

Wagner Vicensoto

Recepção de Oócitos: Estudo Retrospectivo
para Análise da Técnica

São José do Rio Preto
2004

Wagner Vicensoto

Recepção de Oócitos: Estudo Retrospectivo
para Análise da Técnica

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto para obtenção do título de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Eixo Temático: Medicina Interna.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Hélio Oliani

São José do Rio Preto
2004

Vicensoto, Wagner

Recepção de Oócitos: Estudo Retrospectivo para Análise da
Técnica / Wagner Vicensoto
São José do Rio Preto, 2004
83 p.;

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de São José do
Rio Preto – FAMERP
Eixo Temático: Medicina Interna

Orientador: Prof. Dr. Antonio Hélio Oliani

1. Recepção de oócitos; 2. Fertilização assistida; 3. Ovodoação.

Dedico esta Dissertação:

- ✓ Aos meus pais, Valdemar e Celina.

- ✓ Às minhas irmãs Tânia e Rosimeire.

- ✓ À minha esposa, Suad.

- ✓ Ao meu filho, Henrique.

Agradecimentos Especiais

- ✓ Ao meu orientador Prof. Dr. Antonio Hélio Oliani, pela atenção e carinho dedicados na realização desta dissertação.

Agradecimentos

- ✓ Às pacientes, razão principal dos estudos realizados.
- ✓ À Fundação Faculdade Regional de Medicina de São José do Rio Preto (FUNFARME), na pessoa do seu diretor Dr. Jorge Fares, pelo apoio à Pós-Graduação e pelo brilhante trabalho frente à Instituição.
- ✓ À Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), na pessoa de seu diretor Prof. Dr. José Victor Maniglia pelo apoio à Pós-Graduação.
- ✓ Aos professores do Curso de Pós-Graduação pelo estímulo na realização deste trabalho.
- ✓ À Dra. Eloisa A. Galão, amiga sempre presente, inclusive durante a realização deste trabalho, pelo apoio e carinho, meu agradecimento especial.
- ✓ À Dra. Sílvia A. Perea pelo apoio na realização do curso de Pós-Graduação.
- ✓ À Dra. Maria Lúcia L. Barcelos Veloso, Dra. Lígia C. Junqueira Franco Spegiorin e Dr. João Luís de Carvalho pelo auxílio no atendimento no Serviço de Obstetrícia.

- ✓ À Dra. Denise Cristina Mós Vaz e Dra. Izaura dos Santos pela ajuda na realização deste trabalho.
- ✓ À Dra. Alessandra Souza Barbeiro Munhoz, Dra. Ana Paula Lago, Dra, Ana Karina Semeghini Jakobi e Dra. Maria Paula Freyre pelo auxílio na tradução dos textos.
- ✓ Aos amigos do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, pelo estímulo e apoio.
- ✓ A todos os professores responsáveis pela minha formação educacional, sempre serão lembrados com respeito e carinho.
- ✓ Ao Prof. Dr. José Antônio Cordeiro pelos ensinamentos durante a realização dos testes estatísticos.
- ✓ À Prof. Adília Maria Peres Sciarra pela gentileza e colaboração neste trabalho.
- ✓ Aos funcionários da Pós-Graduação, Fabiana Cristina Godoy, Rosimeire C. S. Desidério e José Antônio Silistino, pelo apoio recebido e carinho dispensado aos alunos do curso de Pós-Graduação.

- ✓ Ao biólogo Mário Roberto Lago e as funcionárias do Instituto de Medicina Reprodutiva (IMR) Daniela Kelly Godoy, Eliane Leonel Batista, Michele de Fátima Silva e a estagiária Tatiane Nogueira de Lima, pela atenção e auxílio no levantamento de informações.

- ✓ À funcionária da biblioteca Zélia Cristina Régis pela gentileza e eficiência na pesquisa bibliográfica.

- ✓ Aos meus tios e demais parentes pelo apoio e estímulo constantes.

- ✓ Aos meus avôs João e Maria, sempre em meus pensamentos, alicerces de minha formação.

Lista de Figuras

Figura 1.	Distribuição por idade das pacientes receptoras de óocitos....	26
Figura 2.	Distribuição das pacientes que foram submetidas ao programa de doação-recepção de óocitos, de acordo com o tipo de infertilidade.....	28
Figura 3.	Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de óocitos, de acordo com procedimentos de fertilização anteriores.....	29
Figura 4.	Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de óocitos, de acordo com a técnica de fertilização utilizada.....	30
Figura 5.	Distribuição de acordo com o resultado de gravidez por ciclo nas pacientes receptoras que foram submetidas ao programa doação-recepção de óocitos.....	33
Figura 6.	Distribuição de acordo com o resultado de gravidez por pacientes receptoras submetidas ao programa de doação-recepção de óocitos.....	34
Figura 7.	Distribuição das pacientes que foram submetidas ao programa de doação-recepção de óocito, de acordo com o produto da gestação.....	35

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com a história obstétrica.....	27
Tabela 2.	Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com as causas de infertilidade.....	29
Tabela 3.	Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com o número de ciclos/tentativas realizados.....	31
Tabela 4.	Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com o número de embriões transferidos por ciclo.....	32
Tabela 5.	Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com a evolução da gravidez.....	35

Lista de Abreviaturas e Símbolos

°C	- Grau Celsius
β	- Beta
CFM	- Conselho Federal de Medicina
DHEG	- Doença hipertensiva específica da gestação
FIV	- Fertilização <i>in vitro</i>
FSH	- Hormônio folículo estimulante
GnRH	- Hormônio liberador de gonadotrofinas
HCG	- Hormônio gonadotrófico coriônico
HIV	- Vírus da imunodeficiência humana
HMG	- Hormônio gonadotrófico menopausal
ICSI	- Inseminação intracitoplasmática de espermatozóide
IM	- Intra-muscular
LH	- Hormônio luteinizante
mg	- Miligrama
ml	- Mililitro
mm	- Milímetro
PCR	- Reação da cadeia polimerase
pg	- Picograma
SC	- Subcutâneo
SSS	- Suplemento de soro substituto
UI	- Unidade internacional

O programa de doação-recepção de oócitos é técnica pela qual os gametas femininos (oócitos) de uma mulher (doadora) são doados a outra (receptora) para que sejam fertilizados com espermatozóides dos respectivos maridos. Este estudo analisou quatorze pacientes submetidas a 21 ciclos de ovorecepção por técnica de reprodução medicamente assistida no Instituto de Medicina Reprodutiva (IMR) de São José do Rio Preto-SP, no período de janeiro de 1998 a dezembro de 2002. A idade das pacientes receptoras variou de 29 a 49 anos com média de 40 anos. Dez (71,5%) pacientes não referiram gestação anterior, sendo consideradas como infertilidade primária. Como indicações para realização de recepção de oócitos classificamos cinco (35,7%) pacientes como menopausa precoce, cinco (35,7%) como falência ovariana, três (21,5%) como menopausa fisiológica e uma (7,1%) como má respondedora. Apenas seis (42,9%) pacientes não haviam sido submetidas a tratamento anterior para infertilidade. Em 92,9% das pacientes foi utilizado a injeção intra-citoplasmática de espermatozóide (ICSI) como técnica de fertilização assistida. Foram transferidos por ciclo entre dois e quatro embriões. Dos 21 ciclos realizados obteve-se taxa de 52,4% de gestação por ciclo e de 71,5% de gestação por paciente. A taxa de gestação múltipla foi de 27,3%. Em relação à evolução das gestações observou-se taxa de abortamento de 36,4% e evolução das gestações em 63,6%, com 9,1% de parto prematuro e 54,5% gestações a termo sem intercorrências. A taxa de “bebê em casa” foi de 50%. O programa de doação-recepção de oócitos mostrou-se técnica de excelentes resultados, representando uma forma viável e ética de se

obter gestação em pacientes selecionadas que antes tinham diagnóstico reservado de infertilidade.

Palavras-Chave: 1. Recepção de oócitos; 2. Fertilização assistida; 3. Ovulação.

Abstract

The oocyte donation and reception program is a technique in which female gametes from a woman (donor) are donated to other woman (recipient) in order to be fertilized with the respective recipient's husband spermatozoa. The present study analyzed fourteen patients who underwent 21 cycles of egg reception by this assisted reproductive medical technique at the Reproductive Medicine Institute (RMI) of São José do Rio Preto-SP, in the period from January 1998 to December 2002. The recipients' age ranged between 29 to 49 years; the mean age 40 years. Ten patients (71.5%) did not report previous gestation, therefore considered women with primary infertility. In order to perform the indications to the oocyte reception we classified five patients (35.7%) as having premature menopause, five (35.7%) as ovarian failure, three (21.5%) as physiological menopause, and one (7.1%) as unsuccessful responder to previous treatments. Only six patients (42.9%) had not undergone previous infertility treatments. In 92.9% of the patients, the assisted reproductive technique used was the Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI). The number of embryos transferred per cycle was between two and four. A total of 21 cycles were performed with a rate of 52.4% of gestation per cycle and 71.5% gestation per patient. The rate of multiple gestations was 27.3%. Regarding the gestation evolutions, it was observed a rate of 36.4% of miscarriage and 63.6% of ongoing pregnancies, in which 9.1% had premature delivery, and 54.5% had full term delivery without intercurrents. The rate of "home baby" was 50%. The oocyte donation and reception program showed to be a successful technique, with excellent results, providing a feasible and ethic

way of getting pregnant some selected patients who have otherwise been considered as having an infertility reserved diagnostic.

Key words: 1. Oocyte reception; 2. Assisted fertilization; 3. Egg donation.

Sumário

Dedicatória.....	i
Agradecimentos Especiais.....	ii
Agradecimentos	iii
Lista de Figuras.....	vi
Lista de Tabelas.....	vii
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	viii
Resumo.....	ix
Abstract.....	xi
1. Introdução	01
1.1. Objetivos	15
2. Casuística e Método	16
3. Resultados.....	25
3.1. Faixa etária	26
3.2. História obstétrica.....	27
3.3. Causas da infertilidade.....	28
3.4. Tratamentos anteriores	29
3.5. Técnica de fertilização assistida utilizada.....	30
3.6. Número de ciclos.....	31
3.7. Número de embriões transferidos por ciclo.....	31
3.8. Número total de gestações por ciclo	32
3.9. Número de gestações por paciente.....	33
3.10. Evolução das gestantes	34
3.11. Produto da gestação	35

3.12. Recém-nascido vivo ou “baby home”	36
4. Discussão	37
5. Conclusões.....	60
6. Referências Bibliográficas	62
7. Anexo	74
8. Apêndice.....	82

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A doação-recepção de oócitos é uma técnica de reprodução assistida, na qual o gameta feminino é doado por uma mulher diferente da que receberá o embrião resultante.⁽¹⁾ Isto pode ser conseguido a partir da coordenação de múltiplos procedimentos médicos e técnicas complexas, as quais foram obtidas a partir de importantes avanços alcançados com estudos de manejo da infertilidade.⁽²⁾ É uma prática que tem como objetivo possibilitar mulheres, sem oócitos ou sem oócitos saudáveis, de engravidarem e terem filhos.⁽³⁾

A primeira gravidez conseguida a partir da fertilização *in vitro* de um oócito doado foi em 1983, por Trounson *et al.*,⁽²⁾ e a primeira gestação a termo foi conseguida em 1984, por Lutjen *et al.*,⁽⁴⁾ em uma paciente com falência ovariana primária.^(2,4) Com o intuito de atender pacientes com alterações oocitárias, esta técnica vem sendo utilizada, estendendo, assim, a vida reprodutiva da mulher.⁽⁵⁾

As primeiras aplicações de oócitos doados foram em mulheres com hipogonadismo hipergonadotrópico, secundário à falência ovariana precoce. Hoje sua aplicação estende-se inclusive a mulheres com função ovariana conservada.⁽²⁾

A realização de técnicas de fertilização assistida com oócitos doados vem se tornando rotineira nos centros de reprodução humana, principalmente, devido aos ótimos resultados obtidos, com taxas de implantação superiores aos 25%.⁽⁶⁾

A doação-recepção de oócitos assume hoje uma significativa importância médica e social, levando-se em conta os problemas emocionais das mulheres que não podem satisfazer a experiência de uma gestação, em consequência da falência ovariana incipiente ou definitivamente instalada.⁽⁷⁾

Como referido, nas candidatas à recepção de oócitos doados estão incluídas mulheres sem função gonadal e mulheres com função gonadal. Dentre as mulheres sem função gonadal destacam-se: mulheres com disgenesia gonadal, agenesia ovariana, falência ovariana prematura, falência ovariana secundária a iatrogenia (cirurgia, radiação, tratamento químico), síndrome dos ovários resistentes e menopausa fisiológica. Dentre as mulheres com função gonadal destacam-se: mulheres com idade reprodutiva avançada, más respondedoras, antecedentes de anomalias genéticas maternas transmissíveis, falha repetida com técnicas de reprodução assistida e abortamento habitual.^(1,2,8)

As disgenesias gonadais que podem se beneficiar da doação de oócitos são aquelas por alteração numérica ou estrutural dos cromossomos, com fenótipo feminino e desenvolvimento genital normal e as disgenesias gonadais puras. Nestes casos, são muito importantes o diagnóstico precoce da doença e o tratamento hormonal substitutivo para um desenvolvimento genital adequado.⁽¹⁾

Em consequência das alterações no comportamento social feminino, as mulheres estão atrasando suas gestações e esbarrando no limite feminino em reprodução: a idade. Com o avançar da idade, o número de oócitos diminui, ocorre uma queda na qualidade oocitária; a endocrinologia feminina

se altera e as complicações, como o abortamento, aumentam. O reflexo deste processo é o grande número de mulheres acima de 35 a 37 anos, que devido à própria história natural não conseguem engravidar.⁽⁵⁾ Sabe-se que em mulheres com mais de 40 anos, mesmo com ciclos menstruais normais com oócitos próprios, as possibilidades de obtenção de gestação com outras técnicas de reprodução assistida são inversamente proporcionais à idade. Além disso, os abortos e malformações congênitas são diretamente proporcionais. A este grupo deve-se informar suas possibilidades e indicar a doação-recepção de oócitos como alternativa de primeira escolha, ou se desejarem, após tentativas com outras técnicas.⁽¹⁾

É necessário para o êxito desta técnica, a correta preparação da doadora, da receptora e, fundamentalmente, a coordenação entre a disponibilidade de oócitos de boa qualidade e um endométrio com a maturação adequada para permitir a implantação embrionária.^(2,8)

Os primeiros ciclos de transferência embrionária através de ovodoação implicavam dificuldades na sincronização entre as receptoras e os ciclos das doadoras para assegurar nas primeiras um endométrio receptivo adequado para a implantação. No presente momento, esta sincronização é feita através da aplicação de diversos protocolos que utilizam estrógenos e progesteronas para obter um endométrio apto para a nidadao. Os hormônios também são necessários para manter a gestação precoce, como naturalmente o corpo lúteo a faz. Com este propósito utilizamos precocemente diferentes protocolos de esteróides sexuais até que a

placenta assuma a função secretora necessária à sustentação da gravidez.^(2,8)

A recepção de oócitos doados constitui-se na situação clínica única em que a gestação é obtida na ausência de corpo lúteo e onde importantes informações podem ser colhidas sobre o fenômeno de sincronia entre o endométrio e embrião, ou melhor, do processo inicial de implantação embrionária.⁽⁹⁾

Em relação à seleção e seguimento da receptora, esta deve passar por um protocolo próprio, que consta de avaliação psicológica, consentimento informado e avaliação médica.⁽¹⁰⁾ As condições para a inclusão no programa de recepção de oócitos doados são situações médicas e/ou psicológicas nas quais a gestação não esteja contra-indicada.⁽²⁾

O controle completo para a avaliação básica deve ser indicado antes que o casal infértil submeta-se ao procedimento ou ingresse em um programa de doação-recepção de oócitos. Este controle consta de exame físico da receptora; avaliação cardio pulmonar, especialmente em mulheres com disgenesia gonadal ou nas candidatas de idade avançada (até 55 anos); da avaliação dos fatores reprodutivos (ultra-sonografia endovaginal, histerossalpingografia, histerossonografia e/ou histeroscopia para confirmar a presença de uma cavidade uterina adequada); análise espermática do parceiro da receptora (para avaliar o fator masculino); exame psicológico e social do casal; sorologias para rubéola, sífilis, HIV (vírus da imunodeficiência humana), hepatite B e C; análise do grupo sangüíneo e fator Rh. Deve-se também afastar a possibilidade de infecções tais como:

gonorréia, clamídia, micoplasma e outras patologias que possam afetar o trato genito-urinário.^(2,8,10)

As doadoras de oócitos devem possuir determinadas características, tais como: serem mulheres em idade fértil, entre 18 e 35 anos, preferivelmente com antecedentes de fertilidade prévia; saudáveis, com avaliação médica e psicológica; terem bom nível intelectual; seguimento negativo para doenças sexualmente transmissíveis e não apresentarem antecedentes de desordens do tipo genético e, quando possível, ter cariótipo normal confirmado. O estudo para anomalias genéticas deve ser decidido pela Instituição e pelo País onde se pratica a ovodoação.^(1,2,8)

Apesar da doadora de oócitos no momento do procedimento apresentar uma sorologia negativa para o vírus da imunodeficiência humana (HIV), teoricamente existe um risco posterior de soroconversão. Nesta linha de pensamento, destaca-se um estudo prospectivo multicêntrico, realizado entre doadores de sangue com sorologia negativa no momento da transfusão, em que se observaram 11.532 pacientes os quais foram submetidos a cirurgias cardiovasculares e receberam 120.213 transfusões.

Apenas dois indivíduos mostraram sorologias positivas posteriores para HIV (estimativa de risco: 1/60.000), fato relacionado com a soro-conversão dos doadores. Além disso, a chance de inoculação do HIV através da transferência de um embrião seria sensivelmente menor do que a ocasionada pela transfusão de um frasco de sangue doado, sendo, por analogia e na pior das hipóteses de um caso por 60.000 transferências embrionárias. Entretanto, deve-se destacar que até hoje não há relatos da

transmissão do HIV durante o processo de doação de óvulos por doadoras com sorologia negativa. No futuro, a caracterização do antígeno pela técnica de PCR poderia reduzir risco teórico de transmissão do HIV por doação de óvulos.⁽⁹⁾

A ovodoação, sem dúvidas, converteu-se em parte integrante do manejo da infertilidade, mas o manejo do material genético leva ainda a múltiplas controvérsias éticas, legais, sociais e religiosas.⁽²⁾

Em relação aos aspectos médico-legais, existem fortes debates em vista do forte componente religioso, moral e ético que envolve a questão. A grande diversidade religiosa, filosófica e médica faz da reprodução assistida uma área polêmica, em que as reflexões legais e éticas, ainda são pouco definidas pelas diversas sociedades. A rapidez do aparecimento de novos conhecimentos científicos nessa área é acentuada, agravando a possibilidade de estabelecer normas e legislações perenes.⁽⁹⁾

Os oócitos a serem doados têm sua origem através de várias fontes possíveis e as doadoras costumam ser subordinadas à legislação vigente em cada país onde se pratica tal procedimento de doação-recepção. Independentemente deste fator, os oócitos são obtidos fundamentalmente através de intervenções médicas, nas circunstâncias a seguir descritas:

- As mulheres que se submetem à hiperestimulação somente para doar seus óvulos de forma altruística são raras, devido à razões naturais como efeitos colaterais da medicação, hiperestimulação, gravidez, problemas psicológicos e outros.⁽³⁾ Pacientes doadoras, geralmente, são jovens e param de utilizar métodos anticoncepcionais hormonais

para terem seus ovários estimulados. Isso faz com que sua chance de engravidar seja maior, desde que tenham relações sexuais durante o programa de doação.⁽³⁾ A doação de oócitos de mulheres que não estão realizando procedimentos de fertilização assistida, implica em uma série de riscos que devem ser considerados, como os riscos inerentes ao procedimento cirúrgico (da anestesia, de infecção ou de trauma) e a possibilidade da Síndrome de Hiperestimulação Ovariana, como conseqüência da indução da ovulação.⁽²⁾

- A utilização de uma doadora da família ou conhecida da receptora pode prevenir o possível risco de consangüinidade e também permitir a receptora escolher parte da origem do material genético do seu futuro filho. Este tipo de doação não pode ser realizado em todos os países, e dependerá da legislação que cada um tenha a respeito do anonimato dos doadores de gametas.⁽¹⁾
- Durante um processo de esterilização feminina, nos países onde tal procedimento é autorizado, pacientes férteis que desejam realizar ligadura tubária e, em troca de sua realização de forma gratuita, submetem-se à estimulação ovariana e doação de óvulos. O mesmo ocorre durante cirurgia terapêutica ou laparoscopia diagnóstica, quando realizada no período peri-ovulatório, de pacientes que aceitam receber medicamentos para a indução da ovulação antes do procedimento cirúrgico.⁽²⁾
- Com o objetivo de possibilitar e suprir a necessidade de oócitos, outros programas de doação foram criados dentro das normas legais para

cada país. Programas de doação de óvulos com incentivo financeiro surgiram na Inglaterra, Israel, Dinamarca, Espanha e Grécia. Esses incentivos compensariam as doadoras das inconveniências do tratamento: injeções e seus efeitos colaterais, tempo gasto em consultas, analgesia, punção, além das possíveis complicações ainda mais severas como gravidez, infecção, hiperestímulo e sangramento.⁽³⁾

Em 1993, a revista *Survey* publicou que aproximadamente 60% dos programas para obtenção de oócitos oferecidos utilizavam incentivos financeiros. Em 1997, 78% dos 335 programas de reprodução humana, que foram informados à *American Society for Reproductive Medicine*, iniciaram-se porque havia programas de doação e, destes, 23% ofereciam escolha de doadoras. Em 1999, alguns programas de fertilização *in vitro* (FIV) ofereciam cinco mil dólares pela doação. Surgiram *sites* via *Internet*, exclusivamente, para oferecer doadoras de oócitos. Alguns pediam até 50 mil ou mais dólares, dependendo das características físicas e/ou intelectuais das doadoras. Programas de reprodução humana, casais inférteis e agências de modelos começaram a recrutar mulheres, em alguns países, através de avisos em jornais e/ou em escolas, fazendo com que surgissem as doações por caráter financeiro.⁽³⁾ É controverso quando pacientes férteis ou não, geralmente estudantes universitárias, que recebem uma contribuição econômica em troca dos seus oócitos. Isto também deve estar de acordo com a legislação do país onde será realizado o procedimento.⁽¹⁾

- Existem mulheres que participam de programas de FIV ou outros programas de fertilização assistida com oócitos excedentes que doam de forma voluntária e anônima. Uma variação deste grupo, também anônima, é o que chamamos de doação compartilhada de óvulos, na qual as pacientes que necessitam submeter-se à FIV e por motivos econômicos não a podem realizar, assim, doam parte dos oócitos para uma receptora que, por outro lado, doa a medicação para a estimulação ovariana para esta paciente.^(1,2,7) Nos países em que a doação é anônima e sem caráter financeiro surgiram dois programas: no primeiro, as pacientes que necessitavam passar por uma técnica de reprodução assistida, sem condições financeiras, se propuseram a doar seus oócitos excedentes para casais que cobrissem seus gastos com as técnicas utilizadas (doação compartilhada de óvulos). No segundo, parentes das mulheres inférteis doavam seus oócitos para outras mulheres inférteis não identificadas. No caso de uma paciente doar seus oócitos em troca de custeio do programa, seus gastos podem cair em torno de 50 a 60%, fazendo com que mais casais inférteis e sem condições financeiras submetam-se a esse programa.⁽³⁾ O programa de doação compartilhada de óvulos acrescenta mais uma nova situação para que uma mulher doe parte de seus óvulos e, também representa uma alternativa válida, na medida em que oferece índices satisfatórios de gravidez, tanto para as receptoras quanto para as doadoras. Ao mesmo tempo, assume uma significativa importância social: primeiro, ao colocar ao alcance do serviço público, uma técnica de elevado custo

para solução da infertilidade de pacientes carentes; e segundo, proporcionar a parceria entre os casais com diferentes condições médicas e sócio-econômicas e, assim, poder ajudar a solucionar a infertilidade de ambos.⁽⁷⁾ O programa de doação compartilhada de oócitos além de oferecer viabilidade de uma quantidade maior de oócitos, diminuindo o tempo de espera das receptoras. É uma valiosa ferramenta de pesquisa, porque pode avaliar sobre circunstâncias diferentes, os resultados de um mesmo *pool* de oócitos sendo fertilizados por diferentes espermatozóides, e os conseqüentes embriões formados transferidos para duas mulheres diferentes sob circunstâncias diferentes.⁽¹¹⁻¹³⁾ Mesmo nos países onde é permitido incentivo financeiro para se obter doadoras de oócitos, a maioria dos autores tem defendido a doação compartilhada de oócitos. Eles consideram moralmente e eticamente inaceitável expor mulheres saudáveis aos possíveis riscos medicamentosos e cirúrgicos da concepção assistida, quando existe uma alternativa de obtenção de oócitos que beneficia as duas partes envolvidas.⁽¹²⁻¹⁵⁾

No Brasil, as técnicas de Reprodução Assistida são regulamentadas apenas pelas normas éticas, definidas pela resolução do Conselho Federal de Medicina (CFM) de novembro de 1992 (nº 1358/92). Não há lei específica sobre o tema. O CFM adotou normas éticas para a utilização das técnicas de Reprodução Assistida e para a doação-recepção de oócitos ou pré-embriões, estabelecendo alguns parâmetros nas quais incluem: a doação nunca terá caráter lucrativo ou comercial; as doadoras não devem conhecer

a identidade das receptoras e vice-versa; e, obrigatoriamente, será mantido o sigilo sobre a identidade das doadoras de gametas e pré-embriões, assim como das receptoras.⁽¹⁶⁾

Em situações especiais, as informações sobre doadores, por motivação médica, podem ser fornecidas exclusivamente para médicos, resguardando-se a identidade civil da doadora. Além disso, as clínicas, centros ou serviços que empregam a doação devem manter, de forma permanente, um registro de dados clínicos de caráter geral, características fenotípicas e uma amostra de material celular das doadoras e, estando na região de localização da unidade, o registro das gestações evitará que uma doadora venha a produzir mais que duas gestações, de sexos diferentes, por área de um milhão de habitantes. Também, a escolha das doadoras é de responsabilidade da unidade e, dentro do possível, deverá garantir que a doadora tenha a maior semelhança fenotípica, além da imunológica para uma máxima possibilidade de compatibilidade com a receptora. Não é permitido ao médico responsável pelas clínicas, unidades ou serviços, nem aos integrantes da equipe multidisciplinar que nelas prestam serviços, participarem como doadoras nos programas de Reprodução Assistida.⁽¹⁶⁾

Na América Latina, muitos países não possuem sequer manifestação das sociedades médicas, assim como legislações. Tal situação não é a ideal, pois os especialistas na área de reprodução humana destes países ficam sem saber como proceder e podem ignorar a opinião da comunidade, quanto aos diferentes aspectos éticos das técnicas de reprodução assistida.⁽¹⁶⁾

Não obstante a existência dos programas de doação de gametas ter se popularizado nos diversos continentes, a doação de óvulos não é permitida em alguns países como: Áustria, Egito, Japão, Alemanha e Suécia.⁽⁹⁾

Existem países, a exemplo da Noruega, onde é permitida a doação de espermatozoides, mas é vedada a doação de óvulos, sendo penalizada com três meses de prisão aquela que a pratica. Por outro lado, algumas nações possuem normas de tal forma liberais, a exemplo dos Estados Unidos, que admitem até mesmo a remuneração de doadoras de gametas.⁽¹⁷⁾ Em Israel, o governo subsidia todo tratamento com doação de oócitos através do seguro médico da paciente, não se importando se o procedimento será realizado num serviço público ou instituição privada.⁽¹⁸⁾ No Líbano, a doação de óvulos é permitida, desde que usada pelo marido da doadora, para fertilização de uma outra esposa, como a lei assim permite.⁽¹⁷⁾

A Igreja Católica Apostólica Romana, em relação a fertilização assistida heteróloga, adota a posição oficial de que todo ser humano deve ser acolhido sempre como um Dom e bênção de Deus. Do seu ponto de vista moral, só é verdadeiramente responsável para com quem há de nascer quando a procriação for fruto do matrimônio e a fidelidade dos cônjuges. Em sua unidade no matrimônio, comporta o recíproco respeito do seu direito de chegar a ser pai e mãe, exclusivamente, um através do outro.⁽¹⁹⁾

Portanto, a fecundação artificial heteróloga é contrária à unidade do matrimônio, à dignidade dos cônjuges, à vocação própria dos pais e ao direito dos filhos de serem concebidos e trazidos ao mundo no matrimônio; assim, pelo matrimônio e por estas razões determinam um juízo moral

negativo deste tipo de fecundação. É moralmente ilícita a fecundação de uma mulher casada com o esperma de um homem que não seja seu marido, assim como, a fecundação com o esperma do marido, de um óvulo não procedente de sua mulher. Seria igualmente injustificável a fecundação artificial de uma mulher não casada, solteira ou viúva, seja quem for a doadora.⁽¹⁹⁾ Nesse sentido, a Igreja coloca a questão do amor, do sexo e da reprodução dentro de sua lógica dogmática: de que a união do homem e da mulher, através do matrimônio, tem como objetivo único a reprodução, não importando os equívocos da natureza, tais como a infertilidade ou a satisfação do casal.⁽²⁰⁾

Não seria justificável o enorme esforço da humanidade em desenvolver o conhecimento científico se não fosse para colocá-lo a serviço do homem. Não podemos, por dogmas ou crenças religiosas, retornar ao primitivismo da humanidade. Se a Medicina pode intervir sobre a Reprodução Humana, dentro de princípios morais e éticos perfeitamente estabelecidos, por que impedir essa intervenção? Existe perfeita legitimidade na procura do homem pela sua realização e satisfação plenas. A ciência colocada-se à sua disposição e deve ser um instrumento dessa realização no sentido do determinismo biológico da reprodução e da satisfação do casal para que com a chegada de um filho justifique plenamente a utilização das técnicas de reprodução assistida.⁽²⁰⁾

1.1. Objetivo

O objetivo deste estudo consiste em analisar um programa de reprodução medicamente assistida através da doação-recepção de oócitos, suas diretrizes, técnica, resultados e evolução da gravidez em pacientes inférteis, submetidas a este tipo de tratamento no Instituto de Medicina Reprodutiva de São José do Rio Preto-SP - IMR, centro acreditado e pertencente à Red Latino-Americana de Reproduccion Asistida – REDLARA.

2. CASUÍSTICA E MÉTODO

2. CASUÍSTICA E MÉTODO

A casuística analisada resulta de um estudo retrospectivo realizado com quatorze pacientes, submetidas às técnicas de reprodução assistida associada ao programa de doação-recepção compartilhada de oócitos através do Instituto de Medicina Reprodutiva de São José do Rio Preto – SP (IMR), centro acreditado pela *Red Latino Americana de Reproduccion Asistida* – REDLARA, no período de Janeiro de 1998 a Dezembro de 2002.

Foram analisados os seguintes dados: faixa etária, história obstétrica, causas da infertilidade, tratamentos anteriores de fertilização assistida, número de ciclos realizados, técnica utilizada, número de embriões transferidos por ciclo, número de gestação por ciclo, número de gestação por paciente, evolução da gestação e produto da gestação. Pela importância do “bebê em casa” como meta final e avaliação de todos os métodos de fertilização assistida e possibilidade de homogeneizar a amostra, registrou-se, nos casos positivos de gravidez, apenas as pacientes que tiveram, dentro do período estudado, pelo menos uma resolução obstétrica final, tanto aborto quanto parto prematuro ou a termo.

A coleta de dados foi realizada através dos prontuários das pacientes, após aquiescência e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP e autorização do Prof. Doutor Antonio Hélio Oliani, Diretor Responsável pelo Instituto de Medicina Reprodutiva de São José do Rio Preto – IMR.

Os oócitos obtidos foram provenientes de pacientes submetidas a procedimento de reprodução medicamente assistida e que doaram, de forma anônima, de livre e espontânea vontade e sem remuneração por isto, seus oócitos excedentes após orientação e consentimento informado assinado (Anexo 1).

As pacientes foram selecionadas para doação ou recepção de oócitos, de acordo com os critérios médicos e éticos pré-estabelecidos pelo Instituto.

- Nas doadoras, impõem-se a idade inferior aos 35 anos, o relato de história familiar negativa de doenças de transmissão genética e avaliação médica e psicológica especializada, juntamente com o parceiro. Além da determinação de grupo sanguíneo e fator Rh, do rastreamento de infecções no casal (pesquisa sorológica para Sífilis, HIV e Hepatites B / C), incluindo na mulher as sorologias para toxoplasmose e rubéola, deve-se obter uma amostra de material celular para ser arquivado pelo Serviço, de acordo com o que determina a resolução número 1358/92 do Conselho Federal de Medicina.
- Nas receptoras, existe a necessidade de se ter indicação precisa para utilização de doação de oócitos; de apresentar, após avaliação clínica e complementar, condições físicas favoráveis frente a uma gestação; de aceitar submeter-se à avaliação psicológica especializada que é extensiva ao parceiro (na qual é analisada a segurança quanto à aceitação de um recém-nato que não terá a identidade genética integral do casal); de se determinar os grupos sanguíneos e fatores Rh; de rastreamento de infecções no casal (à semelhança do casal doador); e, de assinar o termo de consentimento informado (Anexo 2), o qual

deverá constar, além das informações técnicas e médicas, a impossibilidade de identificação da doadora (exceto por justificadas razões médicas futuras).

Após o cadastramento das pacientes, as doadoras foram selecionadas para o procedimento compartilhado com suas respectivas receptoras, levando-se em consideração os seguintes parâmetros: compatibilidades dos sistemas ABO e Rh, negatividade dos resultados sorológicos e, principalmente, semelhança das características físicas (altura, cor da pele, cor dos olhos, cor e textura dos cabelos) com o intuito de minimizar possíveis discrepâncias entre o binômio mãe e filho.

Foram excluídas as pacientes com sorologia positiva para HIV, sífilis, hepatite B ou C e as que não preencheram todos os critérios anteriormente citados. Aquelas que produziram um número insuficiente de folículos para doação compartilhada (menos que quatro folículos) também foram excluídas do programa de doação-recepção, mas não do procedimento de fertilização assistida.

Os óvulos doados para o programa foram fertilizados com os espermatozóides do marido da receptora e, posteriormente, os embriões resultantes foram transferidos para o útero da receptora. Quando ocorreram embriões excedentes, estes foram criocongelados e armazenados para utilização em transferência intra-uterina futura.

Para que os embriões encontrassem condições para se implantarem e se desenvolverem foi necessário que o útero da receptora estivesse sincronizado com a fase funcional da doadora. O protocolo de sincronização

entre doadora e receptora, utilizado pelo Instituto de Medicina Reprodutiva (I.M.R.) constou de esquema de hiperestimulação ovariana para as doadoras, iniciado por um bloqueio do ciclo prévio com anticoncepcional combinado hormonal oral (Gynera®), para sincronização da menstruação e, posteriormente, com análogos de GnRH (Lupron® 3,75mg em dose única ou 2,8mg em doses diárias de 0,1ml).

Após o primeiro dia do período menstrual foi realizada a dosagem de estradiol plasmático, cujo resultado quando mostrou-se igual ou inferior a 30 pg/ml, permitiu o início de FSH recombinante 300UI/dia (Puregon® 150UI - 02 ampolas SC ou IM) por três dias e, após, HMG 300UI/dia (Menogon® 75UI – 04 ampolas IM) por aproximadamente sete dias. A partir do sétimo ou oitavo dia de estimulação ovariana foi realizado controle diário ultra-sonográfico via vaginal (Ecógrafo marca ATL – Modelo HDI 3000 com sonda endovaginal de multifrequência de 5 a 9 megaHertz, USA) e quando se obteve a maioria dos folículos acima de 18-20 mm, foi administrado HCG por via intra-muscular na dose de 10.000 UI (Choragon®) e, 33-34 horas após, foi realizada a punção folicular, sob controle ultra-sonográfico endovaginal, por aspiração mecânica com seringa descartável atóxica (TERUMO, 20cc, USA) acoplada a agulha de punção oocitária (CCD, 26G, France), seguindo os protocolos específicos utilizados pelo Laboratório de Fertilização Assistida do Instituto de Medicina Reprodutiva (IMR).

A receptora iniciou o uso oral de valerato de estradiol (manipulação farmacêutica Drogaderma® de 2 mg ou Primogyna® de 1 mg) no dia em que a doadora iniciou a aplicação do FSH recombinante, utilizando 4 mg/dia por

seis dias e após controle ecográfico, 6 a 8 mg/dia. O controle ultrasonográfico do padrão endometrial e da espessura foi realizado para ajustes da dose de estrogênio no 6º dia, 12º dia e no dia anterior à aspiração folicular da doadora (estimado como trilaminar e acima de 7 mm de espessura). Também no dia anterior à punção folicular da doadora, foi realizada para arquivo de pesquisa, a dosagem do estradiol plasmático da receptora (estimado em nível superior a 200 pg/ml).

Iniciou-se o uso de progesterona na forma natural micronizada 600 mg/dia via vaginal em manipulação farmacêutica (Drogaderma®) de gel ou creme de 300 mg/ 4g duas vezes ao dia ou em cápsulas gelatinosas (Utrogestan®) de 100 ou 200 mg via vaginal (200 mg três vezes ao dia). A administração do valerianato de estradiol (6 a 8 mg/dia) e da progesterona natural micronizada (600mg/dia) pela receptora manteve-se após a transferência dos embriões até o resultado do teste de gravidez. Quando o resultado foi negativo, interrompeu-se a medicação com conseqüente sangramento de privação. Quando positivo, manteve-se a terapia hormonal substitutiva até a 10ª - 12ª semana de gestação.

Nos casos das receptoras possuidoras de função ovariana, esta foi também bloqueada com anticoncepcional hormonal combinado oral e análogo de GnRH (Lupron® 3,75mg, preferivelmente) nos mesmos dias e da mesma forma que a doadora, recebendo após a menstruação, terapia hormonal de substituição com programação semelhante à receptora sem atividade gonadal.

Aspirados os folículos e recuperados os oócitos, os mesmos foram classificados quanto ao seu grau de maturidade (VG, MI ou MII) sob lupa estereoscópica (Hilmut Hund GmbH h33, modelo D-6330 Witzlar 21,W. Germany) em câmara de fluxo laminar vertical (modelo VLFS.09 – VECO, Brasil), mantidos em meio de cultura (Human Tubal Fluid – HEPES Buffered - Modified HTF Medium – IRVINE CIENTIFICO, USA), acrescidos de 10% de suplemento de soro substituto (Serum Substitute Supplement - SSS – IRVINE CIENTIFICO, USA) e incubados em estufas especiais com controle eletrônico, jaqueteados com água e portas aquecidas, a uma temperatura de 37°C, em atmosfera de 5% de CO₂ e umidade mínima de 90% (FORMA SCIENTIFICO, model 3110 e model 3159, USA).

O procedimento utilizado para a fertilização dos oócitos foi a fertilização *in vitro* (FIV) convencional ou a injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI), dependendo do método determinado para o casal e da análise seminal do marido da receptora.

O esposo da receptora e o da doadora colhem o sêmen no local do procedimento, em horários divergentes, através de masturbação ou quando necessário através de punção epididimal ou de testículo. Este material é capacitado por migração-centrifugação, ou pela técnica de camada seguida de lavado-centrifugado e posterior “swim-up” ou dependendo da qualidade inicial da amostra, pela técnica de “Percoll” (SIGMA, USA) ou “Isolate” (IRVINE CIENTIFICO, USA).

Quando foi indicada a fertilização *in vitro* convencional, a inseminação dos oócitos com cerca de 200.000 espermatozoides para cada poço da

placa de cultura (NUNCLON, DENAMARK ou COSTAR, USA), contendo um mililitro de meio e recoberto superficialmente com óleo mineral estéril (SIGMA, USA), ocorreu entre quatro a seis horas após a captação oocitária.

Quando indicada a técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozóide, os oócitos foram desnudados com auxílio de hialuronidase (SIGMA, USA) e pipetas afiladas (COSTAR 5005, USA), cerca de três horas após a captação. A micromanipulação dos gametas foi realizada com microscópio invertido (ECLIPSE TE 300 – NIKON, JAPAN) acoplado com micromanipuladores e microinjetores (NARISHIGE CO MM188 / MN155 / MO202, JAPAN) montados com agulha de microinjeção de 35° e micropipeta (HUMAGEN, USA) entre uma e sete horas após sua desnudação, utilizando-se para auxílio na imobilização dos espermatozoides solução de polivinilpirrolidina a 10% (PVP 10% – SCANDINAVIAN IVF SCIENCE, DINAMARCA). Os oócitos injetados e transferidos para a placa de crescimento (CORNING OU COSTAR, USA) em meio de cultura de crescimento (Human Tubal Fluid HTF Medium – IRVINE CIENTIFIC, USA), foram preparados e mantidos da mesma forma que os oócitos recuperados.

Os oócitos foram examinados no microscópio invertido, cerca de 16 a 18 horas após o procedimento de FIV ou ICSI, no intuito de identificar fertilização. Os óvulos com fertilização normal (presença de dois pró-núcleos) foram identificados e mantidos nas gotas de meio individuais e recobertos com óleo mineral estéril sendo revistos para observação da divisão celular entre 40 e 48 horas após a inseminação e registro em arquivo próprio. Os embriões clivados após, aproximadamente, 72 horas da

fecundação no laboratório foram classificados (grau A, B, C ou D), transferidos para meio de cultura contendo 50% de SSS, estabilizados em estufa por 15 minutos, carregados sob visão esteroscópica em cateter próprio (fácil, intermediário ou difícil) previamente determinado (FRIEDMAN, FRANCE) e transferidos, sob visão ultra-sonográfica, para a região fúndica da cavidade endometrial da paciente. A paciente permaneceu em repouso na sala de transferência por cerca de trinta minutos e orientada para a importância da continuidade da hormonioterapia.

Constatando-se a gravidez bioquímica 12 dias após a transferência embrionária, através da dosagem quantitativa da fração beta do hormônio gonadotrófico coriônico, e a gravidez clínica, através do exame ultra-sonográfico pélvico endovaginal, na 5ª semana de gestação, procedeu-se entre a 11ª e 12ª semana de gestação a última avaliação pela equipe de Reprodução Humana. O processo foi efetivado por meio da verificação laboratorial da autonomia funcional hormonal placentária (dosagem sérica hormonal de estradiol e progesterona), da avaliação ecográfica da morfologia fetal inicial e da translucência nucal sendo, posteriormente, a receptora encaminhada com orientação, para acompanhamento obstétrico pré-natal junto ao seu médico tocoginecologista.

3. RESULTADOS

3. RESULTADOS

Após a análise dos dados contidos nos prontuários das quatorze pacientes submetidas ao programa de doação-recepção de oócitos como receptoras, os resultados foram analisados e apresentados em forma de Tabelas e figuras.

3.1. Faixa etária

Em relação à faixa etária (Figura 1) quando as pacientes foram submetidas à técnica de reprodução assistida como receptoras em programa de doação-recepção de oócitos, observou-se seis (42,8%) com idade igual ou inferior a 40 anos e oito (57,2%) com idade superior aos 40 anos. A idade média das pacientes foi de 40 anos; a paciente mais jovem 29 anos e a mais idosa 49 anos.

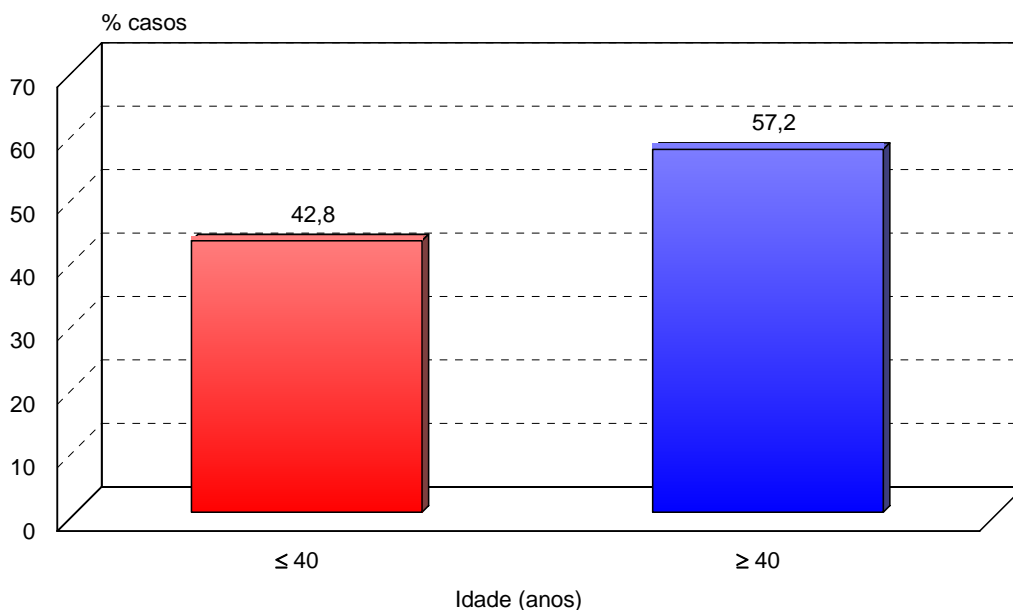


Figura 1. Distribuição por idade das pacientes receptoras de oócitos.

3.2. História obstétrica

Ao ser analisada a história obstétrica no momento da participação no programa de doação-recepção de oócitos (Tabela 1), observou-se que dez (71,5%) pacientes não referiram gestações anteriores e, portanto, foram catalogadas como infertilidade primária; uma (7,1%) referia duas gestações que evoluíram com aborto; duas (14,3%) referiam três gestações a termo e uma (7,1%) referia quatro gestações anteriores, sendo um aborto e três gestações de termo; todas, portanto, catalogadas como infertilidade secundária (28,5%).

Tabela 1. Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com a história obstétrica.

Gestação anterior	Número de casos	%
0	10	71,5
02	01	7,1
03	02	14,3
04	01	7,1
Total	14	100

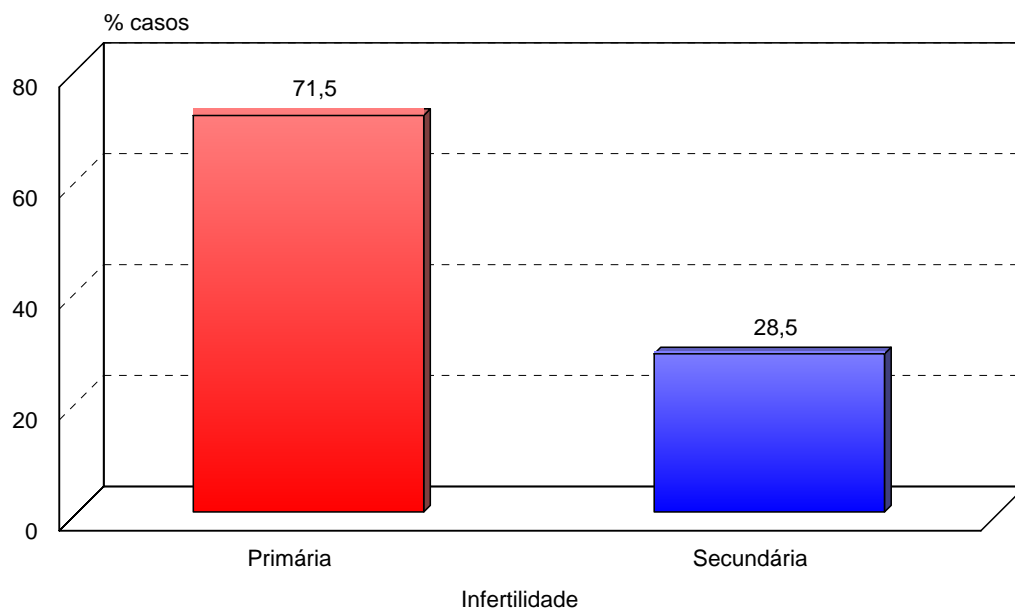


Figura 2. Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com o tipo de infertilidade.

3.3. Causas da Infertilidade

Em relação às causas de infertilidade (Tabela 2), observou-se um caso (7,1%) de má respondedora, cinco (35,7%) de menopausa precoce, cinco (35,7%) de falência ovariana e três (21,5%) de menopausa fisiológica.

Tabela 2. Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com as causas de infertilidade.

Causas de infertilidade	Número de casos	%
Má respondedora	01	7,1
Menopausa precoce	05	35,7
Falência ovariana	05	35,7
Menopausa fisiológica	03	21,5
Total	14	100

3.4. Tratamentos anteriores

Em relação a procedimentos de fertilização realizados anteriormente (Figura 3), observou-se que oito (57,1%) pacientes haviam sido submetidas a tratamentos anteriores para infertilidade e seis (42,9%) não haviam sido submetidas a nenhum tratamento anterior.

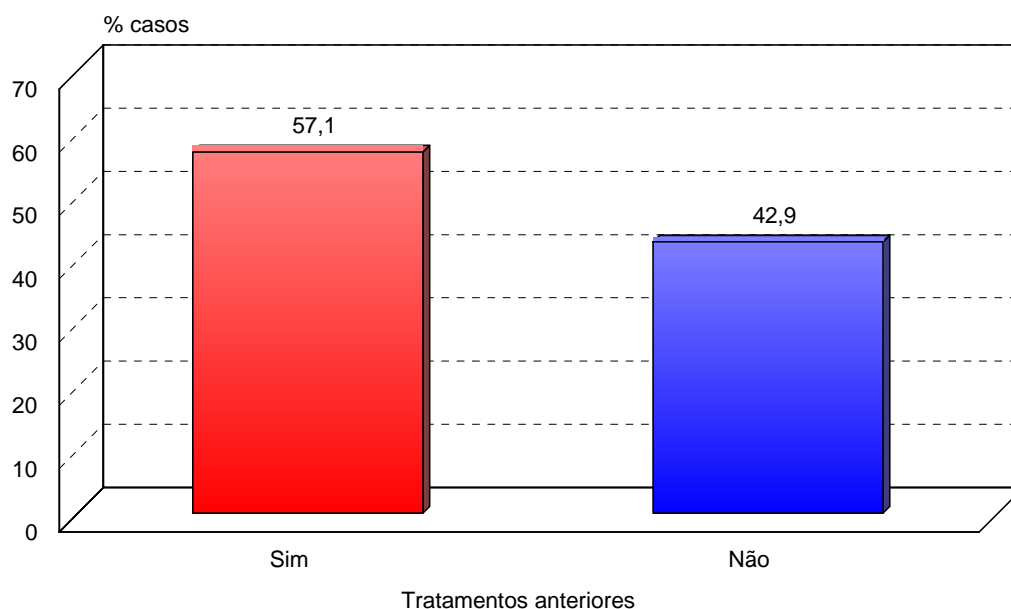


Figura 3. Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com procedimentos de fertilização anteriores.

3.5. Técnica de fertilização assistida utilizada

Em relação ao procedimento de laboratório utilizado (Figura 4), observou-se que em treze (92,9%) casos procedeu-se à ICSI e, em um (7,1%) à FIV.

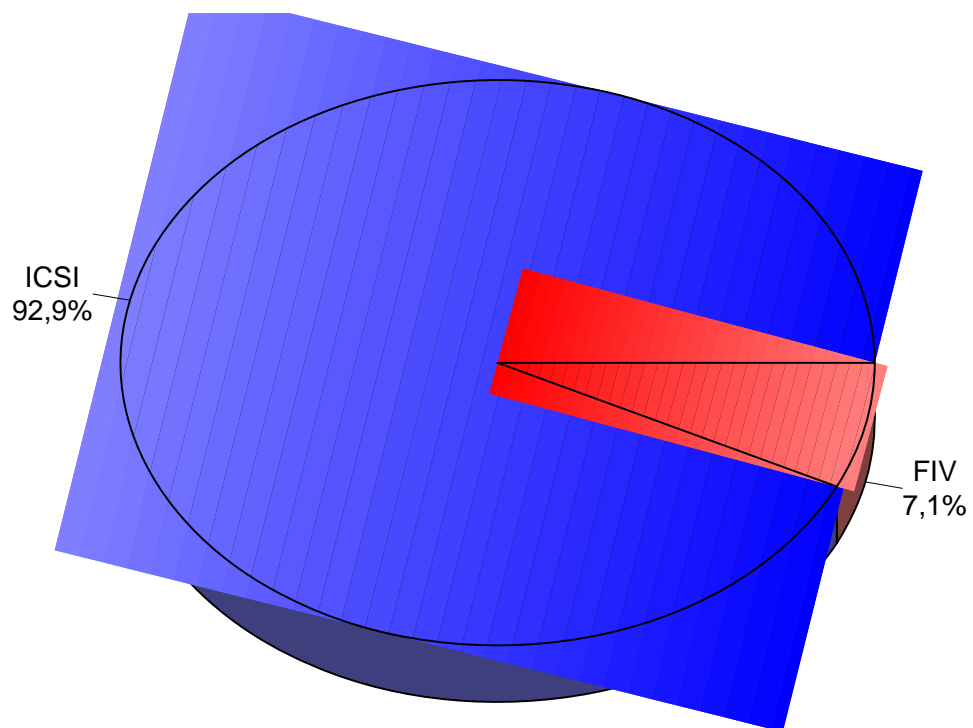


Figura 4. Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo a técnica de fertilização utilizada.

3.6. Número de ciclos

Quando analisados os dados relacionados aos números de ciclos de fertilização com a técnica de reprodução assistida em programa de doação de oócitos (Tabela 3), observou-se que das pacientes receptoras, nove (64,3%) fizeram uma tentativa, quatro (28,6%) duas tentativas e uma (7,1%) quatro tentativas, num total de 21 ciclos ou tentativas.

Tabela 3. Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com o número de ciclos/tentativas realizados.

Número de ciclos	Número de casos	%
01	09	64,3
02	04	28,6
03	-	-
04	01	7,1
Total	14	100

3.7. Número de embriões transferidos por ciclo

Em relação ao número de embriões transferidos por ciclo (Tabela 4) observou-se que em dez (47,6%) pacientes foram transferidos três embriões, em seis (28,6%) quatro embriões e em cinco (23,8%) dois embriões. Dos 64 embriões transferidos, 15 se implantaram (23,4%) e 11 embriões evoluíram, proporcionando uma taxa de gravidez de 17,2% por embrião transferido.

Tabela 4. Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com o número de embriões transferidos por ciclo.

Número de embriões	Número de casos	%
02	05	23,8
03	10	47,6
04	06	28,6
Total	21	100

3.8. Número total de gestações por ciclo

Quando analisados os 21 ciclos realizados nas quatorze pacientes, observou-se gestações (Figura 5), em onze (52,4%) ciclos.

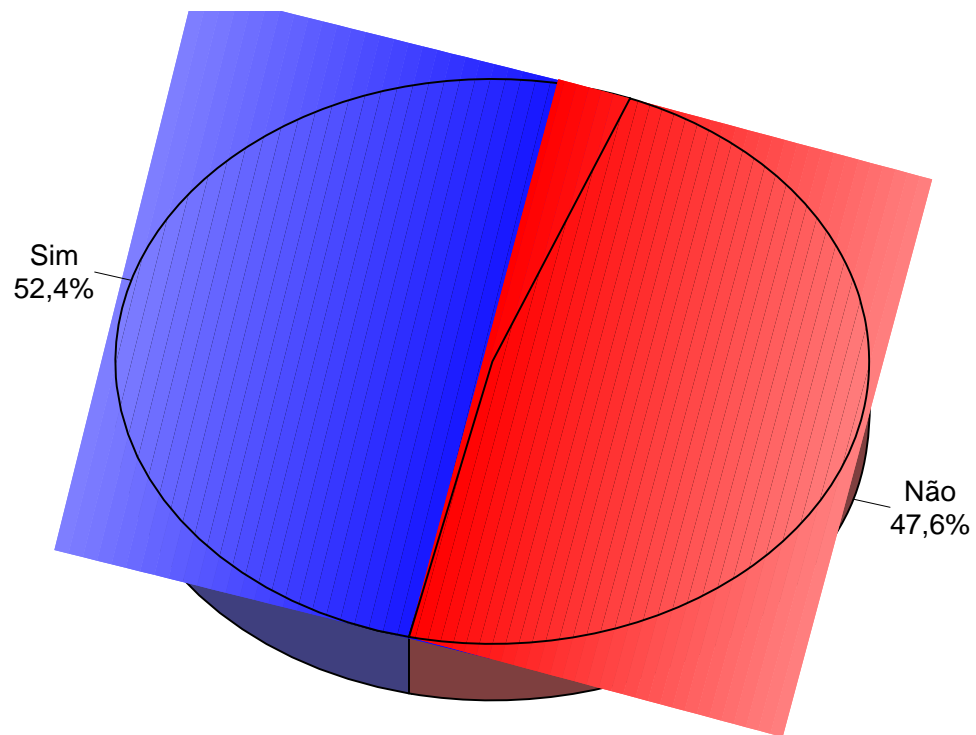


Figura 5. Distribuição de acordo com o resultado de gravidez por ciclo nas pacientes receptoras que foram submetidas ao programa de doação-recepção de oócitos.

3.9. Número de gestações por paciente

Em relação ao número de gestações por paciente (Figura 6), observou-se resultado positivo em dez (71,5%) e negativo em quatro (28,5%) através de confirmação bioquímica e ultra-sonográfica.

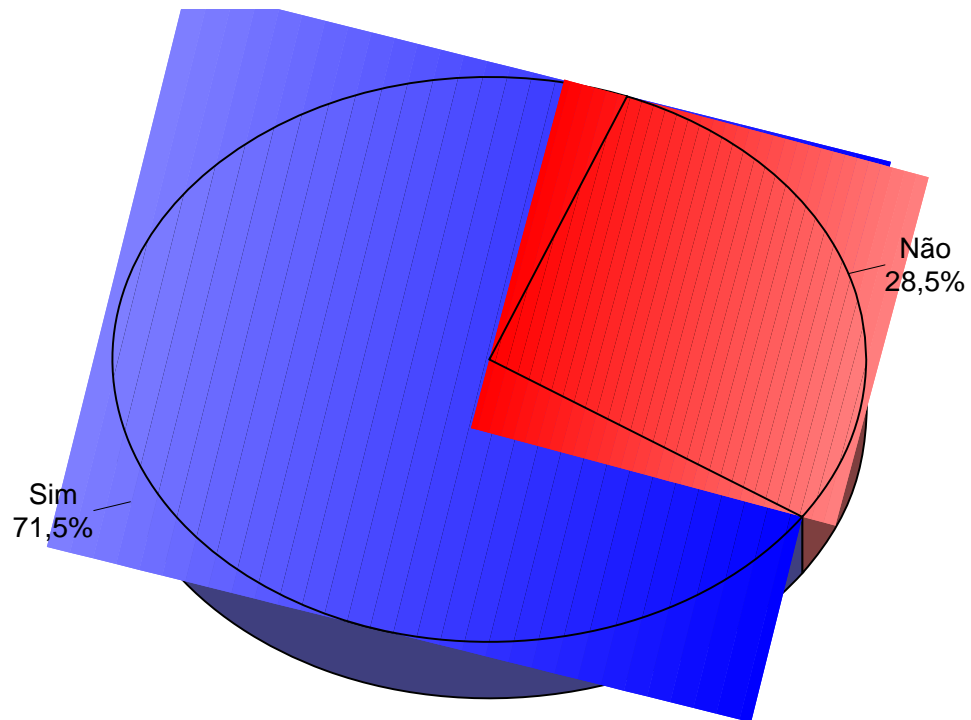


Figura 6. Distribuição de acordo com o resultado de gravidez por pacientes receptoras submetidas ao programa de doação-recepção de oócitos.

3.10. Evolução das gestações

Em relação à evolução das gestações (Tabela 5), observou-se que em quatro casos (36,4%) ocorreu aborto espontâneo, em um caso (9,1%) parto prematuro e em seis casos (54,5%) a gestação evoluiu até o termo (>37semanas) sem intercorrências obstétricas.

Tabela 5. Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com a evolução da gravidez.

Evolução da gravidez	Número de casos	%
Aborto	04	36,4
Parto prematuro	01	9,1
Parto a termo	06	54,5
Total	11	100

3.11. Produto da gestação

Em relação ao produto da gestação (Figura 7), observou-se oito casos (72,7%) de gestação única e três (27,3%) casos de gestações múltiplas, sendo duas (18,2%) duplas e uma (9,1%) tripla.

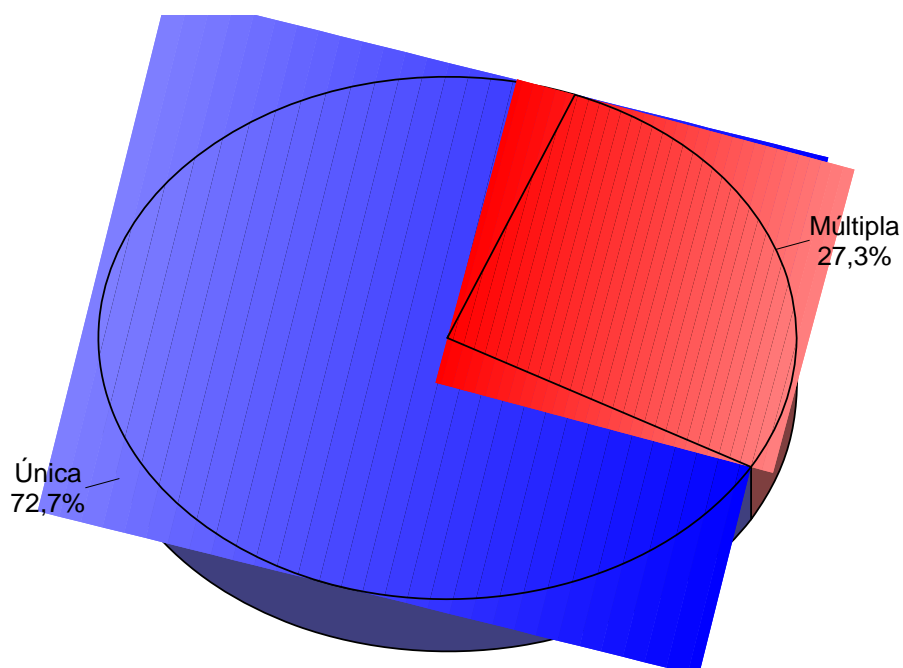


Figura 7. Distribuição das pacientes que foram submetidas à recepção de oócitos, de acordo com o produto da gestação.

3.12. Recém-nascido vivo ou “baby home”

Em todos os sete casos de parto seja a termo ou prematuro, único, duplo ou triplo, os recém-nascidos (11 crianças no total de sete gestações – quatro únicas, duas duplas e uma tripla) receberam alta hospitalar e foram encaminhados às suas casas, permanecendo em acompanhamento pediátrico até a presente data com desenvolvimento bio-psico-social dentro da normalidade, de acordo com registros médicos e informações pessoais possibilitando, portanto, uma taxa de “bebê em casa” de 50%.

4. DISCUSSÃO

4. DISCUSSÃO

Após a segunda guerra mundial ocorreu uma alteração no comportamento feminino. A mulher até então criada para a procriação, deixa de lado a maternidade e se preocupa com o mercado de trabalho. Através dos métodos anticoncepcionais e do aborto, elas evitam a gravidez. Ao adiarem a gestação elas avançam na idade e começam a sentir a influência do tempo na fertilidade feminina. Aproximadamente um terço dos casais em que a mulher tem 35 anos ou mais tem problemas de infertilidade. Dois terços das mulheres com 40 anos ou mais espontaneamente não podem conceber. Como consequência temos Serviços de Fertilização Assistida repletos de casais cujas mulheres têm idade acima de 35 anos e que não conseguem engravidar.⁽⁵⁾

A terapia de reposição hormonal é de vital importância para o êxito da técnica com doação de óocitos, já que o endométrio da receptora deve ter uma ótima receptividade para a implantação. Para obtê-la, foi necessário o suporte hormonal exógeno simulando os efeitos dos hormônios ovarianos sobre o tecido endometrial.⁽¹⁾ Todas as terapias seguem um padrão semelhante à inicialmente utilizada para obtenção de gravidez numa paciente agonal realizada por Lutjen *et al.*,⁽⁴⁾ em 1984. Foi utilizada uma forma seqüencial de substituição hormonal, empregando valerianato de estradiol via oral e anéis de progesterona, ambos em doses ascendentes durante as diferentes etapas do ciclo, com a finalidade de produzir níveis hormonais e mudanças endometriais similares às de um ciclo ovulatório.^(1,4)

O esquema de sincronização doadora-receptora utilizado nas pacientes incluídas neste estudo é semelhante à maioria dos autores.^(1-4,9,21)

Os primeiros esquemas de sincronização entre doadora-receptora empregavam os esteróides de forma cíclica e fixa, com um aumento periódico do estradiol, na tentativa de imitar os incrementos habituais da fase folicular de um ciclo menstrual.⁽³⁾ Atualmente, os modelos de administração de esteróides tentam solucionar os problemas de sincronia entre a doadora e receptora pelo prolongamento da fase folicular da receptora.⁽²⁾ Inicialmente, Serhal & Craft⁽²¹⁾ confirmaram que a receptividade endometrial para a implantação embrionária não seria dependente da dose de estradiol ou progesterona. O emprego de estradiol por duas a quatro semanas e a introdução da progesterona no dia anterior ao da coleta dos oócitos seria suficiente para a obtenção de bons resultados.

Existe uma grande quantidade de protocolos de substituição hormonal sem, contudo, interferir significativamente nos resultados.⁽¹⁾ Os estrógenos podem diferir no tipo e na via de administração. Mais comumente, utiliza-se o valerianato de estradiol, via oral (2-8 mg/dia) e o 17- β - estradiol. Podem também serem utilizados, com resultados semelhantes, os estrogênios conjugados via oral (3,75 mg/dia) e o valerianato de estradiol transdérmico (0,2 a 0,4 mg/dia). A utilização de valerianato de estradiol parenteral aplicado duas vezes por semana (2 a 6mg) tem, também mostrado excelentes resultados.^(1,2)

As doses e o tempo de preparação variam, desde doses fixas a doses crescentes. O endométrio é tolerante à manipulações durante a fase

estrogênica.⁽²⁾ A duração desta fase é, habitualmente, de 12 a 16 dias, entretanto, existem estudos em que varia o período de administração estrogênica com o fim de facilitar a sincronia entre doadora e receptora.⁽¹⁾ A duração desta fase pode ser aumentada para a sincronização de doadora e receptora, resultando em melhores taxas de gravidez.⁽²⁾ Navot *et al.*⁽²²⁾ com um protocolo curto de administração (5-10 dias) encontraram taxas de implantação similares às de um protocolo longo, ainda que a taxa de aborto tenha sido significativamente superior. O menor período de administração estrogênica com que conseguiram gestação foi de cinco dias.^(1,22)

Todos estes protocolos de estrógenos completam-se com a administração de progesterona, havendo um consenso na aplicação desta no dia da captação oocitária. Existem diversos esquemas de administração de progesterona, podendo ser na forma oleosa, por via intramuscular (50 a 100 mg/dia) ou a forma micronizada, por via vaginal (300 a 600 mg/dia).^(1,2) Em geral, os resultados obtidos são similares, e a utilização de uma ou outra forma dependerá da disponibilidade de mercado e das preferências de cada centro.⁽¹⁾

As receptoras com função ovariana presente podem ter a preparação endometrial afetada negativamente.⁽¹⁾ Segundo Navot *appud* Caetano *et al.*⁽⁶⁾ existe uma janela endometrial de máxima receptividade embrionária, fora da qual a implantação embrionária se reduz significativamente. Habitualmente, nos mamíferos, essa janela estaria aberta por poucas horas,^(9,23) entretanto, nos primatas esse período eleva-se para até 3 dias,^(9,24) Assim sendo, os análogos do GnRH têm sido utilizados em

mulheres com função ovariana presente, visando facilitar a sincronização entre doadoras e receptoras.^(9,25)

Nós utilizamos de rotina este bloqueio da função ovariana, pois a maior dificuldade nos primeiros ciclos de ovodação foi a falta de sincronia, devido às mudanças secretórias prematuras do endométrio relacionadas ao pico espontâneo de LH nestas mulheres como foi demonstrado por Remohí *et al.*⁽²⁶⁾ em 36,4% dos ciclos de avaliação, em um estudo com pacientes má-responderas. Este aumento endógeno de LH pode ser evitado, portanto, com a administração de agonista do GnRH, associada à terapia de substituição, sem os efeitos deletérios sobre a implantação.^(2,26) Os primeiros investigadores a introduzir sua utilização foram Meldrun *et al.*,⁽²⁵⁾ em 1989, em pacientes com função ovariana. Os objetivos foram de neutralizar a produção endógena de gonadotrofinas e evitar sua interferência nos ciclos de transferência em doação de oócitos e conseqüentemente melhores resultados.^(1,2,25)

Check *et al.*⁽²⁷⁾ verificaram uma maior taxa de gestação (46,3% por transferência) nas pacientes com função ovariana ausente, em comparação com aquelas com função presente (20,4% por transferência). Uma justificativa para tal diferença pode em parte ser explicada por “bias” ou “vieses” decorrentes da seleção das pacientes; uma vez que o grupo das pacientes com função ovariana normalmente é mais heterogêneo e inclui pacientes com falhas prévias em FIV, infertilidade inexplicada ou fatores imunológicos associados.^(9,27)

Têm-se avaliado os níveis séricos de estradiol e a espessura endometrial medida por ultra-sonografia como preditores da receptividade endometrial.^(2,28) Navot *et al.*⁽²²⁾ compararam em pacientes sob terapia de substituição hormonal, a espessura endometrial medida através da ultra-sonografia transvaginal e os padrões histológicos obtidos pelo estudo anatomopatológico a partir de biópsias. Encontraram nos endométrios menores ou iguais a 6mm, biópsias anormais, que conservavam padrões ultra-sonográficos semelhantes aos de mulheres com biópsias normais e endométrios com espessura maior ou igual a 7 mm, o que poderia predizer a fase histológica do endométrio e, conseqüentemente, substituir a biópsia.^(2,22)

Check⁽²⁹⁾ publicou um trabalho em que obteve 9% de gravidez em pacientes com endométrios menores que 10 mm avaliados por ultra-sonografia, no momento da aplicação do HCG, e 38,7% em pacientes com espessuras endometriais superiores a 10mm.^(2,29) Nosso corte mantém-se em 7mm, sendo este o limite para a transferência de embriões.

Semelhante ao nosso plano de acompanhamento das pacientes, Franco Jr. *et al.*⁽³⁰⁾ dispensam qualquer avaliação laboratorial ou histológica prévia, assim como, durante o ciclo de transferência embrionária. Apenas a análise ultra-sonográfica da espessura endometrial pode ser considerada como a base para o acerto das doses hormonais de reposição. Também, Remohi *et al.*⁽³¹⁾ descreveram, em um trabalho realizado com 465 ciclos de preparação endometrial, a relação entre a espessura do endométrio medida por ultra-sonografia e os níveis de estradiol séricos, concluindo que as

medidas ultra-sonográficas são preferíveis que os níveis hormonais para a monitorização do desenvolvimento endometrial.^(2,31)

Yaron *et al.*⁽³²⁾ em estudo realizado com 59 pacientes observaram que estas responderam bem ao protocolo com GnRH e HMG, durante um programa de FIV para ovodoação. Mesmo com o prolongamento da indução em dois ou três dias, houve um aumento no número de oócitos recuperados, com conseqüente maior porcentagem de oócitos maduros e maiores taxas de fertilização e gravidez.^(2,32) Isto nos permite a perfeita sincronização entre doadora-receptora, sem o temor da diminuição da taxa de sucesso.

Sauer *et al.*,⁽³³⁾ a partir de um estudo com 149 mulheres que realizaram 400 ciclos de hiperestimulação ovariana com análogo de GnRH e HMG em um programa exclusivo de ovodoação não compartilhada, raramente encontraram síndromes de hiperestimulação ovariana, com uma casuística menor que 2%, uma vez que estas pacientes não recebiam transferência embrionária.^(2,33)

Para pacientes doadoras de oócitos com síndrome dos ovários policísticos, Ashkenazi *et al.*⁽³⁴⁾ descrevem maior taxa de fertilização em pacientes bloqueadas com GnRH e estimuladas com FSH e HMG, provavelmente pelo efeito deletério que o LH endógeno produz nestes oócitos. Mulheres férteis com padrão ultra-sonográfico de ovários policísticos requerem menores doses de HMG para ser estimuladas, respondendo com significativa quantidade de folículos, incluindo um alto percentual de oócitos maduros.^(2,34)

Sauer⁽³⁵⁾ publicou uma revisão de 1.000 aspirações em doadoras de oócitos, na qual em apenas sete pacientes (incidência de 0,7%) ocorreram complicações: três tiveram síndrome severa de hiperestimulação ovariana, duas reações adversas à anestesia intravenosa, uma apresentou sangramento intra-abdominal após aspiração e outra retenção urinária e hematúria após aspiração. Não encontramos na nossa casuística pacientes com síndrome de hiperestimulação ovariana, independente do biotipo da paciente doadora ou do protocolo utilizado ou outras complicações.

No presente estudo, foram avaliadas 14 pacientes que foram submetidas à técnica de doação de oócitos, no Instituto de Medicina Reprodutiva de São José do Rio Preto-SP. A idade média das pacientes foi de 40 anos (variando de 29 a 49 anos), sendo que oito (57,2%) das pacientes tinham idade superior a 40 anos e dez (71,5%) delas não tinham nenhuma gestação anterior, ou seja, apresentavam infertilidade primária.

Quando analisadas as pacientes quanto a causa de infertilidade para a indicação de doação de oócitos, verificamos que apenas uma (7,1%) apresentava função ovariana preservada. As 13 (92,9%) pacientes restantes tinham insuficiência ovariana parcial (falência ovariana) ou total (menopausadas), demonstrando que o tempo é essencial para a obtenção da gravidez através dos seus próprios oócitos. Ao avaliarmos, então, a presença ou não de tratamentos anteriores, verificamos que oito (57,1%) pacientes haviam sido submetidas a tratamentos anteriores para infertilidade e seis (42,9%) pacientes não haviam sido submetidas a nenhum tratamento anterior. Estas pacientes tiveram a técnica de doação-recepção de oócitos

como a primeira opção, entendendo e aceitando a sugestão de proporcionarmos melhores resultados.

Recentemente, houve uma ampliação das indicações da doação de óvulos nas pacientes com menopausa fisiológica, especialmente na faixa entre os 50 e 60 anos.⁽²⁾ Paulson & Sauer⁽³⁶⁾ defendem esse procedimento nas pacientes que desejam engravidar, apesar por estarem em menopausa fisiológica, desde que se enquadrem nas normas médicas. No Instituto de Medicina Reprodutiva além dos procedimentos médicos e éticos, atentamos para o direcionamento moral da possibilidade de gravidez em uma mulher no período climatérico e próxima da senectude. Embora de disposição aleatória, invocamos o direito à maternidade até aos 50 anos de idade.

Existem diversas condições sociais que levam ao desejo de gravidez na menopausa, como a maior expectativa de vida, a incorporação da mulher ao mundo profissional que atrasou o casamento e a primeira gestação, assim como, uma maior formação de casais na quarta década. Em geral, uma melhoria nas condições de vida faz com que, cada vez mais, mulheres se sintam inclinadas a viver a maternidade de forma tardia.^(1,37) A doação de oócitos demonstrou ter bons resultados nesse grupo de mulheres.^(1,37,38) É, sem dúvida, a indicação mais controvertida de um programa de doação-recepção de oócitos. Por um lado, existe a liberdade ou o direito de utilização dessa técnica; no entanto, o alto risco obstétrico em idade avançada e o futuro do filho despertam diversos debates médicos e éticos.^(1,38,39)

Mulheres com risco elevado de transmissão de doenças genéticas, como alterações autossômicas dominantes, ligadas ao sexo ou autossômicas recessivas, que o homem tem e não aceita utilizar sêmen de doador, têm na doação de óvulos uma opção de procriar com segurança.^(1,7)

Nas repetidas falhas em programas de fertilização “in vitro” (FIV), o emprego da doação de oócitos acarreta um aumento na taxa de fecundação, assim como, nas taxas de gestação e de nascidos vivos por ciclo. Esta técnica beneficia as más respondedoras, ou seja, aquelas com falhas repetidas na fertilização com gametas aparentemente normais ou na implantação de embriões em útero e endométrio normais, assim como, nos casos de perdas gestacionais repetidas e inexplicáveis.⁽⁴⁰⁾ Geralmente, existe a persistência por parte do casal ou mesmo do clínico até esbarrar no imutável esgotamento folicular que os obriga a repensar na possibilidade do programa de doação-recepção de oócitos.

Pacientes com ovários tecnicamente inacessíveis para obtenção de oócitos, com diagnóstico de pelve congelada, que não conseguem engravidar naturalmente, nem por outras técnicas, podem, também se beneficiar com a técnica de doação de oócitos.⁽¹⁾

Embora o procedimento utilizado para realizar a fertilização dos oócitos seja o FIV convencional nos casos de números superiores a dois milhões de espermatozoides por ml ou a ICSI geralmente indicada quando existe fator masculino grave, pode-se utilizar a ICSI com ou sem fator masculino presente, pela obtenção de uma melhor taxa de fecundação.^(2,7)

Neste estudo foi utilizada preferencialmente, em 92,9% dos casos, a ICSI, não se limitando apenas aos casos de fator masculino alterado, já que esta técnica é atualmente uma rotina laboratorial. As pacientes também compartilham dos materiais de laboratório e os dados na literatura confirmam que a ICSI produz níveis de fertilização e de gravidez comparáveis aos obtidos no programa rotineiro de FIV com amostras de sêmen de pacientes normozoospermicos.⁽⁴¹⁾

Nas quatorze pacientes analisadas foram realizados um total de 21 ciclos. Nove (64,3%) delas realizaram apenas um ciclo, quatro (28,6%) dois ciclos e uma (7,1%) quatro ciclos. O número de embriões transferidos por ciclos variou proporcionalmente ao número conseguido de oócitos fertilizados em cada ciclo e da aceitação ou não dos embriões excedentes. Foram transferidos em cinco ciclos (23,8%) dois embriões, em dez ciclos (47,6%) três embriões e em seis ciclos (28,6%) quatro embriões. Os embriões excedentes em cada ciclo foram submetidos a congelamento, e em uma paciente houve a transferência de dois embriões descongelados em ciclo artificial posterior, com conseqüente gravidez e nascimento de feto único saudável.

O número ideal de embriões a ser transferido parece ainda não estar determinado, porém observa-se um aumento linear na taxa de gravidez clínica com o número de embriões (11,1% para um embrião a 36,7% para cinco). A porcentagem de gestação múltipla aumentou, significativamente, de 15,8% para 44%, quando dois e cinco embriões eram transferidos, respectivamente. A taxa de gestação tripla foi de 2,7% para três embriões e

de 8,3 % para cinco.^(2,42) Em 1998, o Registro Latinoamericano de Reprodução Assistida (RedLara) publicou uma tabela avaliando a taxa de gestação múltipla de acordo com o número de embriões transferidos e idade da mulher em FIV e ICSI. Concluiu que a gestação múltipla extrema (maior ou igual a três embriões) inicia-se com a transferência de quatro embriões e a taxa de gestação múltipla extrema aumenta significativamente ao transferir cinco ou mais embriões. A idade da mulher maior ou igual a 40 anos não descarta a ocorrência de gestação múltipla extrema.⁽⁴³⁾ Ao avaliar a taxa de gravidez clínica por transferência de acordo com o número de embriões transferidos em 2001, o Registro Latinoamericano de Reprodução Assistida concluiu que a taxa de gravidez não aumenta significativamente ao transferir mais de quatro embriões.⁽⁴⁴⁾

Não existe uniformidade entre normas existentes nos diversos países sobre o número de embriões a serem transferidos. Em Singapura, por exemplo, admite-se a transferência de quatro embriões em mulheres acima de 35 anos, com dois insucessos em procedimentos anteriores. O número ideal considerado na Itália é de três embriões transferidos, porém admite-se quatro em mulheres acima de 36 anos. Na Coreia do Sul, transfere-se entre quatro e seis pré-embriões, enquanto na Grécia o número varia entre cinco e sete.⁽²⁰⁾

No Brasil, a Resolução CFM nº 1.358/92 sugere a transferência de até quatro embriões por cada procedimento, com o intuito de impedir a transferência de um número cada vez maior de embriões. Visa obter sucesso de gravidez, porém aumentando ainda mais os riscos existentes de

gestações múltiplas. Atualmente, a tendência mundial é transferir no máximo dois embriões, fato este que evitaria a obtenção de gestações triplas ou de número superior. Isso deve-se, com certeza, ao aprimoramento das técnicas de fertilização assistida com resultados mais satisfatórios na obtenção de gravidez por tentativa de transferência, além da melhoria das técnicas de congelamento e descongelamento de embriões.⁽²⁰⁾ Soderstrom-Anttila *et al.*⁽⁴⁵⁾ recomendam a transferência eletiva de um único embrião, referindo que aumentando a proporção de transferência de um único embrião é possível reduzir o número de gestações gemelares sem afetar as taxas de parto em receptoras de oócitos.

Dos 21 ciclos realizados neste estudo, observou-se que ocorreram gestações em onze deles, ou seja, uma taxa de gestação por transferência de 52,4%. Das quatorze pacientes do estudo dez engravidaram, sendo que uma engravidou duas vezes, obtendo-se, portanto, uma taxa de gestação por paciente de 71,5%; taxa semelhante ou superior à maioria dos estudos publicados.

O programa de doação-recepção de oócitos é um procedimento que tem mostrado resultados altamente satisfatórios no tratamento de casais inférteis e, inclusive, com taxas de sucesso superiores a concepção natural e ao FIV e ICSI convencionais. O total de gestações clínicas com o uso de oócitos doados varia de centro para centro, sendo que as taxas publicadas encontram-se entre 25% e 60%⁽²⁾. Balmaceda *et al.*,⁽⁴⁶⁾ em 1992, referiram uma taxa de gravidez com doação de oócitos de 57,9% após transferência intra-uterina.^(9,46) Formigli *et al.*,⁽⁴⁷⁾ em 1989, observaram uma taxa de 53,8%

após doação de oócitos pela transferência de gametas intra-tubárea (GIFT).^(9,47) Moomjy *et al.*,⁽⁴⁸⁾ em 1995, relataram índices de gestação por transferência de 54% de um total de 240 ciclos do programa de doação de oócitos.^(9,48) Sauer *et al.*,⁽⁴⁹⁾ em 1995, analisaram a evolução de 36 pacientes receptoras com idade média de 52 anos (variando de 50 a 59 anos), obtendo uma taxa de 48,9% de gestação por pacientes (22 gestações).^(9,49) Borini *et al.*,⁽⁵⁰⁾ em 1995, analisaram 34 pacientes com idade entre 50 e 62 anos que foram submetidas a um programa de doação de óvulos. Um total de 61 ciclos foram executados, obtendo-se uma taxa de gestação de 32,7% por transferência e de 52,9% por paciente.^(9,50)

O programa de doação de oócitos do Centro de Reprodução Humana da Fundação Maternidade Sinhá Junqueira publicou resultado, no qual foram analisadas 39 pacientes, realizados 49 ciclos, obtendo-se taxa de gestação clínica por ciclo de 36,7% e taxa de gestação clínica por paciente de 46,15%.⁽⁹⁾ Já a Unidade de Reprodução Assistida do Hospital Mater Dei – Fertimater – publicou dez casos de doação de oócitos. A média de idade das pacientes foi de 39,8 anos. Como indicações para realização de doação tiveram quatro pacientes com insuficiência ovariana, três com menopausa precoce e três com menopausa. A média de embriões transferidos foi de três por paciente e foram obtidas três (30%) gestações.⁽¹⁰⁾

O Centro de Medicina Reprodutiva Clínica Perinatal Laranjeiras (ORIGEN) publicou resultados de 139 casos de fertilização *in vitro* com doação de oócitos de outubro de 1999 a dezembro de 2003, com idade

média de 42 anos e obtendo-se uma taxa de 47% de gestação por paciente.⁽⁵¹⁾

Remohi *et al.*⁽³¹⁾ apresentaram taxas de gravidez após um primeiro ciclo de 53,4%, com 42,6% de gestação a termo. A taxa acumulativa após quatro ciclos alcançou 94,8 % com 88,7% de nascidos vivos.^(2,31)

As mulheres que engravidam após doação de oócitos, com falência ovariana são consideradas gestantes de alto-risco, tendo maior frequência de sangramentos no primeiro trimestre, hipertensão e retardo de crescimento intra-uterino. Estas complicações são ainda mais proeminentes em gestações gemelares.⁽⁵²⁾ Tem-se descrito, também, maior incidência de cesáreas no grupo de receptoras, quando comparadas às mulheres que realizam FIV convencional. Não houve diferença na duração da gestação, parto prematuro e no peso ao nascer.⁽²⁾ Abdalla *et al.*⁽⁵³⁾ encontraram também maiores riscos em gestações após ovodoação, em receptoras com função ovariana conservada, porém, tratava-se de complicações contornáveis com controle obstétrico adequado.^(2,53)

Em nosso estudo, os resultados obstétricos e perinatais das onze gestações obtidas foram: quatro gestantes (36,4%) complicaram com abortamento espontâneo (antes das 12 semanas de gestação), uma gestante (9,1%) evoluiu com parto trigemelar prematuro às 33 semanas e seis gestantes (54,5%) evoluíram sem intercorrências com nascimento a termo, todas através de operação cesariana. Dos produtos da concepção, oito (72,7%) foram gestações únicas e três (27,3%) gestações múltiplas: sendo duas dupla e a outra tripla. Todos os onze recém-nascidos tiveram

evolução favorável e foram encaminhados às suas casas, permanecendo em acompanhamento pediátrico até a presente data. Têm desenvolvimento bio-psico-social dentro da normalidade de acordo com registros médicos e informações pessoais, possibilitando, portanto, uma taxa de "bebê em casa" de 50%.

Moomjy *et al.*,⁽⁴⁸⁾ em 1995, descreveram uma taxa de gestação múltipla de 46%.^(9,48) O Centro de Reprodução Humana da Fundação Maternidade Sinhá Junqueira relatou uma taxa de gestação múltipla de 25% e de abortamento de 11%.⁽⁹⁾ Sauer *et al.*,⁽⁴⁹⁾ em 1995, analisando 36 pacientes com um total de 22 gestações, referem incidência de prenhez múltipla de 52,9% e taxa de abortamento de 22,7%.^(9,49) Os resultados europeus de 1999 relataram uma média total de partos múltiplos de 26,3%.⁽⁵⁴⁾ Mirkin *et al.*⁽⁵⁵⁾ observaram num estudo retrospectivo de 257 ciclos de doação e transferência, a média geral de gravidez múltipla de 35% e média de aborto, 19%. Nossos resultados situam-se abaixo da média das gestações múltiplas e acima da média dos abortamentos espontâneos.

Segundo Franco Jr. *et al.*,⁽⁹⁾ o Registro da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva e da Sociedade de Tecnologia para Reprodução Assistida nos Estados Unidos (1995) informou que 35 centros executaram o programa de doação de óvulos no ano de 1993. Um total de 2766 ciclos foram executados com 2167 doações anônimas e 599 com doadoras conhecidas, totalizando 2446 ciclos com transferência de embriões. Nos ciclos de doação anônima relataram 692 gestações e 544 partos, obtendo-se taxa de parto de 28,7% por transferência. A incidência de gestação múltipla

foi de 40,7%. Nos ciclos com doadores conhecidos, referiram 227 gestações e 162 partos, totalizando uma taxa de parto de 31,6% por transferência e incidência de gestação múltipla de 39,4%.

A última publicação do Registro Latinoamericano de Reprodução Assistida, registro de 2001, relata 18.598 procedimentos de reprodução assistida realizados em 102 centros acreditados ou afiliados à REDE. Dos onze países que realizam estes procedimentos, o Brasil contribue com 49,3% dos procedimentos, seguido pela Argentina e México com 19,8% e 9,7%, respectivamente. Durante o ano de 2001, 13.971 aspirações foliculares foram efetuadas, as quais originaram 12.777 transferências embrionárias. Destes procedimentos, 71,5% correspondem a ICSI, 28,1% a FIV e 0,4% outros. A taxa de gestação múltipla foi de 29,8% (22,1% gêmeos e 7,7% trigêmeos). A doação de oócitos correspondeu a um total de 1.780 transferências, 1613 com embriões frescos e 167 com embriões criopreservados. A taxa de parto por transferência em doação de oócitos com embriões frescos foi de 27,1%, diminuindo a 13,2% ao se transferir embriões criopreservados. O estudo da taxa de gravidez por transferência e taxa de implantação de acordo com a idade da paciente concluiu que em doação de oócitos a idade da mulher não altera a taxa de gravidez e implantação. Quanto aos resultados perinatais com doação de oócitos em 2001, a prematuridade (gestação menor que 36 semanas) e prematuridade extrema (gestação menor que 31 semanas) foram 18,6 % e 3,0%, respectivamente, para partos únicos, 52,7% e 1,8% para gêmeos e 91,4% e 14,3% para trigêmeos; a mortalidade perinatal foi de 0,9% para partos

únicos, 1,8% para gêmeos e 10,2% para trigêmeos e a taxa de malformações de 1,2%.⁽⁴⁴⁾

As gestações obtidas em mulheres com idade acima da idade reprodutiva natural podem acarretar problemas psicológicos, médicos, familiares e sociais, com aumento da morbidade e mortalidade materno-fetal em mulheres com mais de 40 anos. Em alguns países recomenda-se um limite de idade para as receptoras, dentro das idades reprodutivas naturais. As complicações mais freqüentemente observadas nestas pacientes são: hipertensão induzida pela gravidez (DHEG), diabetes gestacional e tromboflebite.⁽²⁾ Sauer *et al. appud* Fried⁽²⁾ avaliaram os resultados perinatais de gestações obtidas por ovodoação em 162 mulheres entre 45 e 49 anos, encontrando 37,8% de complicações pré-natais (28 casos). As complicações encontradas foram: parto prematuro, hipertensão da gravidez, diabetes gestacional, síndrome do túnel do carpo, pré-eclâmpsia, síndrome HELLP e retardo de crescimento intra-uterino. As complicações neonatais encontradas em 4,6% dos recém-nascidos foram: retardo de crescimento, trissomia do cromossoma 21, malformação cardíaca e obstrução intestinal.

Berkowitz *appud* Franco Jr. *et al.*⁽⁹⁾ estudaram a evolução da gestação de 799 pacientes com idade acima de 35 anos. Verificaram que o prognóstico neonatal não foi diferente ao do grupo de pacientes abaixo de 35 anos. Entretanto, ocorreu um significativo aumento das complicações anteparto (doença hipertensiva específica da gestação, diabete, placenta prévia e descolamento prematuro de placenta). Apesar disto, referem que não seria prudente estabelecer um limite etário para contra-indicar a

gestação nas pacientes em menopausa fisiológica. Qualquer medida restritiva deveria se basear na análise de cada caso em particular após a identificação de problemas psicológicos ou de saúde.^(9,38,48) Portanto, é muito importante insistir no controle completo prévio ao tratamento e, fundamentalmente, um seguimento cuidadoso da gestação para possibilitar a este grupo de pacientes dar à luz recém-nascidos em ótimas condições.⁽²⁾

Sheffer-Mimouni *et al.*⁽⁵⁶⁾ avaliaram os resultados obstétricos e perinatais de 134 parturientes após doação de oócitos, 50% das mulheres tinham mais que 43 anos, 30,6 % mais que 45 anos e 67,9% eram nulíparas. A taxa de hipertensão induzida pela gestação foi de 27,6%, diabetes gestacional 23,9%, sangramento no primeiro trimestre 43,3% e sangramento no segundo trimestre 6%. A taxa de prematuridade foi de 14,9%, baixo peso também 14,9%, pequeno para a idade gestacional 7,6% e deformações maiores 2,2%. Estes resultados perinatais não foram associados com idade materna avançada ou falha ovariana. Estes autores concluíram que há um alto risco de complicações obstétricas para gestações após doação de oócitos, mas os resultados perinatais são favoráveis, devendo as pacientes serem aconselhadas sobre estes riscos e monitorizadas para estas complicações.

Tem havido especulação de que as compartilhadoras de oócitos teriam de receber estimulação mais forte, em comparação com aquelas pacientes submetidas à FIV/ICSI-padrão. Thum *et al.*,⁽⁵⁷⁾ em 2003, publicaram um estudo cuja finalidade foi comparar os resultados de mulheres participantes de um programa de compartilhamento de oócitos com mulheres submetidas

ao tratamento com FIV/ICSI-padrão. Eles analisaram os resultados de 276 ciclos de compartilhamento de oócitos, envolvendo 192 mulheres que concordaram em compartilhar seus oócitos, 274 ciclos de receptoras, envolvendo 246 mulheres que receberam oócitos e 1.098 ciclos com FIV-padrão sem compartilhamento de oócitos ou ICSI, envolvendo 718 mulheres. Não houve diferença significativa na taxa de gravidez e de nascidos vivos entre as compartilhadoras de oócitos (42,0% e 33,0%, respectivamente), as não-compartilhadoras de oócitos (40,0% e 30,9%) e as receptoras do compartilhamento de oócitos (41,4% e 28,6%).⁽⁵⁷⁾ Também não houve diferença significativa no número de oócitos colhidos, no número de folículos maduros ou na quantidade de gonadotrofinas usadas nas compartilhadoras e nas não-compartilhadoras de oócitos. O número médio de embriões transferidos e o número médio de oócitos alocados entre as compartilhadoras de oócitos e as receptoras também não foram estatisticamente significativos. Concluíram que as compartilhadoras de oócitos não estavam sendo hiperestimuladas para produzir mais oócitos e, por isso, não expostas a um risco mais alto da síndrome de hiperestimulação ovariana.^(57,58)

A cada dia surgem avanços em reprodução humana e novas esperanças para o casal sem filhos. Várias técnicas vem sendo desenvolvidas para que praticamente não existam casos sem solução. Dentre os avanços podemos citar o uso de oócitos excedentes doados também como fonte para transferência de citoplasma ou de núcleo. A transferência de citoplasma e de núcleos dos óvulos pode ser utilizada para

corrigir doenças genéticas mitocondriais. O núcleo de células de embriões em estágios iniciais de desenvolvimento pode ser isolado dos elementos mitocondriais do citoplasma e introduzido em um citoplasma enucleado de um óvulo de uma doadora que tenha a função mitocondrial normal. Outra alternativa é a transferência de uma pequena porção do citoplasma do óvulo de uma doadora para o óvulo de uma receptora para a correção de anormalidades genéticas.⁽⁵⁹⁾

A criopreservação ou congelamento de oócitos ou de tecidos ovarianos para posterior maturação *in vitro*, pode oferecer soluções a uma série de problemas éticos, religiosos e legais relacionados ao congelamento de embriões. Com esta técnica é possível manter a fertilidade de mulheres que sofrem de patologias que podem comprometer a função ovariana como a falência ovariana precoce, endometriose, cistos e infecções pélvicas. A criopreservação de óvulos pode também facilitar a logística dos programas de doação de óvulos.⁽⁶⁰⁾

Os protocolos de criopreservação de óvulos, porém, apresentam problemas técnicos que ocasionaram baixas taxas de sobrevivência após o descongelamento e baixo número de gestações. Uma das razões aventadas seria a possibilidade da indução de aneuploidias após a exposição aos crioprotetores a ao congelamento propriamente dito. Pesquisas mais recentes têm mostrado, no entanto, cromossomos e cariótipos normais após o descongelamento. Com a utilização da técnica de ICSI foram obtidas taxas de fertilização e implantação melhores.⁽⁶⁰⁾

Oócitos recuperados de folículos não estimulados no ovário podem ser maturados *in vitro*, fertilizados e alguns podem desenvolver-se e serem transferidos para as pacientes. A maturação *in vitro* de óvulos tem várias vantagens. A mais importante é a redução dos custos com um tratamento mais simples e menos invasivo. Os sistemas para maturação do óvulos podem ser especialmente úteis, por exemplo, para pacientes com ovários policísticos. Tais pacientes têm freqüentemente um grande número de óvulos que podem ser obtidos de pequenos folículos, sem necessidade de tratamento com gonadotrofinas para estimular o crescimento folicular. A utilização desta técnica pode permitir sua aplicação para outras pacientes que queiram evitar os efeitos indesejáveis das altas doses de drogas para estimulação ovariana. Outro aspecto a ser salientado é a possibilidade de se associar esta técnica, combinada com a criopreservação de óvulos, permitindo sua utilização mais eficiente e contribuindo para o estabelecimento de um programa de doação e criação de um banco de óvulos.⁽⁶¹⁾

A obtenção de embrião a partir da criação de um óvulo em laboratório através da introdução de uma célula somática da paciente no oócito doado e previamente anucleado para posterior injeção com um espermatozóide, processo denominado de haploidização; abre a perspectiva de que, no futuro, possa ser criado, em laboratório, óvulos a partir de qualquer célula somática da mulher, o que representaria uma fantástica vitória contra a infertilidade feminina.

Em um país de instabilidade sócio-econômica, tal como o Brasil onde a possibilidade de se efetuar um procedimento de fertilização medicamente assistida é restrita a pouquíssimos casais inférteis, o programa de doação-recepção compartilhada de oócitos nos parece, atualmente, a alternativa possível para a viabilização do desejo da procriação. Na impossibilidade ética, moral e, até mesmo, legal de se subvencionar através de propina uma “doadora” de oócitos, não nos resta outro caminho senão o da divisão das despesas médico-hospitalares, dos equipamentos, pessoal técnico e do material genético. Estes podem ser obtidos, hoje possível, por meio de uma perfeita sincronia hormonal e funcional entre as partes envolvidas.

5. CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

1. O programa de doação-recepção de oócitos representa uma forma médica, ética e moral de se obter gestação em pacientes com diagnóstico reservado de infertilidade por fator ovariano;
2. A sincronização entre doadoras e receptoras é primordial para o sucesso da gestação em programa de doação-recepção de oócitos podendo ser obtida através de diferentes esquemas hormonais para a preparação do endométrio e manutenção da gravidez;
3. O prognóstico das receptoras, representado pelas elevadas taxas de gestação por ciclo e por paciente, com taxa de 50% de “bebê em casa”, é independente do tempo de menopausa e da idade da paciente e reflete-se altamente compensador.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gutiérrez A, Remohi J. Doação de oócitos. In: Badalotti M, Telöken C, Petraco A, editores. Fertilidade e Infertilidade Humana. 1ª ed. Rio de Janeiro: Medsi; 1997. p. 657-67.
2. Fried EP. Doação de oócitos. In: Busso NE, Acosta AA, Remohi J, editores. Indução da Ovulação. 1ª ed. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 217-29.
3. Scheffer BB, Scheffer RFCB, Scheffer JB. Gameta. Unidade básica em reprodução humana. JBM 2001;81(1):54-7.
4. Lutjen P, Trounson A, Leeton J, Findlay J, Wood C, Renous P. The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. Nature 1984; 307:104-5.
5. Scheffer BAB, Caetano JPJ, Carvalho RF, Bastos CV. Idade um limite em reprodução. 1999; http://www.sbra.com.br/as4_7.htm1.
6. Caetano JPJ, Morais LAM, Marinho RM. Resgate endometrial agudo durante programa de doação de oócitos. 1999; http://www.sbra.com.br/sb_9.htm.

7. Lopes JRC, Medina-Lopes MD, Brandi MC, Costa RR, Barbosa AH, Costa TBM, *et al.* Programação de doação compartilhada de óvulos. 2000; <http://www.sbra.com.br/artigo3.htm>.
8. Klein J, Sauer MV. Oocyte donation. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2002; 16(3):277-91.
9. Franco Jr JG, Baruffi RLR, Mauri AL, Peterson CG. Doação de óvulos. 2000; <http://crh.com.br/cap8.htm>.
10. Caetano JPJ, Scheffer BAB, Camargos BM, Júnior JOAF, Pena MLF, Vaintraub MT, *et al.* Programa de doação de oócitos na Unidade de Reprodução Humana do Hospital Mater Dei – Fertimater. *J Bras Ginec* 1997; 107(4):119-23.
11. Check JH. The shared donor oocyte program: the advantages and insights it provides in determining etiologic factors of infertility. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2002; 29(4):229-34.
12. Blyth E. Subsidized IVF: the development of ‘egg sharing’ in the United Kingdom. *Hum Reprod* 2002;17(12):3254-59.
13. Johnson MH. The medical ethics of paid egg sharing in the UK: Opinion. *Hum Reprod* 1999;14:1912-18.

14. Ahuja KK, Simons EG, Nair S, Rimington MR, Armar NA. Minimizing risk in anonymous egg donation. *Reprod Biomed Online* 2003; 7(5):504-5.
15. Rimington MR, Ahuja KK, Simons EG, Bowen-Simpkins P, Nair S, Armar NA, *et al.* Should non-patient volunteers donate eggs? *Reprod Biomed* 2003; 6(3):277-80.
16. Santos NC. Normas éticas e legais para a utilização das técnicas de reprodução humana assistida laboratorialmente. In: Halbe HW, editor. *Tratado de Ginecologia*. 3ª ed. São Paulo: Roca, 2000. p. 1722-6.
17. Jones Jr HW. The many faces of morality-revisited. In: IX th World Congress on In vitro Fertilization and Assisted Reproduction. Bologn: Monduzzi Editore; 1995. p. 121-5
18. Rabinerson D, Dekel A, Orvieto R, Feldberg D, Simon D, Kaplan B. Subsidised oocyte donation in Israel (1998-2000): results, costs and lessons. *Hum Reprod* 2002;17(5):1404-6.
19. Halbe HW. Posição da Igreja Católica Apostólica Romana em relação à reprodução humana assistida laboratorialmente. In: Halbe HW, editor. *Tratado de Ginecologia*. 3ª ed. São Paulo: Roca; 2000. p. 1747-9.

20. Pedrosa Neto AH, Franco Jr JG. Reprodução assistida. 2002; <http://www.cfm.org.br/bancotxt/bioetica/PartellIreproducao.htm>.
21. Serhal P, Craft I. Simplified treatment for ovum donation. *Lancet* 1987;1:687-8.
22. Navot D, Anderson TL, Droesch K, Scott RT, Kreiner D, Rosenwaks Z. Hormonal manipulation of endometrial maturation. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68:801-7.
23. Wu JT, Chang MC. Effects of progesterone and estrogen on the fate of blastocysts in ovariectomized pregnant ferrets: preliminary study. *Biol Reprod* 1972;7:231-37.
24. Hodjen GD. Surrogate embryo transfer combined with estrogen-progesterone therapy in monkeys: implantation, gestation and delivery without ovaries. *JAMA* 1983;250:2167-71
25. Meldrum DR, Wisot A, Hamilton F, Gutlay-Yeo AL, Marr B, Huynh D. Artificial agonadism and hormone replacement for oocyte donation. *Fertil Steril* 1989;52:509-11.

26. Remohi J, Gallardo E, Guanes PP, Simon C, Pellicer A. Donor recipient synchronization and the use of gonadotrophin releasing hormone agonists to avoid the premature luteinizing hormone surge in oocyte donation. *Hum Reprod Dec 1995;10(Supl 2):84-90.*
27. Check JHO, Shaughnessy A, Lurie D, Fisher C, Adelson HG. Evaluation of the mechanism for higher pregnancy rates in donor recipients by comparison of fresh with frozen embryo transfer pregnancy rates in a shared oocyte programme. *Hum Reprod 1995;11:3022-7.*
28. Vaz DCM. Contribuição ao estudo da indução da ovulação, seguida de coito natural ou inseminação intra-uterina, em infertilidade conjugal [Dissertação]. São José do Rio Preto (SP): Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP; 1998.
29. Check JH. The use of the donor oocyte program to evaluate embryo implantation. *Ann NY Acad Sci 1994;743:198-208.*
30. Franco Jr. JG, Baruffi RLR, Mauri AL, Petersen CG, Campos MS, Aguiar F, *et al.* Doação de oócitos como tratamento da infertilidade em pacientes com insuficiência ovariana precoce. *Rev Bras Ginecol Obstet 1993;15:181-5.*

31. Remohi J, Gartner B, Gallardo E, Yalil S, Simon C, Pellicer A. Pregnancy and birth rates after oocyte donation. *Fertil Steril* 1997;67(4):717-23.
32. Yaron Y, Amit A, Brenner SM, Peyser MR, David MP, Lessing JB. In vitro fertilization and oocyte donation in women 45 years of age and older. *Fertil Steril* 1995; 63(1):7106.
33. Sauer MV, Paulson RJ, Lobo A. Oocyte donation to women of advanced reproductive age: pregnancy results and obstetrical outcome in patients 45 years and older. *Hum Reprod* 1996;11(11):2540-3.
34. Ashkenazi J, Farhi J, Orvieto R, Homburg R, Dekel A, Feldberg D, *et al.* Polycystic ovarian syndrome patients as oocyte donors: the effect of ovarian stimulation protocol on the implantation rate of the recipient. *Fertil Steril* 1995;64(3):564-7.
35. Sauer MV. Defining the incidence of serious complications experienced by oocyte donors: A review of 1000 cases. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:277-8.
36. Paulson RJ, Sauer MV. Oocyte donation to women of advanced reproductive age."How old is too old?". *Hum Reprod* 1994;9:571-2.

37. Borini A. Oocyte donation and pregnancy in women over 50. *Ass Reprod Rev* 1994; 4:60-3.
38. Antinori S, Gholami GH, Versaci C, Cerusico F, Dani L, Antinori M, *et al.* Obstetric and prenatal outcome in menopausal women: a 12-year clinical study. *Reprod Biomed Online* 2003; 6(2):257-61.
39. Flamigni C. Egg donation to women over 40 years of age. *Hum Reprod* 1993;8:1343-5.
40. Burton G, Abdalla HI, Kirkland A, Studd JWW. The role of oocyte donation in women who are unsuccessful with in vitro fertilization treatment. *Hum Reprod* 1992;7:1103-5.
41. Franco Jr JG, Baruffi RLR, Mauri AL, Peterson CG. Fertilização Assistida. 2000; <http://crh.com.br/cap10.htm>.
42. Yaron Y, Amit A, Kogosowki A, Peyser MR, David MP, Lessing JB. The optimal number of embryos to be transferred in shared oocyte donation: walking the thin line between low pregnancy rates and multiple pregnancies. *Hum Reprod* 1997;12(4):699-702.

43. Red Latinoamericana de Reproduccion Asistida. Tasa de multigestación según número de embriones transferidos y edad de la mujer en FIV e ICSI (1998). Registro Latinoamericano de Reproducción Asistida 1998;24.
44. Red Latinoamericana de Reproduccion Asistida. Registro 2001; http://www.redlara.com/reg_2001.asp.
45. Soderstrom-Anttila V, Vilska S, Makinen S, Foudila T, Suikkari AM. Elective single embryo transfer yields good delivery rates in oocyte donation. Hum Reprod 2003;18(9):1858-63.
46. Balmaceda JP, Alam V, Rosztein D, Ord T, Snell K, Asch RH. Embryo implantation rates in oocyte donation: a prospective comparasion of tubal versus uterine transfers. Fertil Steril 1992;57:362-5.
47. Formigli L, Roccio C, Belotti G, Stangalini A, Coglitore MT, Formigli G. Oocyte donation by gamete intra-Fallopian transfer to amenorrhoeic and cyclic patients given replacement steroids. Hum Reprod 1989;4:772-6.
48. Moomjy M, Cholst I, Davis OK, Applegarth LD, Rosenwaks Z. Donor oocytes in assisted reproduction – An overview. Sem Reprod Endocrinol 1995;13:173-86.

49. Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA. Pregnancy in women 50 or more year of age: outcomes of 22 consecutively established pregnancies from oocyte donation. *Fertil Steril* 1995;64:111-5.
50. Borini A, Bafaro G, Violini F, Bianchi L, Casadio V, Flamigni C. Pregnancies in postmenopausal women over 50 year old in na oocyte donation program. *Fertil Steril* 1995;63:258-61.
51. Centro de Medicina Reprodutiva Clínica Perinatal Laranjeiras. Resultados da fertilização in vitro de out/99 a dez/03. 2004; <http://www.perinatal.com.br/paginas/resultados.html>.
52. Pados G, Camus M, Camus M, Van Stwirteghen A, Bonduelle M, Devroey P. The evolution and outcome of pregnancies from oocyte donation. *Hum Reprod* 1994;9(3):538-42.
53. Abdalla HI, Billet A, Kan AK, Baig S, Wren M, Korea L, *et al.* Obstetric outcome in 232 ovum donation pregnancies. *BR J Obstet Gynaecol* 1998;105(3):332-7.
54. Nygren KG, Andersen NA. Assisted reproductive technology in Europe, 1999. Results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2002;17(12):3260-74.

55. Mirkin S, Gimeno TG, Bovea C, Stadtmauer L, Gibbons WE, Oehninger S. Factors associated with an optimal pregnancy outcome in an oocyte donation program. *J Assist Reprod Genet* 2003; 20(10):400-8.
56. Sheffer-Mimouni G, Mashiach S, Dor J, Levran D, Seidman DS. Factors influencing the obstetric and perinatal outcome after oocyte donation. *Hum Reprod* 2002;17(10):2636-40.
57. Thum MY, Gafar A, Wren M, Faris R, Ogunyemi B, Korea L, *et al.* Does egg-sharing compromise the chance of donors or recipients achieving a live birth? *Hum Reprod* 2003; 18(11):2363-7.
58. Check JH, Fox F, Choe JK, Nazari A, DePerro DK. A comparison of pregnancy and implantation rates following embryo transfer (ET) after in vitro fertilization (IVF) with oocytes donated by paid donors versus infertile women sharing their oocytes. *Fertil Steril* 2002;78:P395.
59. Cohen J, Scott R, Schimmel T, Levron J, Wiladsen S. Birth of infant transfer of anucleate donor oocyte cytoplasm into recipient eggs. *Lancet* 1997;350:186-7.
60. Newton H, Fisher J, Arnold JR, Faddy M, Gosden RG. Permeation of human ovarian tissue with cryoprotective agents in preparation for cryopreservation. *Hum Reprod* 1998;13:376-80.

61. Trounson AO, Wood C, Kausche A. In vitro maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. *Fertil Steril* 1994;62:353-62.