

CASO CLÍNICO: COLHEITA *EX-VIVO* E MATURAÇÃO *IN VITRO* DE OVÓCITOS PARA PRESERVAÇÃO DO POTENCIAL REPRODUTIVO

P. Rodrigues^{1,2}, M. Marques¹, H. Nabais³, J. Casanova³, D. Sobral¹, M.J. Carvalho¹, C.E. Plancha^{1,4}

¹CEMEARE, Lisboa

²Escola de Psicologia e Ciências da Vida, Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologia de Lisboa.

³Fundação Champalimaud, Unidade de Ginecologia, Lisboa

⁴Instituto de Histologia e Biologia do Desenvolvimento, Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa

Introdução

A sobrevivência após diagnóstico oncológico tem vindo a aumentar, contudo mantém-se uma alta gonodotoxicidade associada aos tratamentos citotóxicos. Atualmente, a criopreservação de ovócitos ou tecido ovárico, antes de iniciar o tratamento citotóxico, são as técnicas de eleição para a preservação do potencial reprodutivo^{1,2}. Em casos de doença ginecológica avançada, em que os ovários estão comprometidos e é necessária a ovariectomia, a criopreservação do tecido ovárico pode não estar indicada^{3,4}.

Objetivos

Apresentação de uma situação em que foi efetuada uma histerectomia radical C1, com adnexectomia bilateral com linfadenectomia pélvica bilateral, com indicação para análise histológica do tecido ovárico. Antes do envio da peça para análise histológica, foram retirados ovócitos *ex-vivo* e subsequente maturação *in vitro* (IVM) dos Complexos Ovócito-Cumulus (COCs) recolhidos.

Material e Métodos

Uma mulher de 34 anos diagnosticada com carcinoma no cérvix foi estimulada com 1350 UI (225 UI/6 dias) de FSHr (Gonal F®, Merck Serono). Devido à urgência da cirurgia e impossibilidade/risco de acesso ao ovário por via transvaginal, a estimulação com hCG foi realizada com 17 folículos de tamanho inferior a 10 mm. A cirurgia e subsequente recolha *ex-vivo* de ovócitos foi efetuada cerca de 36h após a estimulação com hCG (Fig. 1).

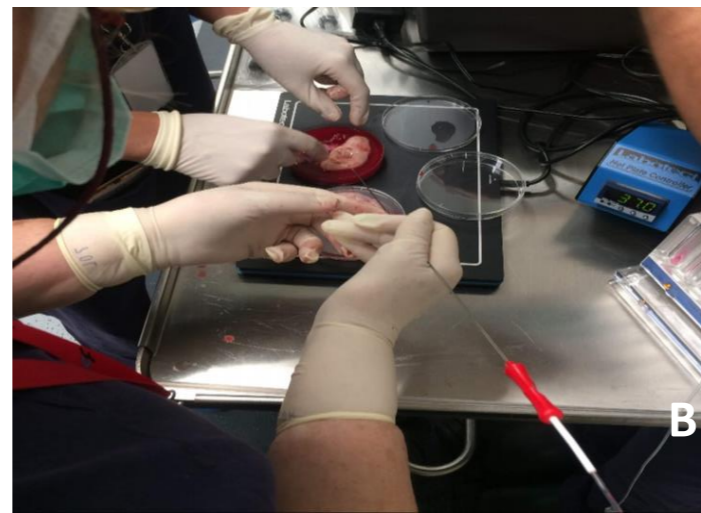


Figura 1 – Colheita de ovócitos *ex-vivo* após adnexectomia: a) ovários após adnexectomia e em preparação para punção *ex-vivo*; b and c) colheita de ovócitos *ex-vivo* por aspiração com agulha de punção.

Os COC's foram divididos em dois grupos, expandidos e não-expandidos e colocados em meio LAG (MediCult IVM System, Origio). Após 1h os COC's foram incubados em IVM (MediCult IVM System, Origio), suplementando com soro da paciente, FSH (Gonal F®) e LH recombinantes (Luveris®, Merck Serono). A maturação foi avaliada após 15h e 37h de cultura, as células do cumulus foram removidas e todos os ovócitos em Metafase II (MII) foram vitrificados (Vit-Kit Freeze®, Irvine).

Resultados e Conclusões

Foram recolhidos 18 ovócitos, tendo 2 sido criopreservados de imediato por se encontrarem maduros. Os restantes 16 ovócitos foram submetidos a IVM. Doze ovócitos atingiram o estágio de MII e foram também criopreservados.

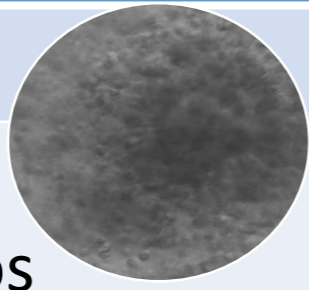
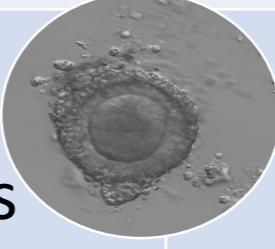
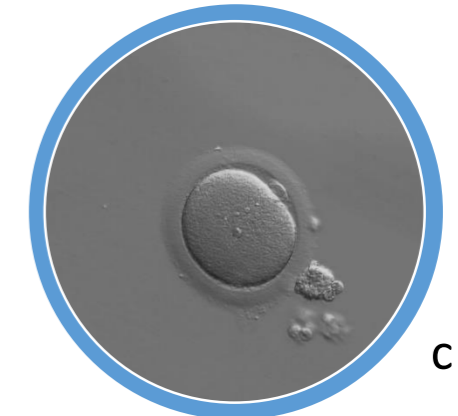
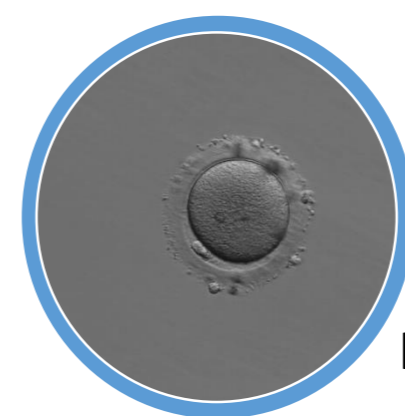
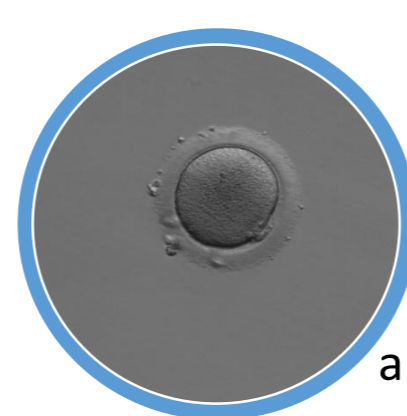
18 COC's Colhidos <i>ex-vivo</i>	IVM			
		0h	15h	37h
COC's Expandidos		2 MII Criopreservados	2 MII Criopreservados	6 MII Criopreservados
COC's Não-Expandidos		-	-	2 MII Criopreservados 2 MI+ 2 degenerados

Figura 2 – Ovócitos criopreservados: a) ovócito MII criopreservado no dia da colheita; b) ovócito MII criopreservado 15h pós-IVM; c) ovócito MII criopreservado 37h pós-IVM.



Após a colheita ovocitária *ex-vivo*, seguida de IVM, nos casos de imaturidade, foi possível obter uma alta percentagem de ovócitos maduros no final do procedimento, confirmando que é aplicar a IVM com sucesso após recolha *ex-vivo* seguida de maturação *in vitro*.

Em situações em que a criopreservação do tecido ovárico é impossibilitado devido à invasão da massa tumoral, a recolha *ex-vivo* seguida de cultura em IVM pode ser a única opção para criopreservação de ovócitos maduros e evitar a perda total da fertilidade nesta população de pacientes oncológicas¹.

Referências

¹Segers I, Mateizel I, van Moer E, Smits J, Tournaye H, Verheyen G, and De Vos M (2015) In vitro maturation (IVM) of oocytes recovered from ovariectomy specimens in the laboratory: a promising "ex vivo" method of oocyte cryopreservation resulting in the first report of a ongoing pregnancy in Europe. J Assist Reprod Genet 32: 1221-1231

²Fatemi HM, Kyou D, Al-Azemi M, Stoop D, De Sutter P, Bourgain C, and Devroey P (2011) Ex-vivo oocyte retrieval for fertility preservation. Fert and Steril 95(5): 1787.e15-1787.e17

³Bocca S, Dedmond D, Jones E, Stadmauer L, and Oehninger S (2011) Successful extracorporeal mature oocyte harvesting after laparoscopic oophorectomy following controlled ovarian hyperstimulation for the purpose of fertility preservation in a patient with borderline ovarian tumor. J Assist Reprod Genet 28:771-772

⁴Blanca EP, Fernandez-Perez MF, Martin-Diaz EdM, Lozano M, Garcia-Sanchez M, and Monedero C (2018) Ultrasound-guided ex-vivo retrieval of mature oocytes for fertility preservation during laparoscopic oophorectomy: a case report. J Reprod Infertil. 19(3):174-181