipogonadismo hipogonadotrófico, com provável causa em nível hipofisário ou hipotalâmico. Ao ultra-som pélvico, os ovários não apresentam folículos em desenvolvimento.

Hiperprolactinemia

As concentrações desse hormônio encontram-se fisiologicamente elevadas na gestação, no estresse, na estimulação mamária e no exercício. A ingestão de medicamentos também pode estimular a produção de prolactina, tais como anestésicos, estrógeno, anti-hipertensivos e antieméticos. Outras drogas podem afetar a síntese e a liberação de dopamina ou bloquear seus receptores, como a metildopa.

Presente em apenas 2% das pacientes com hiperprolactinemia, o hipotireoidismo pode manifestar-se com amenorréia e/ou galactorréia. A ocorrência do aumento dos níveis séricos de TRH e/ou TSH gera maior produção hipofisária de prolactina. Portanto, em qualquer caso de hiperprolactinemia os testes de avaliação da função tireoidiana devem ser realizados, a fim de diagnosticarmos hipotireoidismo primário, o qual pode ser corrigido com terapêutica clínica adequada.

Outras patologias podem ser consideradas como causa de hiperprolactinemia: craniofaringiomas, adenomas hipofisários, doenças infiltrativas cerebrais, acromegalia e neoplasias malignas. Os adenomas hipofisários são a causa mais comum de elevação das concentrações de prolactina (cerca de 50% dos casos).

Os mecanismos pelos quais a hiperprolactinemia pode gerar disfunção ovulatória são:

- Ação direta no eixo hipotálamo-hipofisário ou periféricamente nos ovários;
- Compressão direta da hipófise por tumoração, levando à secreção anormal de gonadotropinas;
- Diminuição das concentrações séricas de LH e FSH, assim como diminuição do GnRH;
- Aumento da secreção hipotalâmica de dopamina inibindo a secreção de GnRH, bloqueando efetivamente a ovulação e levando ao hipogonadismo.

Síndrome dos ovários policísticos (SOP)

A SOP é uma condição heterogênea caracterizada por manifestações clínicas, endócrinas e metabólicas. Trata-se da causa mais comum de distúrbio menstrual, de etiologia desconhecida que acomete as mulheres em idade reprodutiva. Alguns estudos sugerem que entre 4% e 9% das mulheres na população geral, nessa faixa etária, podem apresentar diagnóstico de SOP. A SOP é o distúrbio endócrino mais comum em mulheres na idade reprodutiva com infertilidade e irregularidade menstrual, sendo responsável por pelo menos 75% dos casos de infertilidade por fator ovulatório.

É caracterizada por anovulação crônica, infertilidade, oligomenorréia, hirsutismo, acne e seborréia. As manifestações clínicas, incluindo a infertilidade, são relacionadas à hipersecreção de LH (70% das mulheres com anovulação hiperandrogênica), à relação LH/FSH elevada e ao aumento da produção androgênica ovariana. Ao ultra-som, a SOP é caracterizada pela presença de ovários aumentados de volume com vários microfolículos (número maior ou igual a dez folículos por ovário) dispostos periféricamente (“sinal do colar de pérolas”), geralmente com diâmetro médio menor que 10 mm. Ocorre aumento do estroma ovariano.

O risco para o desenvolvimento de hiperplasia endometrial relaciona-se com o hiperestrogenismo. Cerca de 50% dessas mulheres apresentam obesidade. Existe uma clara relação entre obesidade e irregularidade menstrual já que o tecido adiposo é o maior sítio periférico de aromatização de andrógenos para estrógenos, contribuindo para a produção acíclica estrogênica.

A resistência à insulina é comum em pacientes com SOP. A hiperinsulinemia tem papel importante no mecanismo de regulação do hiperandrogenismo ovariano, aumentando a secreção de LH e suprimin-

do o funcionamento das globulinas carreadoras de esteróides (SHBG). A hiperinsulinemia em mulheres anovulatórias pode estar associada à obesidade (50% a 60% das mulheres portadoras de SOP) com deposição de gordura abdominal e visceral. As principais considerações em relação ao tratamento são:

Exercício físico e medidas nutricionais: Mudanças do estilo de vida, visando a diminuição da ingesta calórica e ao aumento dos exercícios físicos; são fundamentais. A dieta com perda de peso e o exercício físico são orientações obrigatórias no manejo inicial das mulheres obesas e com diagnóstico de SOP. A redução do peso corporal auxilia na regularização dos ciclos menstruais e deve ser considerada a primeira medida em mulheres obesas e inférteis.

Agentes sensibilizadores de insulina: A redução da hiperinsulinemia, associada à dieta, pode ser obtida pelo aumento da sensibilidade de insulina. O medicamento mais utilizado atualmente é a metformina, na dose de 1,5 g/dia, às refeições. O mecanismo primário de ação é a inibição da neoglicogênese hepática.

Medidas indutoras da ovulação: As mulheres desejosas de gestação deverão ser medicadas com drogas indutoras da ovulação:

Citrato de clomifeno - É a terapêutica de primeira escolha na indução de ovulação de mulheres anovulatórias com SOP. As doses de citrato de clomifeno (Serofene® 50mg) obedecem a protocolos de estimulação que têm seu início entre o 2º e o 5º dia do ciclo menstrual por cinco dias consecutivos, em doses que podem variar de 50 mg/dia a até 150 mg/dia. A taxa de ovulação e de gestação quando da utilização de protocolos de indução com citrato de clomifeno podem alcançar índices de 67% a 80%, respectivamente.

Gonadotropinas - Nos casos de SOP não-responsivos ao citrato de clomifeno, outras opções de tratamento com gonadotropinas de urina de mulher menopausada (HMG), FSH purificado e, mais recentemente, a utilização do FSH recombinante devem ser consideradas. A fertilização “in vitro” pode ser útil no tratamento da SOP quando a infertilidade persiste mesmo após o restabelecimento da ovulação ou porque existe outra causa associada de infertilidade. A utilização de técnicas de reprodução assistida implica probabilidade maior da ocorrência da síndrome de hiperestimulação ovariana, assim como da gestação múltipla.

Cirurgia - A utilização eficaz das drogas indutoras de ovulação contribuiu para a diminuição da utilização

dos procedimentos cirúrgicos no tratamento da SOP. O retorno da ovulação espontânea e a ocorrência de taxas de gravidez de até 50% podem ser atingidos após o tratamento das pacientes portadoras de SOP, por intermédio da eletrocauterização laparoscópica.

Hipogonadismo hipergonadotrófico (falência ovariana prematura)

A mulher infértil desejosa de gravidez pode ter no diagnóstico de falência ovariana prematura ou menopausa precoce a mais frustrante das notícias. Consiste no final dos períodos menstruais antes dos quarenta anos de idade, com aumento das concentrações séricas das gonadotropinas, associadas ou não a fenômenos vasomotores.

A incidência é desconhecida, permanecendo muitas vezes sem diagnóstico preciso. Estima-se que acometa 1% a 5% da população feminina. Como causa de amenorréia, a falência ovariana precoce pode acometer cerca de 5% a 8% das mulheres.

Ocorre em qualquer faixa etária, porém quando se manifesta antes da puberdade, a constatação de anormalidade cromossômica é comum (frequentemente cariótipo 45X0, síndrome de Turner). Entre 2% e 5% das mulheres com amenorréia secundária causada por falência ovariana prematura apresentam anormalidades cromossômicas. Em adultas, história de cirurgia prévia, infecções, quimio e radioterapia, galactosemia e o diagnóstico de doença auto-imune contribuem para a etiologia da falência ovariana. A dificuldade no diagnóstico está diretamente relacionada à inabilidade na instituição da terapêutica

correta. As concepções espontâneas, raras nestes casos, representam uma flutuação na função ovariana, não sucesso de tratamento. As técnicas de fertilização assistida de alta complexidade, associadas a doação de oócitos podem ser uma opção terapêutica, provavelmente, a mais eficaz.

Considerações finais

Na prescrição de gonadotropinas deve-se iniciar a estimulação da ovulação com doses iniciais baixas até o conhecimento da resposta individual de cada mulher. O aumento da dosagem do indutor, de um ciclo de indução para outro, se não ocorreu resposta prévia adequada, deve ser parcimoniosa.

A monitoração ultra-sonográfica da ovulação é essencial, já que a ultra-sonografia endovaginal seriada é atualmente o método de escolha empregado para a avaliação da resposta ovulatória. Trata-se de técnica pouco invasiva, que permite avaliar o tamanho e o número de folículos, além de fornecer informações relativas à espessura e morfologia endometriais. Na possibilidade de risco aumentado para gestação múltipla e/ou síndrome de hiperestímulo ovariano, deve-se cancelar o ciclo de indução ovulatória em vigência.

A resposta ovariana inadequada ocorre em aproximadamente 9% a 24% das induções de ovulação e é considerada fator de risco isolado ou em associação: idade, endometriose, obesidade, antecedente familiar de falência ovariana prematura, cirurgia prévia nos anexos, disfunção tireoidiana, doença auto-imune, infertilidade sem causa aparente e tabagismo.

Tratamento cirúrgico da endometriose profunda

SÉRGIO PODGAEC

Doutor em Ginecologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP)

Médico-assistente do Departamento de Ginecologia do Hospital das Clínicas da FMUSP

Na década de 1990, o estudo da endometriose foi alvo de modificações estratégicas, a partir da complexidade que envolve seu diagnóstico e tratamento. Em 1992, percebeu-se que os focos de endometriose têm comportamento distinto conforme a profundidade de invasão, lançando-se então o conceito da doença profunda quando a lesão se infiltra por mais de 5 mm no local de seu implante (Koninck Martin, 1992). A seguir, Nisolle e Donnez publicaram em 1997 artigo sugerindo que dependendo do local de acometimento, a endometriose poderia ser considerada como três doenças distintas, quando os focos localizam-se em ovário, em peritônio de forma superficial e a endometriose infiltrativa profunda.

Locais de acometimento

É importante salientar que a endometriose acometendo o septo retovaginal propriamente dito não é comum. Em 2002, Martin enfatizou que a endometriose de septo retovaginal seria aquela que acomete o tecido conjuntivo presente entre a vagina e o reto, usualmente presente a partir do terço médio da vagina para baixo, diferindo da doença profunda mais alta, posterior ao colo uterino, a qual denominada endometriose retrocervical.

Os nódulos que atingem o septo retovaginal (menos frequentes) e a parede intestinal representam a forma mais severa de acometimento da endometriose, devendo ser lembrados em pacientes com queixa clínica de dor pélvica sem relação com o ciclo menstrual, dispareunia de profundidade e alterações intestinais cíclicas, como aumento do trânsito intestinal, dor ao evacuar e/ou sangramento nas fezes durante o fluxo menstrual.

O comprometimento intestinal pela endometriose pode estar presente em 3% a 37% dos casos totais da doença, acometendo o retossigmoides em 90% das situações, mas podendo se instalar também em outros segmentos do intestino como ceco, apêndice, íleo terminal e jejuno, de forma menos frequente.

Os focos de endometriose profunda também podem acometer a bexiga e o ureter, salientando-se que esses dois locais habitualmente não são acometidos de forma sincrônica. As lesões que afetam o ureter em geral são lesões extrínsecas de origem retrocervical que avançam lateralmente e em virtude dos processos aderenciais, retraem o peritônio, e atingem o ureter de forma extrínseca, podendo levar à estenose ureteral até perda da função renal. As lesões de bexiga podem aparecer isoladamente e caracterizam-se por nódulos que chegam a infiltrar toda a musculatura do detrusor até a camada mucosa vesical. Desse modo, as lesões ureterais, em geral, relacionam-se com dor pélvica acíclica e endometriose retrocervical e intestinal e nas lesões de bexiga, as pacientes referem sintomas urinários cíclicos característicos (Abrão *et al.*, 2008).

Diagnóstico

A abordagem terapêutica da endometriose profunda se baseia no quadro clínico e no exame físico da paciente, associada a métodos de imagem auxiliares ao correto diagnóstico dos locais de possíveis lesões. A preocupação que deve ser ressaltada envolve esta análise crítica pré-operatória que deve ser realizada para a equipe cirúrgica não se deparar com situação que não será resolvida da forma completa, tendo em vista o grau de complexidade do procedimento ideal. É adequada a participação de equipe multidisciplinar composta de ginecologistas, urologistas e cirurgiões do aparelho digestivo, pois somente a excisão total de todas as lesões visíveis e palpáveis da doença trará benefícios reais para a paciente.

Com relação aos exames por imagem, o ultrassom transvaginal representa o exame com melhor relação custo-benefício nos casos de endometriose ovariana e profunda, devendo ser realizado preferencialmente no período perimenstrual e após preparo intestinal com fleet-enema, uma hora antes do exame. É possível se observar a pelve de forma global, buscando-se lesões em fórnice vaginal posterior, septo retovaginal, região retrocervi-

cal, bexiga, ovários e retossigmóide. Neste último, além do tamanho da lesão, pode ser obtido o grau de infiltração na parede intestinal e a distância da lesão à borda anal, dados fundamentais para a decisão terapêutica (Abrão *et al.*, 2007).

A ressonância nuclear magnética (RNM) da pelve pode ser recomendada para a complementação do diagnóstico da endometriose profunda, especialmente na avaliação de massas com hipótese diagnóstica duvidosa no estudo com ultra-som, assim como na avaliação dos ureteres. A identificação de doença profunda com invasão do trato intestinal pela RNM, em geral, não permite precisar a camada intestinal acometida pela lesão (Bazo Darai, 2005).

Tratamento

A *guideline* publicada pela ESHRE refere que, nos casos de endometriose profunda, não há evidências que a supressão hormonal da função ovariana tenha eficácia para o tratamento da infertilidade. No entanto, para o tratamento da dor pélvica, este tipo de alternativa, independentemente da droga utilizada, é eficaz quando aplicada por período de seis meses.

Existe na literatura certo consenso que o tratamento dessa forma de endometriose é cirúrgico quando a queixa da paciente envolve dor pélvica. Em relação à infertilidade, não há estudos randomizados e controlados nem metanálises que permitam tal conclusão (Kennedy *et al.*, 2005).

Conforme mencionada, a análise pré-operatória, por meio dos dados clínicos e de imagem, define a indicação cirúrgica e o procedimento a ser realizado. Focos de endometriose retrocervical, lesões em fórnice vaginal posterior e septo retovaginal, assim como lesões próximas ao ureter e lesões vesicais

devem ser retirados em toda sua extensão. Habitualmente são disseções delicadas pela característica da doença surgir como nódulos endurecidos, provocando aderências e por localizarem-se próximos ao reto, ureteres, vasos e nervos importantes da região pélvica. A via laparoscópica é adequada por permitir melhor visualização dessas estruturas, devendo-se, contudo, ter atenção com o uso da corrente elétrica que é usada no procedimento para não haver propagação acidental e lesão térmica de estruturas próximas.

Nos casos em que a endometriose infiltra a parede intestinal, considerando-se envolvimento da camada muscular profunda submucosa ou mucosa, o tratamento indicado é a ressecção do segmento acometido. Por outro lado, quando há acometimento da serosa ou da muscular superficial da parede intestinal, há indicação de ressecção somente do nódulo, sem ressecção segmentar.

A justificativa para tais procedimentos se baseia na melhora da qualidade de vida que as pacientes apresentam e que se mostra diretamente relacionada à exérese completa das lesões acometendo o trato intestinal e outros sítios de maneira profunda. Estudos como o de Garry *et al.* (2000), Varol *et al.* (2003), Ford *et al.* (2004) e Dubernard *et al.* (2006) têm semelhanças em seus desenhos por analisarem através de questionários de qualidade de vida a resposta destas pacientes após tratamentos cirúrgicos ditos radicais na abordagem da endometriose profunda. Todos concluem que há melhora significativa nos parâmetros analisados nos questionários, com taxas entre 85% e 90% desta melhora na qualidade de vida e recorrência em 36 meses girando em torno de 10% a 15%.

Vitrificação de oócitos: uma nova tendência nos centros de reprodução assistida

AMANDA BEGATTI VICTORINO

EMBRIOLOGISTA DO SETOR DE REPRODUÇÃO HUMANA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO (UNIFEST)

JULIANA STEVANATO

MESTRE E EMBRIOLOGISTA DO SETOR DE REPRODUÇÃO HUMANA DA UNIFESP

EDSON GUIMARÃES LO TURCO

MESTRE E EMBRIOLOGISTA DO SETOR DE REPRODUÇÃO HUMANA DA UNIFESP

A primeira gravidez humana relatada depois da criopreservação de oócitos foi descrita por Chen em 1986 por meio da técnica de congelamento lento com dimetilsulfóxido (DMSO). Esse autor informou uma taxa de sobrevivência e fertilização de 80% e 83%, respectivamente, em uma amostra de quarenta oócitos. Durante a década seguinte, muitos pesquisadores tentaram alcançar resultados de descongelamento e fertilização melhores do que os até então descritos, mas poucos nascimentos foram relatados. Em parte, essa demora no processo se deve à dificuldade de fertilização dos oócitos após o descongelamento, principalmente pelo endurecimento da zona pelúcida.

Com o advento da técnica da injeção intracitoplasmática (ICSI), em 1992, essa barreira foi quebrada e melhores taxas de fertilização e nascimentos vivos começaram a surgir. O primeiro relato de nascimento vivo utilizando a técnica de vitrificação foi descrito por Kuleshova *et al.* em 1999 depois de ter vitrificado 17 oócitos utilizando 40% de etilenoglicol e 0,6M de sucrose em palhetas abertas. A partir disso, vários métodos de vitrificação foram descritos por diferentes grupos de pesquisas dentre os quais encontramos o *open pulled straws* (IVF, L'Aigle, França), *hemi-straws* (IVF), o *cryoloop* (Hampton Research Laguna Niguel, Canadá), o *cryotip* (Irvine Scientific, Santa Ana, Canadá), e o *cryotop* (Kitazato Supply Co., Fujinomiya, Japão). Além disso, vários protocolos já foram descritos utilizando diferentes concentrações e tipos de crioprotetores como dimetilsulfóxido (DMSO), propanediol, etilenoglicol, glicerol e com a combinação de um ou mais deles.

A criopreservação de oócitos humanos representa um dos campos mais atraentes na reprodução assistida uma vez que permite a preservação do potencial de uma mulher em atingir a maternidade e, ao mesmo tempo, evita as desvantagens éticas e legais associadas à criopreservação de embriões. Assim, essa técnica pode ser uma alternativa para a preservação da fertilidade em mulheres que estão prestes a perder a função ovariana por cirurgia, quimioterapia e radioterapia ou para aquelas que desejam ter sua maternidade adiada.

Já no programa de fertilização *in vitro*, a criopreservação de oócitos pode ser utilizada para pacientes que apresentam grande número de oócitos no primeiro ciclo de estimulação, permitindo assim uma nova tentativa caso não ocorra a gestação sem a necessidade de uma nova estimulação ovariana.

Ainda, o congelamento de oócitos permite a criação de um banco de oócitos, essencial para um programa de ovodoação, pois exclui a necessidade de sincronizar as pacientes doadoras de oócitos com as receptoras.

Finalmente, outra utilidade da criopreservação de oócitos é na prevenção da síndrome da hiperestimulação ovariana (OHSS), caracterizada por uma resposta exacerbada do ovário ao hormônio folículo estimulante (FSH). Assim, caso haja possibilidade da paciente desenvolver OHSS, seus oócitos podem ser criopreservados para utilização em um próximo ciclo sem que a paciente corra esse risco novamente.

Desse modo, o congelamento de oócitos é uma opção viável e com grande vantagem ética sobre o congelamento de embriões. Por outro lado, apesar

de o congelamento de embriões ser uma prática bem-sucedida, a criopreservação de oócitos ainda apresenta resultados baixos. Isso é ocasionado principalmente pelas baixas taxas de fertilização e de desenvolvimento embrionário obtidas após a fecundação de oócitos criopreservados. As principais diferenças entre oócitos e embriões, que explicam a ocorrência de piores resultados, são as características da membrana plasmática, presença dos grânulos corticais e o fato de o oócito estar na metafase II da meiose, com seu sistema complexo de fuso meiótico presente.

Tendo em vista os danos provocados aos oócitos pela criopreservação, o objetivo da técnica é manter a viabilidade das células congeladas mesmo após um longo período de congelamento. A temperatura que normalmente é utilizada para o armazenamento é de -196°C em nitrogênio líquido; nessa temperatura a água só existe em estado sólido e nenhuma reação biológica conhecida acontece. O principal problema para células criopreservadas é o dano causado em suas organelas em virtude da formação de cristais de gelo intracelulares. Ao congelar, a água intracelular pode assumir uma configuração cristalizada, com conseqüente aumento de volume e pressão sobre as células congeladas provocando alterações em seu citoplasma.

Sendo assim, o grande desafio da criopreservação é a diminuição ou total eliminação da formação dos cristais de gelo. Outro desafio é diminuir o choque osmótico provocado pela entrada de água livre na célula durante o aquecimento e o dano tóxico causado por altas concentrações de eletrólitos e outros solutos em baixas temperaturas em que o gelo se prolifera.

A exposição dos oócitos maduros a altas concentrações de crioprotetores pode induzir injúrias nos fusos meióticos durante o processo de congelamento e aquecimento em baixas temperaturas, levando a uma redução da viabilidade dessas estruturas. O fuso microtubular é uma estrutura dinâmica que facilita a segregação dos cromossomos para as células filhas durante a mitose e para o primeiro e segundo corpúsculos polares durante a meiose. A desorganização do fuso resulta em dispersão cromossomal, impossibilita a fertilização e interrompe o desenvolvimento embrionário.

A criopreservação também induz o endurecimento da zona pelúcida dos oócitos por meio da liberação prematura dos grânulos corticais. Essas estruturas são responsáveis por impedir que mais de um espermatozóide fertilize o oócito. Larman *et al.* (2006) observaram que os crioprotetores dimetilsulfóxido

(DMSO) e etilenoglicol (EG) podem induzir um aumento transitório da concentração de cálcio intracelular, o que provoca a extrusão prematura dos grânulos corticais dos oócitos. Por outro lado, Hytell *et al.* (2000) sugerem que a excitose prematura dos grânulos corticais pode ser explicada por mudanças nas propriedades e na permeabilidade da membrana plasmática depois do dano do congelamento, em razão da toxicidade das soluções crioprotetoras ou ao choque osmótico induzido por meio das mudanças na pressão osmótica durante o processo de congelamento e aquecimento.

A vitrificação tem apresentado resultados melhores em relação ao congelamento lento em várias espécies animais e em humanos. A vitrificação é a solidificação de uma solução em baixas temperaturas, sem a formação de cristais de gelo. Esse fenômeno é obtido com o aumento da viscosidade promovido por uma grande velocidade de resfriamento e pelo uso de soluções crioprotetoras que impedem a formação de cristais de gelo e aumentam a viscosidade em baixas temperaturas. A vitrificação também acontece no congelamento lento por conta da retirada gradual da água na forma de gelo. O sucesso do método de vitrificação está relacionado à capacidade de penetração, à concentração, ao tempo de exposição, à velocidade de resfriamento ($-20.000^{\circ}\text{C}/\text{min}$) e ao volume do crioprotetor, que devem ser adequados para impedir a formação de cristais de gelo intracelular sem provocar lesões de efeito tóxico ou osmótico.

Na vitrificação elimina-se totalmente a formação dos cristais de gelo, porém, como conseqüência negativa do processo, existe uma grande probabilidade de ocorrer fratura da zona pelúcida e alterações de organelas intracelulares e do citoesqueleto. Para contornar esse processo são utilizadas associações diferentes de crioprotetores e o emprego de substâncias menos tóxicas.

A criopreservação de oócitos humanos tanto para mulheres férteis quanto inférteis está ganhando grande impulso pelos bons resultados publicados por vários centros de reprodução assistida do mundo. Com isso, a tendência é que a vitrificação deixe de ser considerada experimental e passe a fazer parte da rotina dos laboratórios de fertilização *in vitro*.

Diante disso, ainda há muitas pesquisas em busca de melhores técnicas com melhores resultados, uma vez que essa técnica é uma grande ferramenta, porém ainda não se tem um conceito de qual a melhor técnica de vitrificação.

Referências bibliográficas

1. Al-Hasani S, Diedrich K, van der Ven H, Reinecke A, Hartje M, Krebs D. Cryopreservation of human oocytes. *Hum Reprod.* 1987;2:695-700.
2. Chen C. Pregnancies after human oocyte cryopreservation. *Ann NY Acad Sci.* 1988;541:541-9.
3. Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet.* 1986;1:884-6.
4. Chen SU, Lien YR, Chen HF, Chao KH, Ho HN. Open pulled straw (OPS) vitrification of mature mouse oocytes preserve patterns of meiotic spindles and chromosomes better than conventional straws. *Hum Reprod.* 2000;15:2598-603.
5. Chen SU. Effects of cryopreservation on meiotic spindles of oocyte and its dynamics after thawing: clinical implications in oocyte freezing. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2003;2002:101-7.
6. Eroglu A, Toth TL, Toner M. Alterations of the cytoskeleton and polyploidy induced by cryopreservation of metaphase II mouse oocytes. *Fertil Steril.* 1998 May;69(5):944-57.
7. Fuller B, Paynter S. Related articles, fundamentals of cryobiology in reproductive medicine. *Reprod Biomed Online.* 2004 Dec;9(6):680-91.
8. Ghetler Y, Skutelsky E, Ben Nun I, Ben Dor L, Amihai D, Shalgi R. Human oocyte cryopreservation and the fate of cortical granules. *Fertil Steril.* 2006 Jul;86(1):210-6. Epub 2006 Jun 6.
9. Ghetler Y, Skutelsky E, Ben Nun I, Ben Dor L, Amihai D, Shalgi R. Human oocyte cryopreservation and the fate cortical granules. *Fertil Steril* 2006;86:210-6.
10. Gook DA, Schiewe MC, Osborn SM, Asch RH, Jansen RP, Johnston WI. Intracytoplasmic sperm injection and embryo development of human oocytes cryopreserved using 1,2-propanediol. *Hum Reprod.* 1995;10:2637-41.
11. Goticchio G, Bonus MA, Bianchi V, Flamigni C, Borini A. Related articles, criteria to assess human oocyte quality after cryopreservation. *Reprod Biomed Online.* 2005 Oct;11(4):421-7.
12. Hershlag A, Paine T, Kvapil G, Feng H, Napolitano B. Related articles, links in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection split: an insemination method to prevent fertilization failure. *Fertil Steril.* 2002 Feb;77(2):229-32.
13. Hunter JE, Bernard A, Fuller B, Amso N, Shaw RW. Fertilization and development of the human oocyte following exposure to cryoprotectants, low temperatures, low temperatures and cryopreservation: a comparison of two techniques. *Hum Reprod.* 1991;6:1460-5.
14. Isachenko V, Montag M, Isachenko E, Dessoie S, Nawroth F, van der Ven H. Aseptic vitrification of human germinal vesicle oocytes using dimethyl sulfoxide as a cryoprotectant. *Fertil Steril.* 2006 Mar;85(3):741-7.
15. Jain JK, Paulson RJ. Oocyte cryopreservation. *Fertil Steril.* 2006 Oct;86 Suppl 4:1037-46.
16. Palasz AT, Mapletoft RJ. Cryopreservation of mammalian embryos and oocyte: recent advances. *Biotechnol Adv.* 1996;14:127-49.
17. Rall WF, Fahy GM. Ice free cryopreservation of mouse embryos at -196°C by vitrification. *Nature.* 1985;312:573-5.
18. Rall WF, Reid DS, Polge C. Analysis of slow-warming injury of mouse by cryomicroscopical and physicochemical methods. *Cryobiology.* 1984;21: 106-21.
19. Stachecki JJ, Munne S, Cohen J. Spindle organization after cryopreservation of mouse, human and bovine oocyte. *Reprod Biomed Online* 2004;8:664-77.
20. Vajta, *et al.* Successful vitrification of early stage bovine in vitro produced embryos with the Open Pulled Straw (OPS). *Cryo Letters.* 1997;18:191-5.
21. Vajta G. Vitrification of the oocyte and embryos of domestic animals. *Animal Reproduction Science.* 2000; 60-61:357-64.
22. Van Blerkom J, Davis PW. Cytogenetic, cellular, and developmental consequences of cryopreservation of immature and mature mouse and human oocytes. *Microsc Res Tech.* 1994;27:165-93.
23. Van Uem JF, Siebzehnrubl ER, Schuh B, Koch R, Trotnow S, Lang N. Birth after cryopreservation of unfertilized oocytes. *Lancet.* 1987;1:752-3