

Workshop em Medicina
Reprodutiva



Da Recolha de Gâmetas à Transferência Embrionária

João Gonçalves, Embriologista na
Unidade de Medicina Reprodutiva


A Unidade de Medicina Reprodutiva



Apoio dos serviços de urologia/andrologia,
endocrinologia/nutrição e psicologia
Protocolo com o centro de genética clínica - CGCgenetics

O Laboratório

- Laboratório Externo
 - Espermogramas de rotina
- Laboratório de Embriologia
 - Fertilização *in vitro* (FIV)
 - Injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)
- Laboratório de Andrologia
 - Espermograma (ciclos)
 - Capacitação do sémen (IIU, FIV, ICSI)
- Laboratório de Criopreservação
 - Criopreservação de sémen
 - Criopreservação de oócitos
 - Criopreservação de embriões
 - Criopreservação de tecido ovárico



Zona estéril

Laboratório Externo



Laboratório Embriologia



Laboratório Andrologia



Laboratório Criopreservação



Mini Bloco



Recobro



Algumas regras do laboratório

- Espaço físico construído segundo as recomendações da CNPMA
- Qualidade do ar controlada e monitorizada
- Normas de limpeza e higiene rigorosas quer do espaço físico quer do pessoal
- Monitorização diária dos equipamentos
- Escolha cuidada dos consumíveis e reagentes adequados à atividade a desenvolver

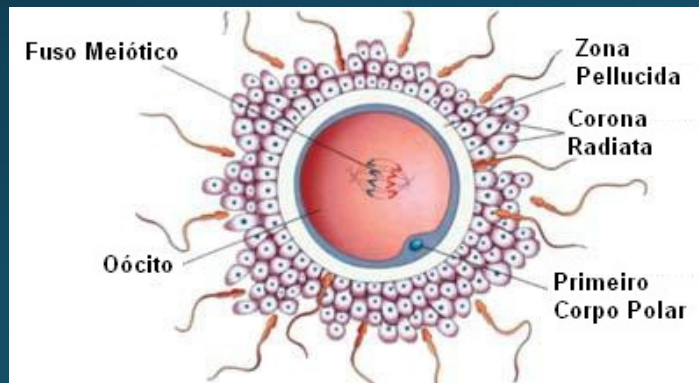
O que é necessário para fazer um bebê?



Preparação dos Gâmetas

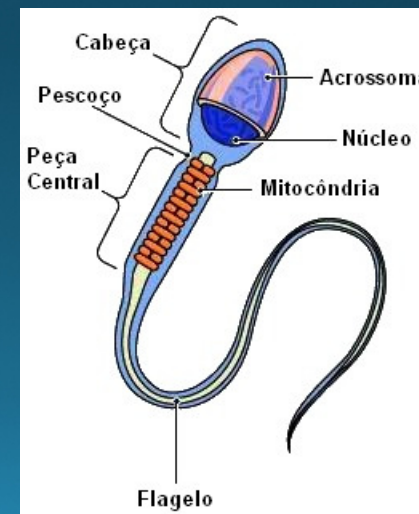
- Femininos

- Punção ovárica
- Recolha de oócitos
- Classificação



- Masculinos

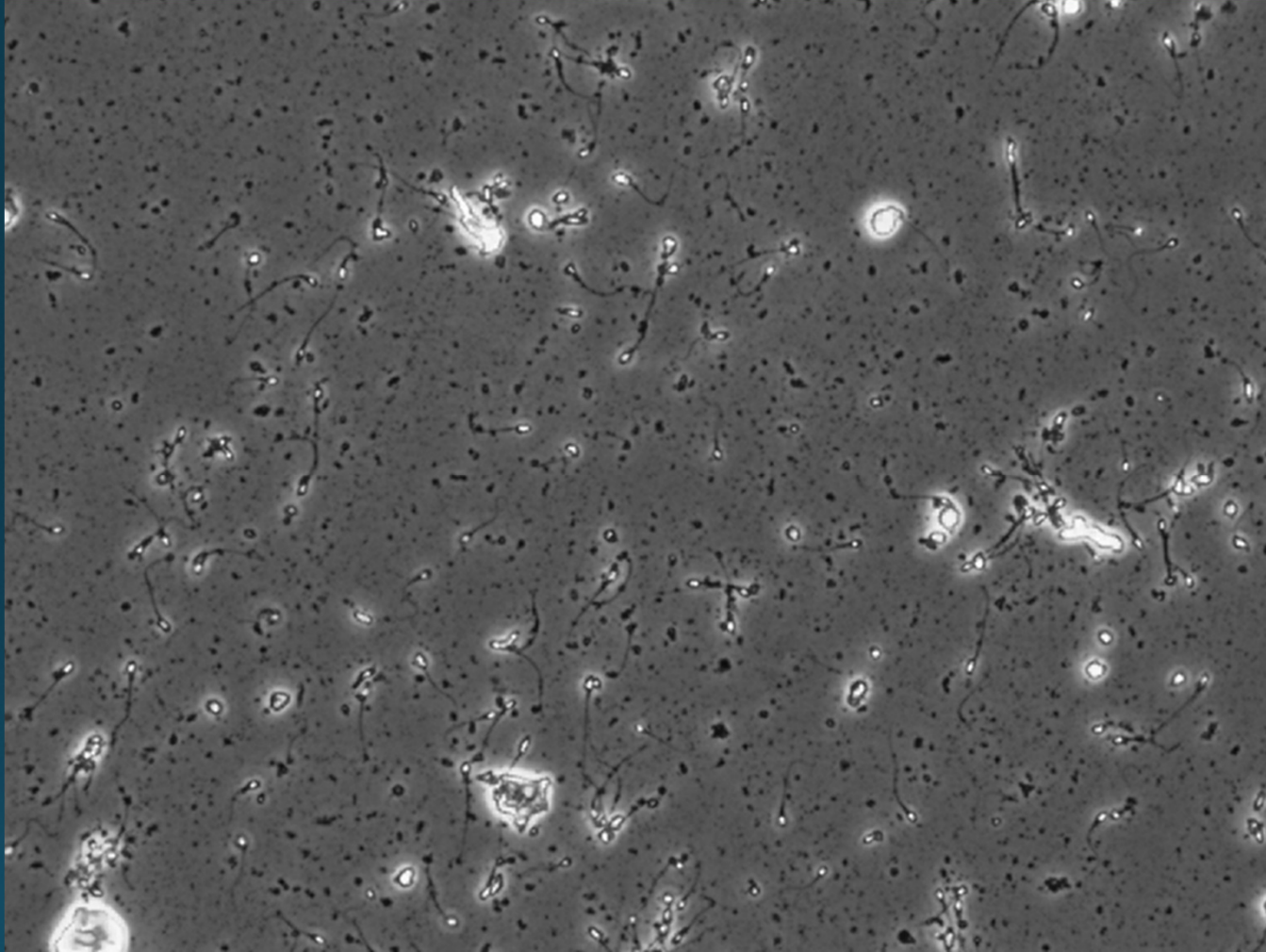
- Recolha do sémen
- Análise e Classificação
- Capacitação



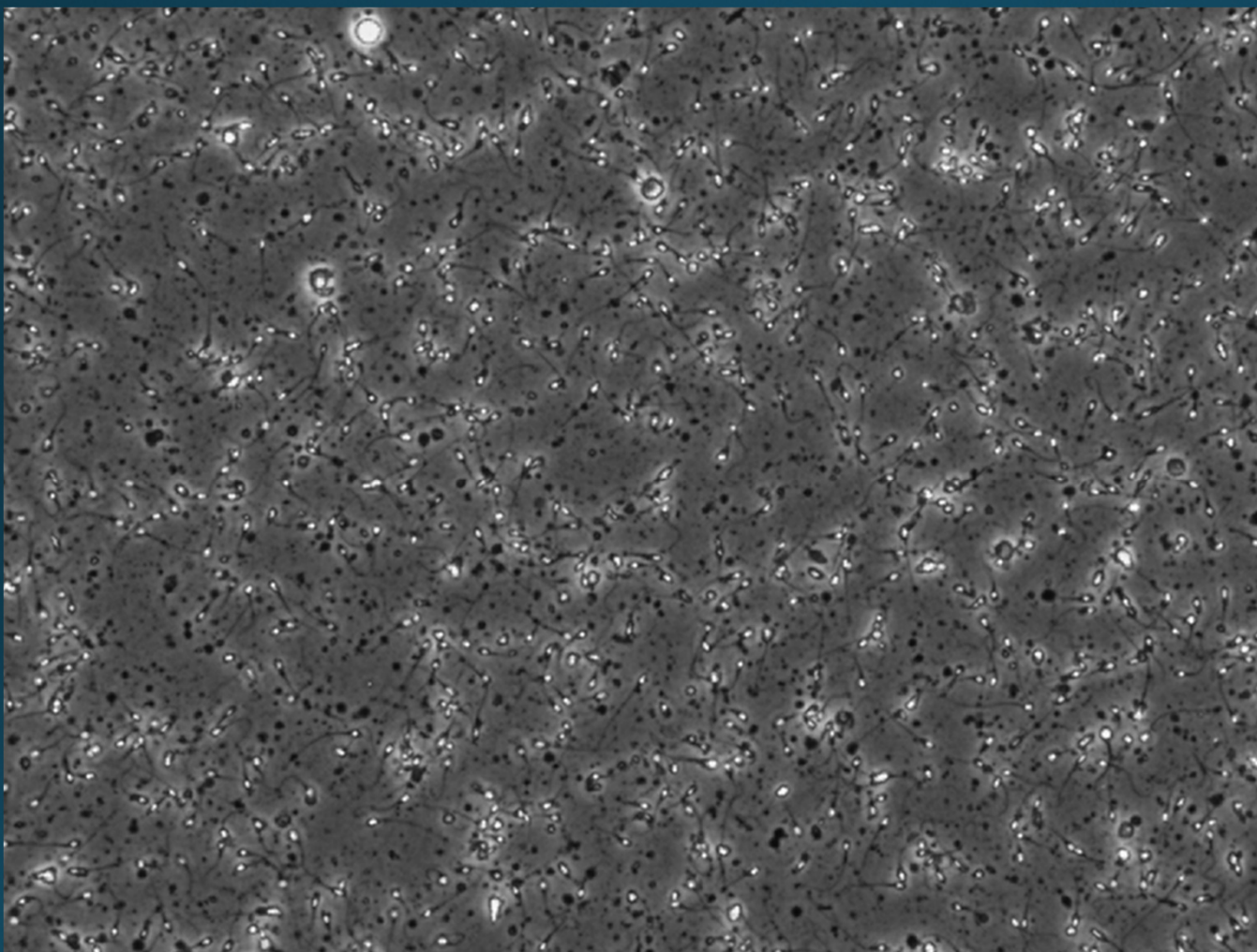
Espermograma

- Colheita feita por masturbação, preferencialmente com 3 dias de abstinência.
- Deve-se realizar pelo menos duas análises no espaço de 7 a 20 dias para ser conclusivo.





Concentração		
Espermatozoides/mL	30	10 ⁶
Motilidade		
Móveis direccionais	24	%
Móveis não direccionais	16	%
Imóveis	60	%
Capacitação do sémen		
Técnica		
Volume Utilizado	1	mL
Espermatozoides/mL	5	10 ⁶
Móveis direccionais	83	%
Móveis não direccionais	8	%
Imóveis	9	%
Morfologia		
Anomalias da Cabeça	66	%
Anomalias da Peça Intermediária	15.5	%
Anomalias do Flagelo	16	%
Morfologicamente Normais	2.5	%
Teste de Vitalidade		
Espermatozoides Vivos	80	%



Concentração

Espermatozoides/mL 254 10⁶

Motilidade

Móveis direccionais 60 %

Móveis não direccionais 34 %

Imóveis 6 %

Capacitação do sémen

Técnica

Volume Utilizado 1 mL

Espermatozoides/mL 80 10⁶

Móveis direccionais 88 %

Móveis não direccionais 7 %

Imóveis 5 %

Morfologia

Anomalias da Cabeça 56 %

Anomalias da Peça Intermediária 21 %

Anomalias do Flagelo 18 %

Morfologicamente Normais 5 %

Teste de Vitalidade

Espermatozoides Vivos 96.5 %

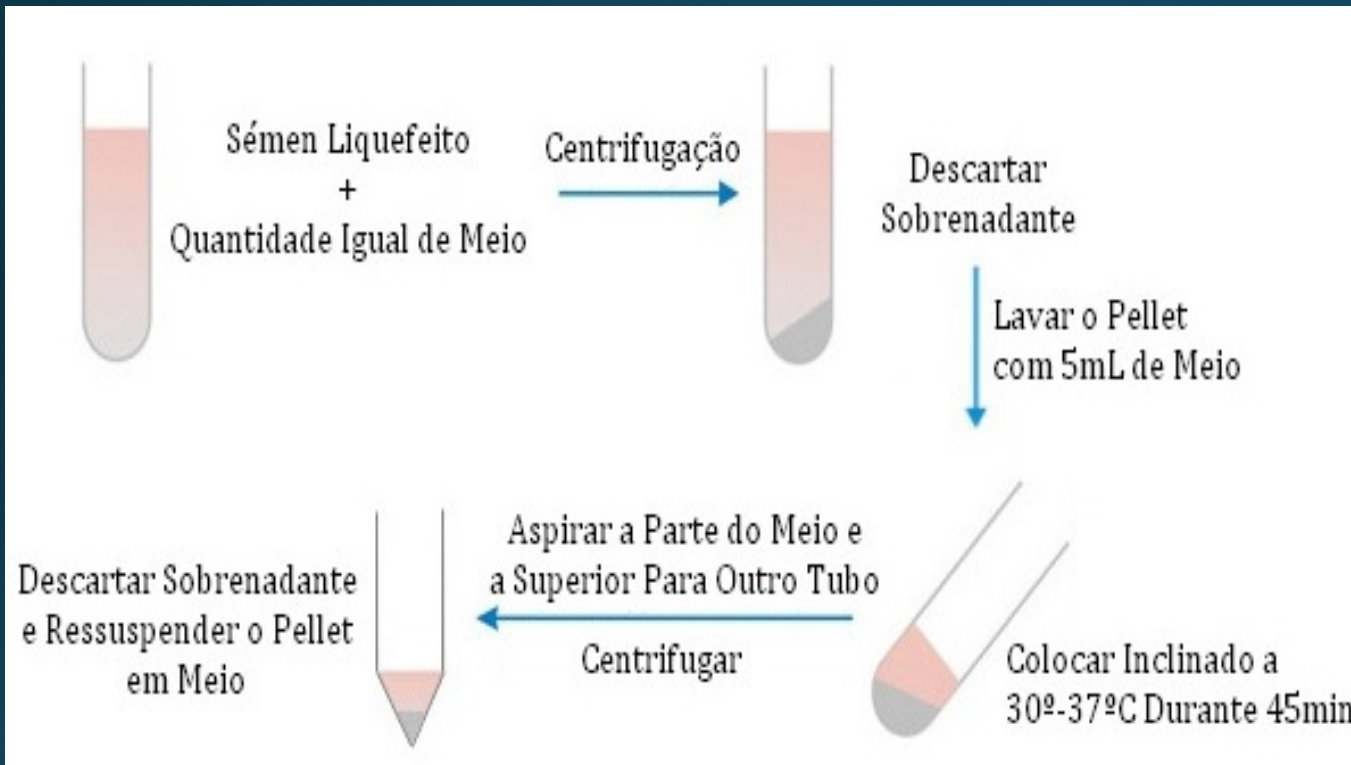
Capacitação espermática

Objetivo: Obter a maior concentração possível de espermatozoides viáveis bem como remover todo o tipo de impurezas no líquido seminal.

Técnicas para capacitação do sémen:

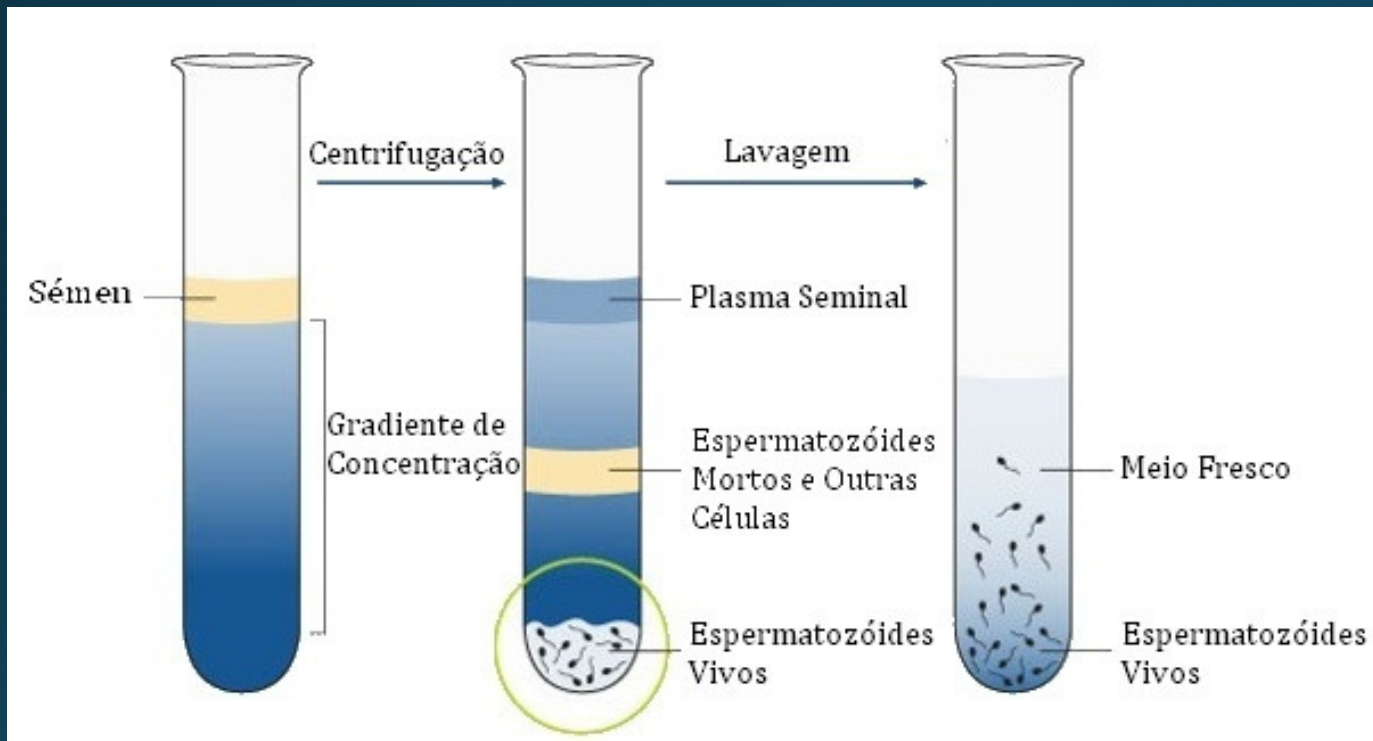
- Swim up / Swim down - amostras com concentração e motilidade inicial dentro dos parâmetros normais
- Separação por gradiente descontinuo de concentração – baixa concentração e motilidade inicial
- Sperm wash – concentração inicial inferior a 1 milhão e baixa motilidade

Swim Up



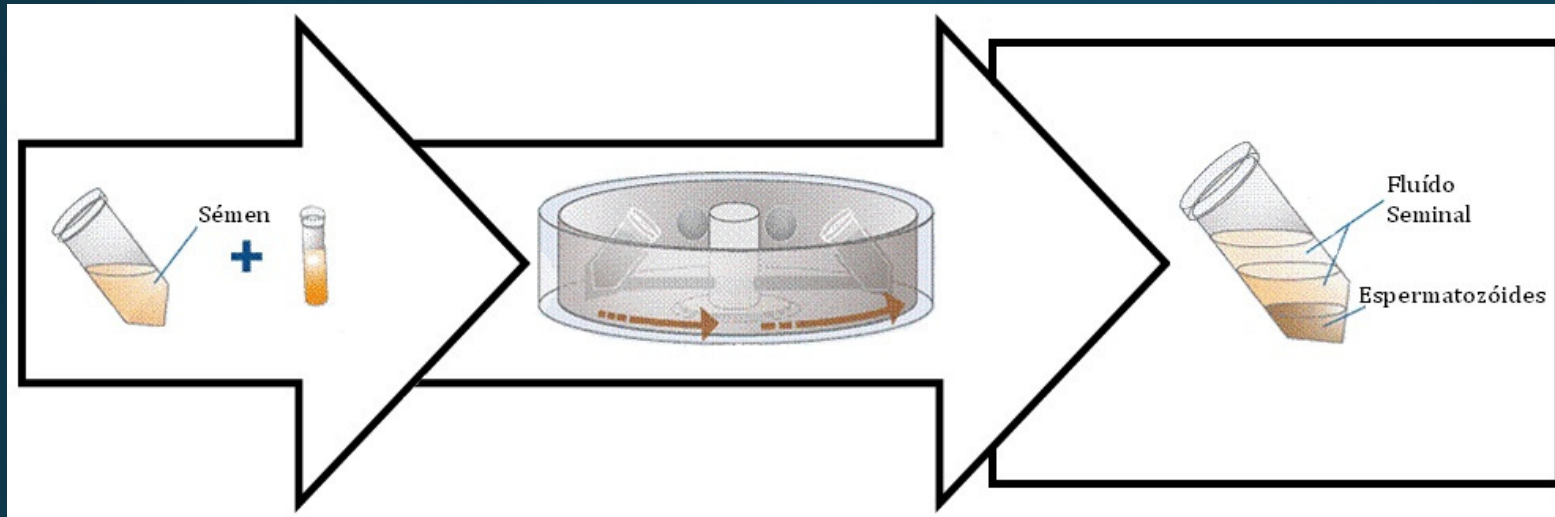
- Amostras com concentração e motilidade inicial dentro dos parâmetros normais
- Método mais simples
- Menos laborioso
- Mais económico

Gradiente descontínuo de concentração



- Amostras com baixa concentração e motilidade inicial
- Utilizado para HIV, Hepatite B e C
- Oligozoospermia e astenozoospermia grave

Sperm Wash



Colocar meio de cultura
1:1 com o sémen

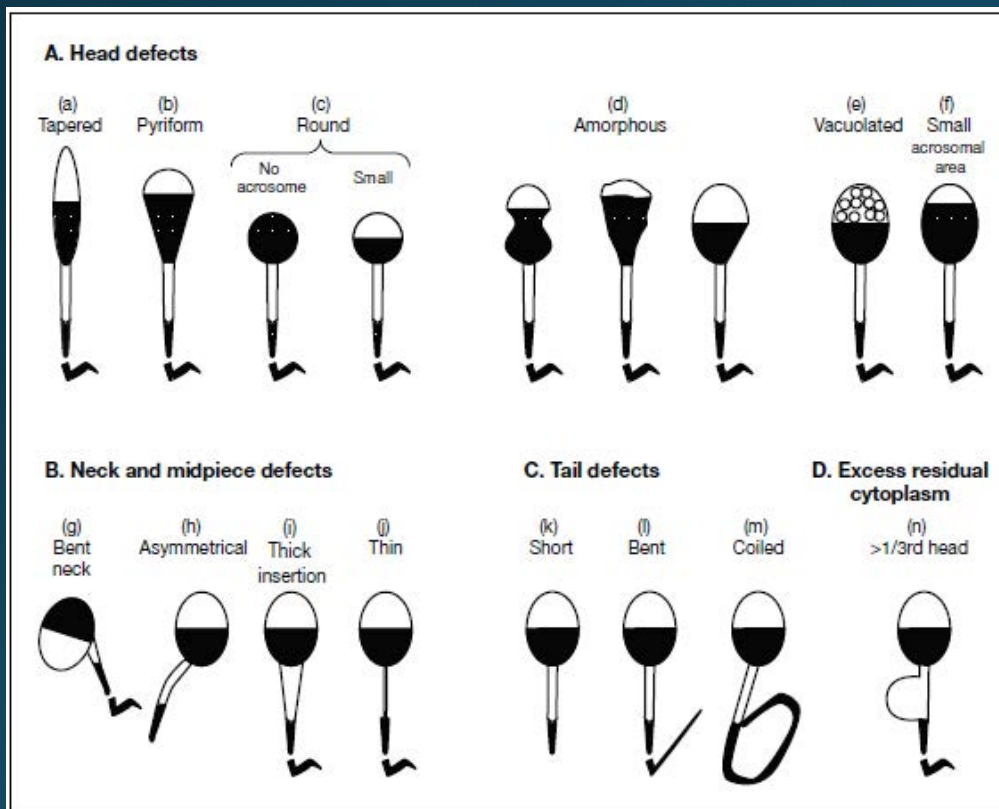
Centrifugar a alta
velocidade para separar os
espermatozoides do fluido
seminal

Após centrifugação descartar
sobrenadante e ressuspender
pellet onde estão os
melhores espermatozoides

- Concentração inicial inferior a 1 milhão e baixa motilidade

Análise morfológica

- Objetivo: Verificar morfologia dos espermatozoides para ver se cumpre os parâmetros da Organização Mundial de Saúde.



Alguns exemplos de defeitos dos espermatozoides.
Adaptado de Kruger et al., 1993



1
Defeito da cabeça e da peça
(citoplasma aumentado)

2
Defeito da peça (dobrada)

3
Defeito da cabeça (acrossoma
>70%) e da cauda (dobrada)



4
Defeito da peça (dobrada)

5
Defeito da peça (fina) e da
cauda (dobrada)

6
Defeito da cabeça (vacuolada)
e da cauda (enrolada)



7
Normal

8
Defeito da cauda (dupla)

9
Defeito da cabeça e da cauda (enrolada)



10
Defeito da cabeça, da peça (dobrada) e da cauda (enrolada)

11
Defeito da peça

12
Defeito da peça (dobrada)

Cauda enrolada

Normal

Cabeça com vacúolos

Excesso de citoplasma

Amorfo

Dupla cauda

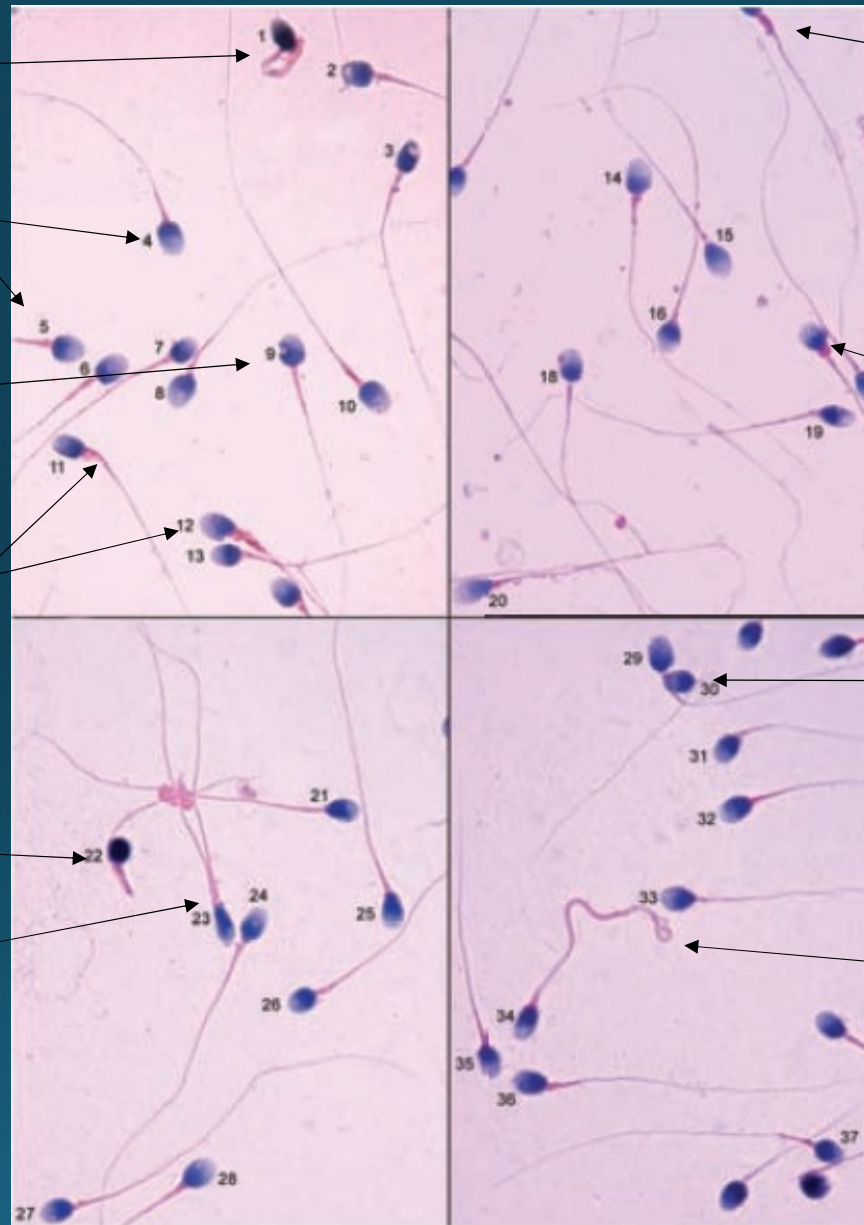
Excesso de citoplasma

Cabeça redonda e peça espessa

Peça dobrada

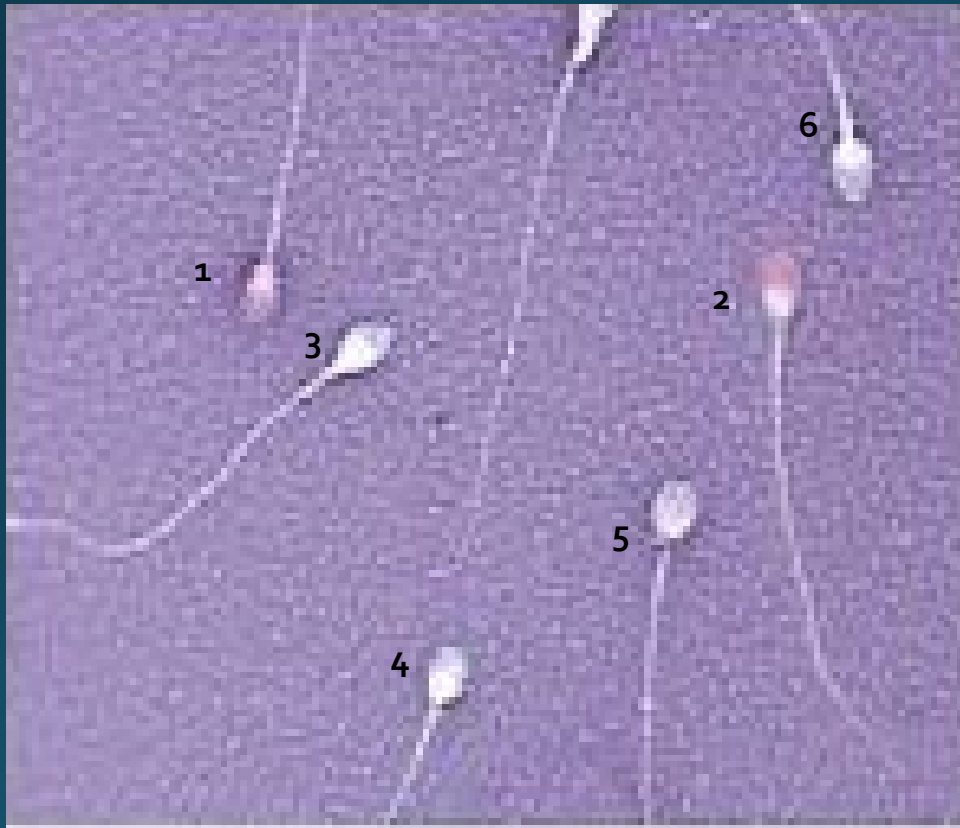
Cauda enrolada e espessa

Acrossoma >40%



Vitalidade

- Objetivo: verificar se os espermatozoides estão vivos ou mortos.

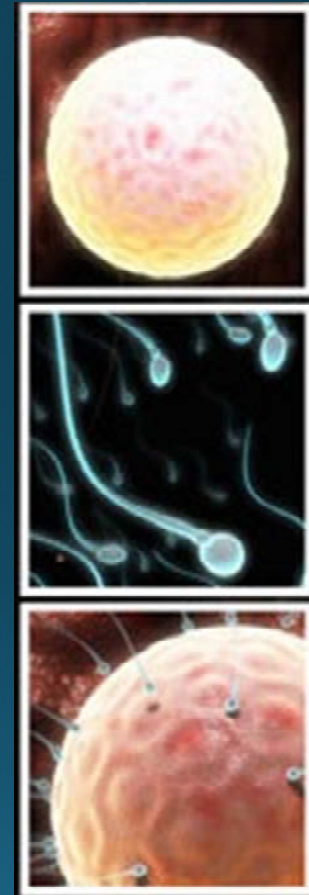


Exemplo de Vitalidade.

1. Morto
2. Morto
3. Vivo
4. Vivo
5. Vivo
6. Vivo

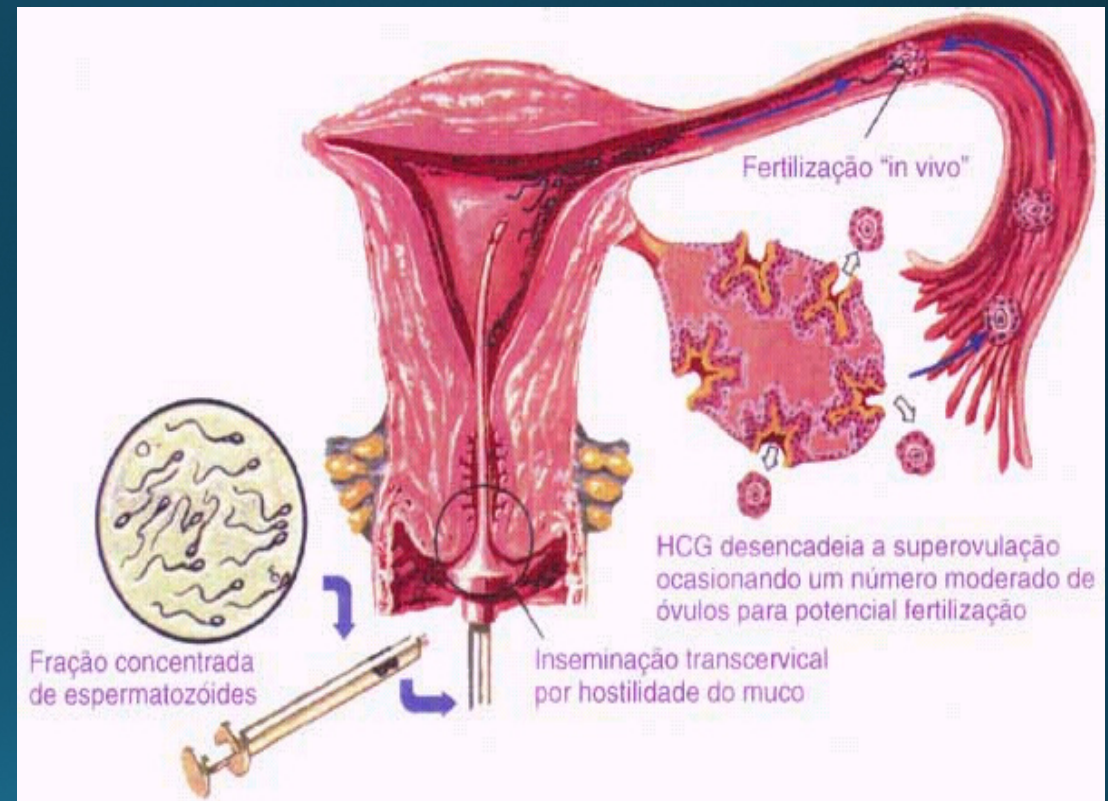
Tratamentos realizados na UMR

- Tratamentos de baixa complexidade
 - Inseminação Intrauterina (IIU)
- Tratamentos de alta complexidade
 - Fertilização In vitro (FIV)
 - Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI)



Inseminação Intrauterina (IIU)

- Procedimentos do laboratório:
 - Capacitação do sémen
 - Introdução do sémen capacitado no cateter de inseminação
- Método simples e de baixo custo que deverá preceder aos métodos de alta complexidade sempre que possível!



Fertilização *in vitro* (FIV)

- FIV – fertilização extra corporal (*in vitro*) utilizando uma determinada quantidade de espermatozoides para cada oócito

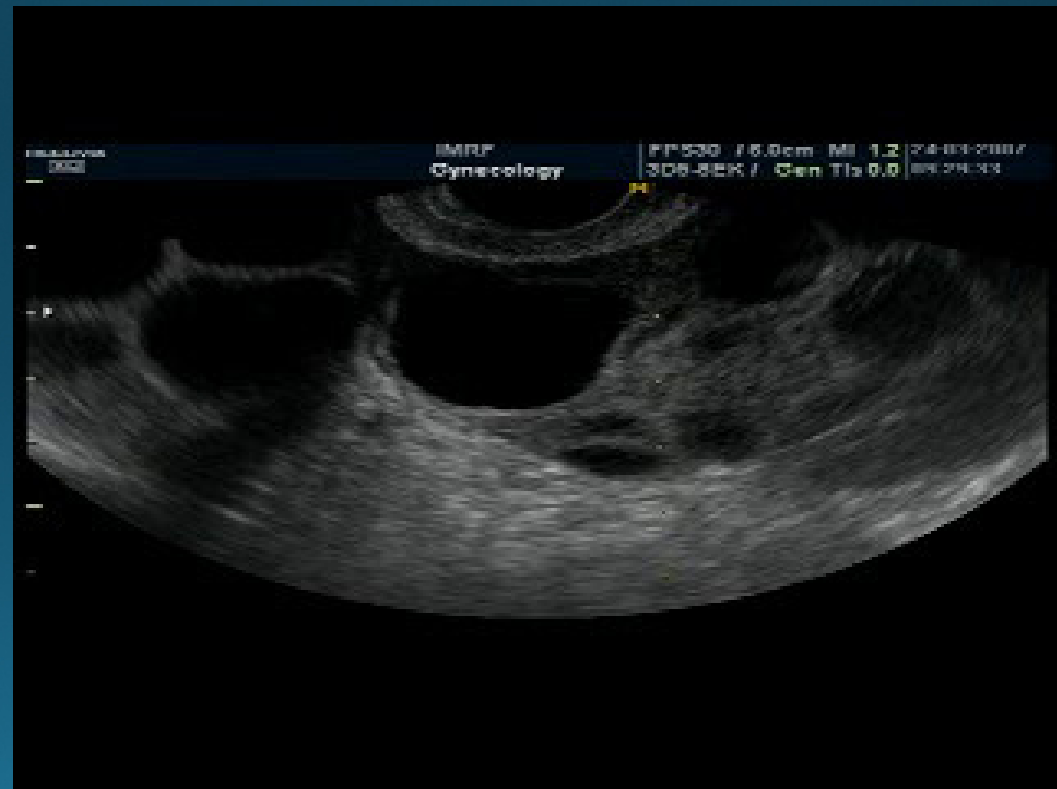
1º Passo: Puncionar ovários para
recolha dos oócitos



2º Fertilização e cultura em
laboratório



3º Passo: seleção e transferência
dos embriões



Fertilização *in vitro* com
sémen capacitado



Injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)

- ICSI – técnica que permite a injeção de um único espermatozoide no citoplasma do oócito através de um sistema de micromanipulação de micro-agulhas

1º Passo: Puncionar ovários para recolha dos oócitos



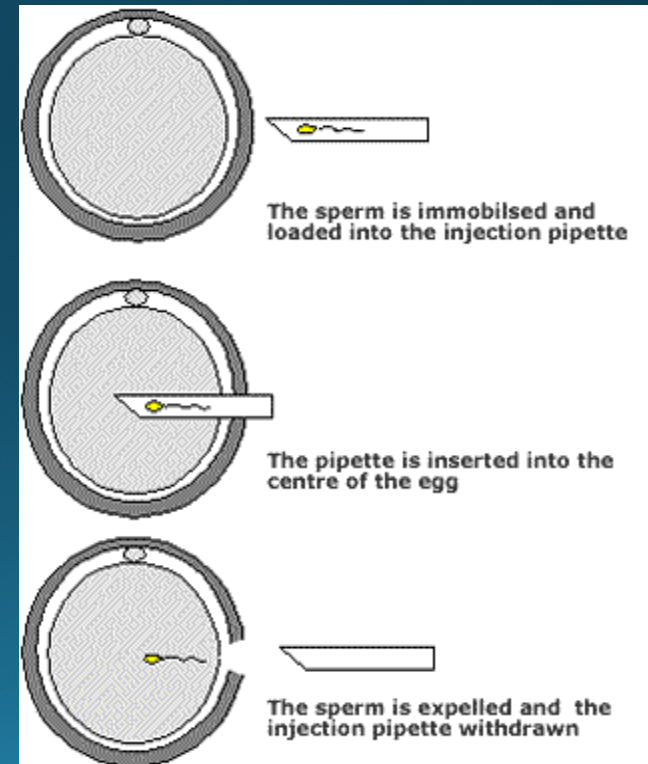
2º Passo: Desnudação dos oócitos e capacitação do sémen



3º Passo: Seleciona-se e imobiliza-se um único espermatozoide



4º Passo: injeção do espermatozoide no oócito



Injeção intracitoplasmática de espermatozoides



Desenvolvimento embrionário



1º dia (24 horas)



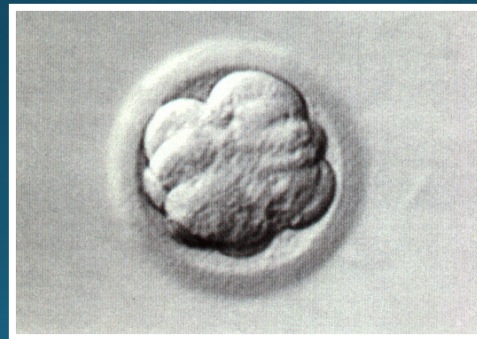
2º dia (48 horas)



3º dia (72 horas)

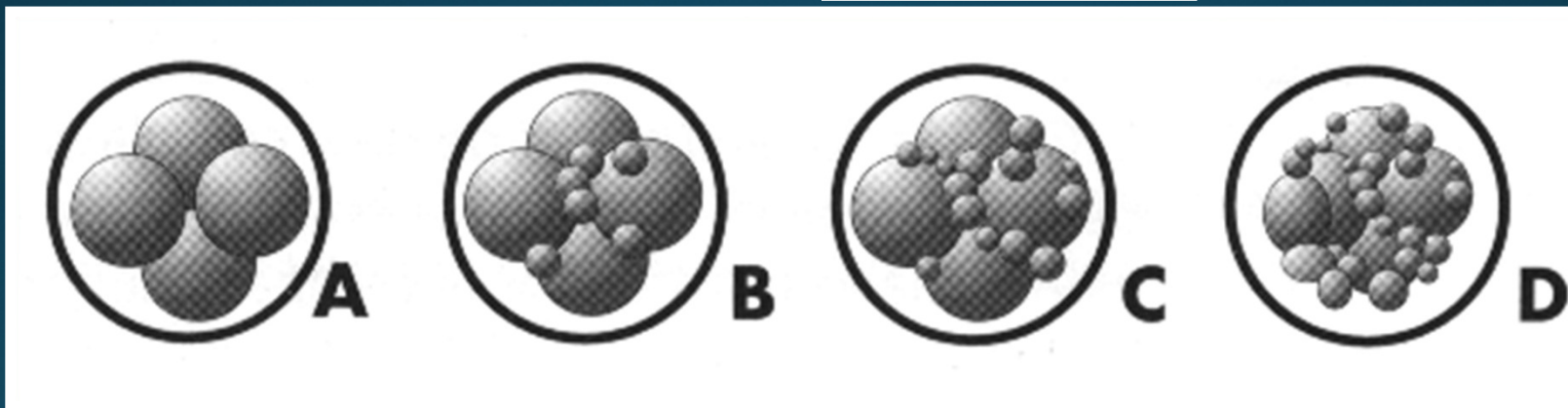


4º dia (96 horas)



5º dia (120 horas)

Qualidade embrionária



Transferência embrionária



Obrigada!



CENTRO HOSPITALAR COVA DA BEIRA
Covilhã/Fundão



Hospital Pêro da Covilhã



Departamento de Psiquiatria



Hospital do Fundão



No  da Beira Interior