

GESTAÇÃO APÓS INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZÓIDES (ICSI) EM CASAL SORODISCORDANTE PARA HIV-1: TEMPO DE REFLETIR SOBRE AIDS E REPRODUÇÃO

PREGNANCY FOLLOWING INTRACYTOPLASMIC SPERM INJECTION (ICSI) FROM A HIV-1 SERODISCORDANT COUPLE TIME TO THINK ABOUT AIDS AND REPRODUCTION

Ana CA Mancebo¹, Maria CB Souza², Gutemberg L Almeida Filho³, Marcelo M Souza⁴,
Christina A Rocha⁵, Carlos A Henriques⁶, Angela CS Marcondes⁷,
Cristos Pritsivelis⁸, Fernanda F Oliveira⁹

RESUMO

Casal sorodiscordante para HIV-1 foi submetido a ciclo de fertilização *in vitro* pela técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), após preparo de sêmen em gradientes de densidade seguido de *swim-up*, com obtenção de gestação única em curso. Embora até o presente momento, não haja confirmação de que a ICSI seja mais eficiente do que a inseminação artificial em reduzir os riscos de transmissão do HIV, uma vez que o oócito entra em contato com apenas um espermatozoide, preferimos a realização da ICSI como técnica de fertilização assistida que oferece, pelo menos teoricamente, menor risco para a parceira e o bebê.

Palavras-chave: fertilização *in vitro*, HIV, ICSI, espermatozoides

ABSTRACT

An HIV-1 discordant couple (seropositive man) has undergone an assisted reproduction cycle by intracytoplasmic sperm injection (ICSI). The semen was prepared in discontinuous gradients followed by the swim-up technique and resulting in one ongoing pregnancy. So far there is no proof that ICSI might offer a risk reduction of transmission compared to intrauterine insemination as the oocyte is exposed to a single spermatozoon. However, we prefer to perform ICSI as assisted reproduction technique in these cases since, at least theoretically, the risks are lower for both the partner and the baby.

Keywords: in vitro fertilization, HIV, ICSI, spermatozoon

ISSN: 0103-0465

DST – J bras Doenças Sex Transm 17(1):153-156, 2005

INTRODUÇÃO

O último boletim epidemiológico do programa nacional de DST/Aids (março 2005), indica que a epidemia de aids no Brasil se encontra em

patamares elevados, tendo atingido em 2003, 18,4 casos por 100 mil habitantes. Entre os homens há uma tendência de estabilização enquanto, entre as mulheres, observa-se crescimento da epidemia.

Desde 1980 até 2004 foram registrados 217 995 casos de aids nos homens entre 20 e 49 anos, representando 87 % do total de registros na população masculina. Nas mulheres entre 13 e 39 anos foram registrados 73 534 casos desde 1980, 67% do total de registros na população feminina. Podemos perceber que a incidência de aids é muito alta na faixa etária considerada como idade reprodutiva, tanto em mulheres como nos homens. Se somarmos a estes dados o fato de que a sobrevida mediana dos casos de aids em adultos é maior do que 10 anos chegaremos a conclusão que a maior parte dos adultos com aids estão em idade reprodutiva e, caso não tenham prole definida, terão tempo suficiente para analisar a possibilidade de terem filhos.

O presente trabalho tem por objetivo relatar gestação após injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) em casal sorodiscordante para HIV-1, além de levantar questionamentos que permitam

¹Bióloga G&O Ginecologia e Obstetrícia da Barra

²Prof^a Adjunta Doutora G&O Ginecologia e Obstetrícia da Barra Instituto de Ginecologia da UFRJ

³Prof. Adjunto Doutor G&O Ginecologia e Obstetrícia da Barra Instituto de Ginecologia da UFRJ

⁴Ginecologista e Obstetra G&O Ginecologia e Obstetrícia da Barra

⁵Bióloga G&O Ginecologia e Obstetrícia da Barra

⁶Doutor em Medicina (Ginecologia) - UFRJ G&O Ginecologia e Obstetrícia da Barra

⁷Mestre em Ginecologia G&O Ginecologia e Obstetrícia da Barra

⁸Ginecologista e Obstetra

⁹Ginecologista e Obstetra G&O Ginecologia e Obstetrícia da Barra

reflexão sobre a utilização das técnicas de reprodução assistida em casais sorodiscordantes como método capaz de minimizar o risco de transmissão do HIV.

RELATO DE CASO

Casal sorodiscordante para HIV-1 (homem soropositivo), com relacionamento estável há cinco anos, em uso de condom como método contraceptivo, procurou a clínica buscando gestação por técnica de reprodução assistida. O marido, 37 anos, HIV-1 soropositivo contaminou-se através de contato sexual. Na época da consulta, apresentava 1.046 linfócitos T CD4⁺/mm³. A carga viral era de 233 cópias/mL e estava em uso de didanosina[®] 125; estavudina 40; ritonavir 100 e saquinavir 200. Sua história clínica não indicava nenhuma outra enfermidade.

O preparo de sêmen para realização da ICSI foi feito através de seleção dos espermatozoides após centrifugação (300 g por 20 minutos) em gradientes descontínuos – 40 e 80% de PureSperm[®], seguido de *swim-up*, segundo descrito por Ohl *et al.*¹ A associação da técnica de gradientes de densidade com o *swim-up* na seleção dos espermatozoides a serem utilizados visa eliminar partículas virais presentes no sêmen e deixar apenas os espermatozoides livres. Os espermatozoides móveis obtidos foram diluídos em Gamete[®] (sêmen pós-preparo). O sêmen pós-preparo foi congelado utilizando o protocolo de rotina para congelamento de sêmen com glicerol e dividido em duas alíquotas. Uma alíquota foi encaminhada ao laboratório Biogenetics (Uberlândia-MG) onde foram realizadas as análises para detecção de DNA pró-viral e RNA viral livre através da técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR). Este laboratório foi consultado e informou-nos que poderia fazer a detecção de DNA pró-viral e RNA no sêmen e no material pós-preparo além da testagem no soro e sangue que são utilizados de rotina para detecção do HIV. Foram enviados para análise também o sêmen a fresco, sangue e soro do parceiro. A outra alíquota ficou armazenada em container específico aguardando os resultados das análises.

A mulher soronegativa, 37 anos, gesta 0, para 0, com ciclos regulares de 24/24 dias e história de dismenorréia foi submetida à videolaparoscopia há seis anos mostrando tubas normais permeáveis e ausência de endometriose. Foi encaminhada uma amostra de sangue da mesma para análise juntamente com as amostras do marido.

Após liberação dos resultados das análises (**Tabela 1**) foi iniciado o tratamento.

A estimulação ovariana foi feita com rFSH (Gonal[®], Serono) 225 UI diárias iniciando-se no segundo dia do ciclo. A resposta ovariana foi monitorada através de ultra-sonografia transvaginal. No sétimo dia do ciclo foi visualizado um folículo já com 14 mm e então associado o antagonista de GnRH (Cetrotide[®]). Quando da presença de dois folículos com diâmetro ³ 18mm foi administrado HCG (Ovidrel[®], Serono). A dose total de Gonal[®] utilizada foi de 1.575 UI e três ampolas de Cetrotide[®]. A aspiração folicular guiada por ultra-sonografia transvaginal ocorreu 34 a 36 horas após, obtendo-se quatro oócitos todos em Metáfase II. A fertilização assistida foi realizada pela técnica de ICSI segundo descrita por Palermo *et al.*²

A alíquota de sêmen pós preparo mantida congelada (31,66 x 10⁶) foi utilizada após lavagem com meio de cultura Gamete[®] para remoção da solução crioprotetora (glicerol). A ICSI foi realizada nos

quatro oócitos com obtenção de três embriões com fertilização normal, isto é, formação de dois pronúcleos (masculino e feminino) e um embrião anômalo, com formação de apenas um pronúcleo. Foram transferidos três embriões (seis células grau 1; 8 células grau 2 e 4 células grau 2) no dia 3 de cultura utilizando-se cateter de Wallace. A transferência dos embriões foi guiada por ultra-sonografia e classificada em tipo 3, isto é, com pinçamento do colo utilizando pinça de Pozzi e cateter de Wallace para transferência difícil. Duas semanas após a transferência embrionária, a dosagem de bHCG sérico apresentou 267 mUI/ml. A gestação foi confirmada pela presença de um saco gestacional normo-implantado através do exame ultra-sonográfico transvaginal 15 dias após a realização do bHCG.

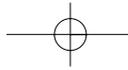
DISCUSSÃO

Amplio debate tem sido observado na literatura científica quanto à questão da reprodução assistida para casais sorodiscordantes, principalmente, na última década quando houve uma mudança no prognóstico da doença causados pelos avanços terapêuticos. A aids continua sendo uma doença grave mas que tratada adequadamente torna-se doença crônica. Atualmente muitos pacientes HIV positivo tem vida “normal”, estão integrados socialmente e voltando a fazer planos. Estes planos, para os casais jovens, inclui o desejo de ter filhos.

Inicialmente, a alternativa proposta para esses casais era a inseminação heteróloga, eliminando o risco de transmissão da doença para a mãe e a criança. Semprini *et al.*³, no início da década de 1990, relataram resultados de inseminações artificiais usando sêmen do parceiro HIV positivo. A técnica de preparo de sêmen utilizada era a filtração em gradientes de densidade seguido de *swim-up*, eliminando da amostra os elementos celulares imóveis tais como espermatozoides e outras células presentes no plasma seminal. Esta associação de técnicas foi utilizada com base na premissa de que apenas os espermatozoides móveis utilizados na inseminação não carregam partículas virais, uma vez que não apresentam receptores para o vírus. A inseminação artificial homóloga (IAH) passou então a ser indicada para casais sorodiscordantes. A testagem do material a ser inseminado era realizada rotineiramente e em casos de amostra positiva o procedimento era cancelado. Segundo Sauer M.V⁴, na Europa, já foram realizados 3 019 ciclos de IAH em casais sorodiscordantes com 361 bebês nascidos, 32 gestações em curso e nenhum caso de soroconversão foi relatado. (**Tabela 2**)

Em 1998, Marina *et al.*⁵ relataram o primeiro caso de gestação em casal sorodiscordante utilizando a técnica de ICSI. A injeção intracitoplasmática de espermatozoides, indicada para casos de fator masculino severo, tem sido indicada atualmente também para casais sorodiscordantes, pois como apenas um espermatozoide é injetado no oócito o risco de infecção é bem menor do que quando se realiza a inseminação artificial, onde milhões de espermatozoides são inseminados. Segundo Sauer⁴, foram relatados até o momento a realização de 543 ciclos de IVF/ICSI em casais sorodiscordantes com nascimento de 131 bebês, 23 gestações em curso e nenhum caso de soroconversão.

No Brasil, Borges *et al.*⁶ relataram resultado de três ciclos de tratamento (ICSI) em dois casais sorodiscordantes após preparo de sêmen pela técnica de gradientes de densidade seguido de *swim-up*.

**Tabela 1** - Resultado das análises obtidas do casal através da reação em cadeia de polimerase (PCR)

Material	Deteção	Resultado
Soro marido	RNA viral livre	Positivo
Sêmen à fresco	RNA viral livre	Indetectável
Sêmen pós-preparo	RNA viral livre	Indetectável
Sangue marido	DNA pró-viral	Positivo
	RNA viral livre	Positivo
Sangue esposa	DNA pró-viral	Indetectável
	RNA viral livre	Indetectável

Tabela 2 - Resumo dos resultados publicados de inseminações homólogas realizadas com sêmen pós-preparo em casais sorodiscordantes para HIV-1

Estudo	Ciclos	Pacientes	Gestações	Infecção
Semprini <i>et al.</i> , 1997	1954	623	272	0
Marina <i>et al.</i> (1998;2001)	458	233	116	0
Tur <i>et al.</i> , 1999	155	67	32	0
Gilling-Smith <i>et al.</i> , 2003	92	36	12	0
Vernazza <i>et al.</i> , 1997	46	16	5	0
Weigel <i>et al.</i> , 2001	143	64	19	0
Bujan <i>et al.</i> , 2001	62	28	14	0
Daudin <i>et al.</i> , 2001	93	39	18	0
Brechar <i>et al.</i> , 1997	11	11	5	0
Delvigne <i>et al.</i> , 2003	5	5	4	0
Total	3019	1111	497	0

* Adaptação de Sauer, M.V. (2004)

Os dois casais engravidaram. Um na primeira tentativa e o outro na segunda.

A recente Portaria nº 426 de 22 de março de 2005⁷ institui, no âmbito do SUS, a Política Nacional de Atenção Integral em Reprodução Humana Assistida e uma das considerações feitas é que “as técnicas de reprodução humana assistida contribuem para a diminuição da transmissão vertical e/ou horizontal de doenças infecto-contagiosas, genéticas, entre outras”.

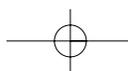
Segundo Englert *et al.*⁸ a verdade é que, em ausência de assistência adequada, os casais sorodiscordantes optam pela relação sexual sem proteção como forma de obter gestação, atitude que envolve riscos já conhecidos. É, provavelmente, mais efetivo prover assistência aos casais sorodiscordantes através da reprodução assistida (inseminação artificial, fertilização *in vitro*, ICSI) uma vez que há sólidos argumentos a favor do uso de espermatozoides pós preparo segundo Semprini e Fiore.⁹ É muito mais seguro para a mulher soronegativa e para a criança, embora não saibamos ainda se essa segurança é total.

Este relato de caso está de acordo com os dados descritos na literatura e fornece informações que permitem uma análise reflexiva face à questão aids *versus* reprodução, pelo menos, no que se refere a casais sorodiscordantes em que o homem é soropositivo. Nos casos em que a mulher é HIV-positivo a ICSI também é indicada, entretanto, há necessidade de continuar o tratamento com drogas anti-retrovirais durante a gestação. Nesses casos, o parto cesáreo é o indicado e

o aleitamento materno é desencorajado com objetivo de diminuir o risco de transmissão do HIV para a criança. O *follow-up* dos casais tratados e das crianças nascidas é de extrema importância para assegurar a eficiência da ICSI como técnica de escolha para obtenção de gestação em casais sorodiscordantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ohl J, Partisani M, Wittemer C, et al. Assisted reproduction techniques for HIV serodiscordant couples: 18 months of experience. *Hum Reprod* 2003; 18 (6):1244-1249.
- Palermo G, Joris H, Devroy P. et al. Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection of single spermatozoon into na oocyte. *Lancet* 1992; 340, 17-18.
- Semprini AE, Levi-Setti P, Bozzo M. et al. Insemination of HIV-negative women with processed semen of HIV-positive partner. *Lancet* 1992; 340, 1317-1319.
- Sauer MV. Sperm washing techniques address the fertility needs os HIV-seropositive men: a clinical review – *Reprod BioMed Online* 2004; 10(1):135-140.
- Marina S, Marina F, Alcolea R. et al. Pregnancy following intracytoplasmic sperm injection from an HIV-1-seroposive man. *Hum Reprod* 1998; 13(11): 3247-3249.



6. Borges Jr E, Guilherme P, Rossi LM. et al. Processamento seminal e utilização da técnica de ICSI em casais sorodiscordantes para HIV-1. *Femina* 2004; 32(8): 669-673.
7. Diário Oficial da União. Republica Federativa do Brasil: Edição Nº 56 de 23 de Março de 2005.
8. Englert Y, Van Vooren JP, Place I. et al. ART in HIV-infected couples Has time come for a change of attitude ? *Hum Reprod* 2001; 16 (7): 1309-1315.
9. Semprini AE, Fiore S. HIV and reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004; 16 (3): 257-262.

Endereço para correspondência**ANA CRISTINA A MANCEBO**

G & O Barra, RJ- Reprodução Humana

Av Américas 4666 salas 312-313 .

Barra da Tijuca, Rio de Janeiro, RJ - CEP: 22649-900

E-mail: g&obarra@cmb.com.br

Recebido em: 10/05/05

Aprovado em: 20/06/05