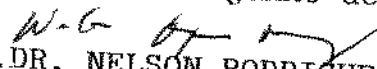


Este exemplar corresponde à versão final da  
tese de Doutorado apresentada à Comissão de  
Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de  
Ciências Médicas da UNICAMP, para obtenção  
do título de Doutor em Cirurgia do médico..

PAULO AUGUSTO NEVES.

Campinas, 20 de junho de 1995.

  
PROF.DR. NELSON RODRIGUES NETTO JÚNIOR  
ORIENTADOR

PAULO AUGUSTO NEVES

**IMPACTO DAS TÉCNICAS DE  
REPRODUÇÃO ASSISTIDA NO TRATAMENTO  
DA INFERTILIDADE MASCULINA**

TESE APRESENTADA À FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
- UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP -  
PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM CIRURGIA

ORIENTADOR: PROF.DR. NELSON RODRIGUES NETTO JR.

CAMPINAS

- 1995 -

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
	UNICAMP
	N 4141
	E
	25 826
	433/95
	0 1 0 x
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	05/10/95
N.º CPD	

CM-00077392-1

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS - UNICAMP

Neves, Paulo Augusto

N414i            Impacto das técnicas de reprodução assistida no tratamento  
da infertilidade masculina / Paulo Augusto Neves. Campinas,  
SP : [ s.n.], 1995,

Orientador: Nelson Rodrigues Netto Jr.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas.

Faculdade de Ciências Médicas.

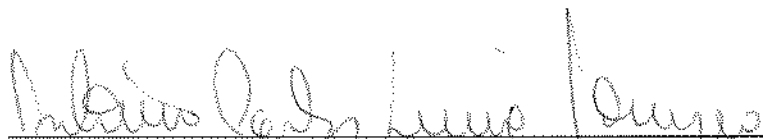
1. Infertilidade masculina. 2. Terapêutica. 3. Insemina-  
ção. 4. Fertilização in vitro. I. Rodrigues Netto Jr., Nelson  
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de  
Ciências Médicas. III. Título.

**TESE DE DOUTORADO: DATA DA DEFESA: 20/06/95**

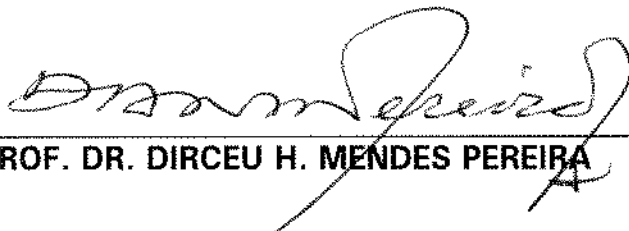
**IMPACTO DAS TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA NO TRATAMENTO  
DE INFERTILIDADE MASCULINA**

**AUTOR: DR. PAULO AUGUSTO NEVES**

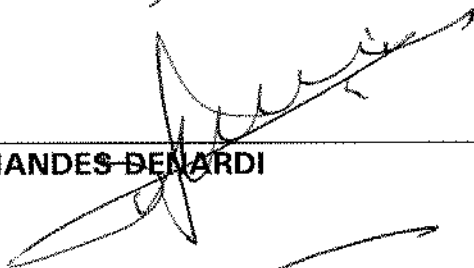
**FOLHA DE APROVAÇÃO:**



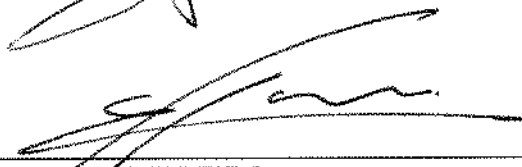
**PROF. DR. ANTONIO CARLOS LIMA POMPEO**



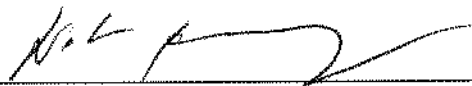
**PROF. DR. DIRCEU H. MENDES PEREIRA**



**DR. FERNANDES BERNARDI**



**DR. UBIRAJARA FERREIRA**



**PROF. DR. NELSON RODRIGUES NETTO JR. (ORIENTADOR)**

À minha esposa Mônica e aos meus  
filhos Paula, Flávia e João Augusto,  
com todo carinho.

## AGRADECIMENTOS

- Ao meu maior incentivador, Prof. Nelson Rodrigues Netto Jr., meu profundo afeto e gratidão por todo o apoio que tem me dispensado ao longo dos anos;

- Aos meus colegas do Laboratório de Reprodução Humana - CAISM - UNICAMP: Fátima A.B. Luiz, Francisco A.T. Fazano, Mara A. de Lucio, Mara Lisa Burmeister, Nicéia B.L.G. Marrone; e do Laboratório de Andrologia e Criobiologia de São Paulo, João B. Leopoldo de Figueiredo pelo auxílio na realização dos exames, acompanhamento dos pacientes e catalogação dos resultados;

- A todos os médicos, enfermeiros e auxiliares do ambulatório de Esterilidade - CAISM - UNICAMP e em especial ao seu chefe Prof. Dr. Luis Bahamondes, pelo apoio ao tratamento dos casais;

- Aos amigos Paulo Perin e Mariangela Maluf, com os quais tenho compartilhado o entusiasmo no tratamento do casal infértil;

- Ao meu grande amigo José Roberto Luzzi, que pacientemente vem me apoiando na carreira profissional, cujo auxílio permitiu a realização desta e de outras inúmeras tarefas;

- Às Sras. Paula G. Strassman e Sandra R. Malagutti pelo auxílio na análise estatística.

## **SUMÁRIO**

RESUMO .....	1
I. INTRODUÇÃO .....	3
II. OBJETIVOS .....	6
III. CASUÍSTICA E MÉTODOS .....	7
III.1. CASUÍSTICA .....	7
III.1.a. Constituição do grupo de estudo.....	8
III.2. MÉTODOS.....	10
III.2.a. TRATAMENTO CONVENCIONAL .....	12
III.2.a.1. Tratamento cirúrgico (varicocelectomia) .....	13
III.2.a.2. Tratamento clínico .....	13
III.2.b. TRATAMENTO ATRAVÉS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA .....	14
III.2.b.1. Seleção da técnica .....	14
III.2.b.1.a. Inseminação intra-uterina .....	15
III.2.b.1.b. Fertilização in vitro .....	16
III.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	19
IV. RESULTADOS.....	20
IV.1. TRATAMENTO CONVENCIONAL.....	20
IV.1.a. Tratamento cirúrgico (varicocelectomia) .....	20
IV.1.b. Tratamento clínico .....	21
IV.1.c. Resultado geral do tratamento convencional .....	22

IV.2. TRATAMENTO POR REPRODUÇÃO ASSISTIDA.....	23
IV.2.a. Inseminação intra-uterina .....	23
IV.2.a.1. Número de ciclos.....	24
IV.2.a.2. Número de espermatozóides inseminados.....	27
IV.2.b. Fertilização in vitro .....	28
IV.2.b.1. Número de ciclos.....	29
IV.2.b.2. Número de espermatozóides utilizados.....	30
IV.2.c. Resultado geral do tratamento por reprodução assistida.	31
IV.3. COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO CONVENCIONAL E POR REPRODUÇÃO ASSISTIDA.....	33
V. DISCUSSÃO.....	35
VI. CONCLUSÃO.....	46
ANEXO I - TÉCNICA DE "SWIM-UP".....	47
ANEXO II - TÉCNICA DE GRADIENTE DESCONTÍNUO DE PERCOLL.....	48
SUMMARY.....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52



## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

### **FIGURAS**

<i>Figura 1</i> : Pacientes com infertilidade masculina.....	7
<i>Figura 2</i> : Pacientes com infertilidade primária.....	9
<i>Figura 3</i> : Organograma do tratamento.....	18
<i>Figura 4</i> : Inseminação intra-uterina: probabilidade cumulativa de gestação.....	26

### **TABELAS E GRÁFICOS**

<i>Tabela e Gráfico 1</i> : Resultados do tratamento cirúrgico.....	20
<i>Tabela e Gráfico 2</i> : Resultados do tratamento clínico.....	21
<i>Tabela e Gráfico 3</i> : Resultado geral do tratamento convencional.....	22
<i>Tabela e Gráfico 4</i> : Resultados de AIH.....	24
<i>Tabela 5</i> : AIH: número de ciclos.....	24
<i>Tabela 6</i> : Tempo (em ciclos) decorrido entre o início do tratamento e a gestação utilizando AIH (inseminação intra-uterina).....	25
<i>Tabela 7</i> : Resultados da AIH em relação ao número de espermatozóides capacitados utilizados para inseminação.....	27
<i>Tabela e Gráfico 8</i> : Resultados da fertilização in vitro.....	28
<i>Tabela 9</i> : Resultados da FIV em relação ao número de espermatozóides capacitados utilizados para inseminação.....	29
<i>Tabela e Gráfico 10</i> : Resultados da reprodução assistida (AIH e FIV).....	30
<i>Tabela e Gráfico 11</i> : Comparação dos resultados do tratamento convencional e por reprodução assistida.....	31
<i>Tabela 12</i> : Resultados do tratamento empírico da infertilidade masculina idiopática.....	37

## **RESUMO**

No período de 1990 a 1994, 331 pacientes do sexo masculino com infertilidade primária foram tratados no ambulatório da Disciplina de Urologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. O tratamento compreendeu uma fase inicial, denominada convencional, que incluiu o tratamento clínico e cirúrgico (varicocelectomia). Os pacientes que não engravidaram nesta fase foram a seguir encaminhados para tratamento através de reprodução assistida.

O tratamento convencional incluiu 258 pacientes (77,95%) que receberam tratamento clínico através do uso de citrato de clomifeno (50 mg ao dia por via oral) ou administração de gonadotrofina coriônica humana (2000 UI por via intramuscular por semana) associada à gonadotrofina da menopausa (1000 UI por via intramuscular por semana) e acompanhados por 12 meses. Ao término deste período, quatro pacientes apresentaram gravidez (1,55%). Os outros 73 pacientes (22,05%) receberam tratamento cirúrgico (varicocelectomia) e clínico por apresentarem varicocele uni ou bilateral ao exame físico especial. Após seguimento de 18 meses, 10 pacientes apresentaram gestação (13,70%). O resultado geral do tratamento convencional foi de 4,23%.

Dentre os 317 casais que não apresentaram gestação, 63 foram tratados por reprodução assistida. Empregou-se a técnica de inseminação intra-uterina (AIH) quando foi possível recuperar inicialmente, através das técnicas de capacitação, dois ou mais milhões de espermatozóides com motilidade progressiva (graus A e B). Trinta e seis casais (57,14%) foram

tratados através de um a nove ciclos de AIH, num total de 131 ciclos. Observou-se 14 gestações (38,89%) com taxa de gravidez de 10,69% por ciclo. Não houve diferença estatisticamente significativa quando se comparou os resultados em função do número de espermatozóides inseminados (entre dois e cinco milhões ou entre cinco e 10 milhões). Empregou-se a técnica de fertilização in vitro quando a recuperação inicial de espermatozóides foi inferior a dois milhões. Vinte e sete casais (42,86%) foram tratados por esta técnica, num total de 37 ciclos. Ocorreu gravidez em três casos (11,11% com taxa de gravidez de 8,11% por ciclo). Não houve diferença estatisticamente significativa quando se comparou os resultados em relação ao número de espermatozóides utilizados no procedimento (entre um e dois milhões ou menos de um milhão de espermatozóides com motilidade progressiva). O resultado geral do tratamento por reprodução assistida foi de 26,98%.

Concluiu-se que a reprodução assistida deve ser o tratamento de escolha para os pacientes com infertilidade primária, portadores ou não de varicocele, por ser mais eficaz que o tratamento convencional.

## **IMPACTO DAS TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA NO TRATAMENTO DA INFERTILIDADE MASCULINA**

### **I. INTRODUÇÃO**

O tratamento da infertilidade masculina mudou radicalmente nos últimos 20 anos. A descrição do fenômeno de capacitação (AUSTIN, 1952) permitiu que os espermatozóides pudessem ser manipulados no laboratório, levando ao surgimento das técnicas de reprodução assistida (ACOSTA et al, 1986, ALLEN et al, 1985).

A capacitação dos espermatozóides compreende uma série de alterações bioquímicas e estruturais que os tornam aptos a fecundar os óvulos (AUSTIN & SHORT, 1972). Estas modificações ocorrem durante a permanência dos mesmos no trato genital feminino (LAMBERT et al, 1985). As técnicas de capacitação reproduzem no laboratório estes fenômenos (NEVES, 1991).

Nos últimos anos desenvolveram-se técnicas como inseminação intra-uterina, transferência de gametas para as trompas e fertilização in vitro, conjuntamente denominadas de "reprodução assistida", que passaram a ser utilizadas no tratamento da infertilidade masculina (SIGMAN, 1994). Nestas técnicas, os gametas masculino e feminino são manipulados no laboratório de maneiras diversas, favorecendo-se seu encontro em diferentes locais do

organismo feminino (útero, trompas), ou mesmo no laboratório (fertilização in vitro) . Mais recentemente, o processo de fertilização propriamente dito vem sendo realizado no laboratório, através das técnicas de micromanipulação, como a injeção intracitoplasmática de espermatozóides - "intracytoplasmatic sperm injection" - ICSI (SCHLEGEL, 1994).

Através destes procedimentos, tem sido possível o tratamento de pacientes com número diminuto de espermatozóides, ou mesmo o uso de espermatozóides coletados diretamente no epidídimo (SILBER et al, 1988) ou testículo (SCHOYSMAN et al, 1994).

O fator masculino está presente em aproximadamente 50,00% dos casais inférteis (HOWARDS, 1995). Ao se investigar o paciente infértil nem sempre é possível detectar-se na história ou exame físico uma causa que possa ser tratada objetivamente. Desta forma, grande contingente de pacientes apresenta-se ao urologista com alterações do espermograma sem causa aparente, recebendo tratamentos empíricos, com eficácia duvidosa.

Os casais inférteis sofrem um grande desgaste emocional em busca da gravidez (SANDLOW & DONOVAN, 1994). Cada vez mais torna-se necessário distinguir os tratamentos realmente eficazes e cientificamente comprovados. Cabe ao médico selecionar e indicar o tratamento mais adequado, que resulte em gravidez no menor prazo possível.

O presente estudo foi proposto com o intuito de determinar objetivamente os resultados do tratamento convencional (clínico e cirúrgico) em relação às técnicas de reprodução assistida (inseminação intra-uterina e fertilização in vitro).

Prospectivamente foram estudadas as taxas de gestação num determinado grupo de pacientes inférteis que receberam tratamento convencional. Os que não obtiveram êxito foram tratados por reprodução assistida.

## **II. OBJETIVOS**

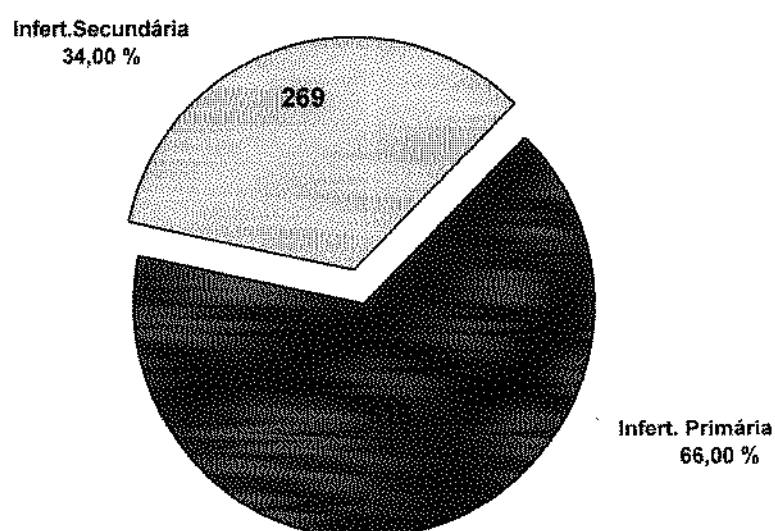
1. Analisar prospectivamente em termos de gravidez a eficácia do tratamento convencional (clínico e/ou cirúrgico);
2. Analisar prospectivamente em termos de gravidez a eficácia do tratamento por reprodução assistida, utilizando as técnicas de inseminação intra-uterina e fertilização in vitro;
3. Estabelecer, para este grupo de pacientes, o tratamento mais indicado.

### **III. CASUÍSTICA E MÉTODOS**

#### **III.1. CASUÍSTICA**

No período de janeiro de 1990 a dezembro de 1994, 787 pacientes inférteis foram acompanhados por um período mínimo de 12 meses no ambulatório da disciplina de Urologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP ou no Laboratório de Andrologia e Criobiologia de São Paulo. Para fins deste estudo foram considerados apenas os pacientes com infertilidade primária, ou seja, aqueles que nunca apresentaram gestação anterior durante um período mínimo de 18 meses, totalizando 518 pacientes (66,00%) (Figura 1).

**Figura 1: Pacientes com Infertilidade Masculina**





Inicialmente estes pacientes realizaram dois espermogramas consecutivos, com intervalo entre as coletas de pelo menos sete dias, e abstinência sexual de três a cinco dias. Todos foram considerados como portadores de infertilidade masculina, pois apresentaram valores inferiores aos considerados normais pela Organização Mundial da Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1987). As amostras, coletadas por masturbação, foram analisadas após um período de 60 minutos para liquefação, e evidenciaram número de espermatozóides inferior a 20 milhões por mililitro de sêmen ejaculado, acompanhado ou não de vitalidade diminuída (inferior a 50,00% de formas ejaculadas vivas), motilidade alterada (presença de menos de 50,00% de formas rápidas e progressivas graus A e B) e/ou morfologia alterada (menos de 50,00% de formas ovais normais).

### III.1.a. CONSTITUIÇÃO DO GRUPO DE ESTUDO

Dentre os 518 pacientes com infertilidade primária constituiu-se um grupo de estudo com 331 indivíduos, utilizando-se os seguintes critérios de exclusão:

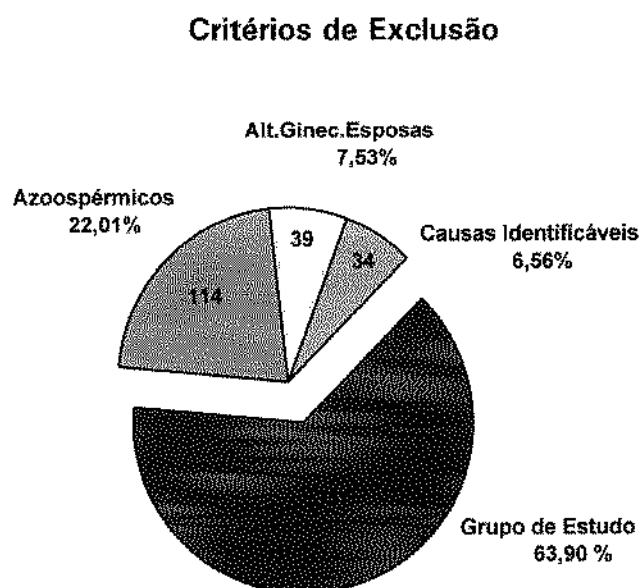
1.a.1. Pacientes com azoospermia (total: 114 pacientes, ou 22,01% dos pacientes estudados);

1.a.2. Pacientes cujas parceiras apresentavam alterações sugestivas de infertilidade de causa feminina (presença concomitante do fator masculino e feminino; total: 39 pacientes, ou 7,53% dos pacientes atendidos);

1.a.3. Pacientes que apresentaram alterações dos exames complementares ou dados na história que sugerissem causas específicas de infertilidade, por exemplo, uso de drogas, alcoolismo ou alterações do hábito sexual (total: 34 pacientes, ou 6,56% dos pacientes com infertilidade primária), que implicassem em tratamentos estabelecidos (por exemplo, antibioticoterapia, suspensão do uso de drogas).

A figura 2 representa os critérios de exclusão e o grupo de estudo constituído.

Figura 2: Pacientes com Infertilidade Primária



### III.2. MÉTODOS

Realizou-se anamnese e exame físico completos em todos os pacientes. No exame físico especial procurou-se detectar a presença de varicocele clínica, ou seja, dilatação visível ou palpável do plexo pampiniforme de um ou ambos os testículos, na posição ereta e após a realização da manobra de Valsalva. Neste estudo, o diagnóstico de varicocele subclínica (ou seja, varicocele detectável somente através de métodos auxiliares como doppler, venografia ou termografia) não foi considerado.

Posteriormente, realizou-se o seguinte protocolo de exames: espermocultura colhida associadamente a exames de urina Tipo I e urocultura do primeiro jato e jato médio e dosagens hormonais (FSH, LH, prolactina, testosterona livre e total).

A presença de leucócitos no sedimento da urina do primeiro jato e/ou jato médio (acima de 10 leucócitos/campo de grande aumento) , o encontro de mais de 5000 leucócitos por mililitro de sêmen ejaculado e/ou o encontro de colonização bacteriana na urina e/ou no sêmen, foram sugestivos de infecção do trato geniturinário (BAR-CHAMA, GOLUBOFF & FISCH, 1994).

As dosagens de FSH, LH e prolactina foram realizadas pela técnica de fluometria enzimática - EIA (\*), cujos valores considerados normais para o homem foram (GRIFFIN & WILSON, 1985):

---

(\*)Sistema automatizado Stratus, Baxter-Dade, U.S.A.

FSH: 2 a 17,7 mUI/mL;

LH: 0,9 a 10,6 mUI/mL;

PROLACTINA: 1,8 a 10,6 mUI/mL;

A dosagem de testosterona livre (\*) e total (\*\*) foram realizadas por radioimunoensaio em fase sólida , e os valores considerados normais foram (GRIFFIN & WILSON, 1985):

testosterona total: 2,7 a 10,7 ug/mL;

testosterona livre: 0 a 20 anos: até 27 ug/mL;

20 a 29 anos: 19 a 41 ug/mL;

30 a 39 anos: 18 a 39 ug/mL;

40 a 49 anos: 16 a 33 ug/mL;

50 a 59 anos: 13 a 31 ug/mL;

60 a 69 anos: 11 a 26 ug/mL;

70 a 79 anos: 9 a 25 ug/mL.

As parceiras dos pacientes foram avaliadas do ponto de vista ginecológico no ambulatório de Esterilidade da Disciplina de Ginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Esta avaliação constou de anamnese e exame físico, citologia hormonal seriada, ultra-sonografia pélvica ou transvaginal para controle de ovulação, biópsia do endométrio, e eventualmente histerossalpingografia.

---

(\*) RIA - DPC, Inglaterra.

(\*\*) RIA - ICN, U.S.A.

Os pacientes que na história apresentaram causas sugestivas de infertilidade (alcoolismo, uso de drogas, alterações da esfera sexual), indícios de infecção geniturinária, alteração dos valores hormonais ou cujas esposas apresentaram alterações menstruais, ovulatórias ou canaliculares sugestivas de fator feminino, foram excluídos do grupo de estudo.

Os pacientes selecionados receberam tratamento denominado convencional e por reprodução assistida (Figura 3). Os mesmos foram seguidos por um período mínimo de 12 meses, registrando-se a presença de gravidez com nascimento de um ou mais fetos vivos. Não se considerou como sucesso o tratamento que tenha resultado em gestação química (ou seja, detecção de níveis séricos de beta-HCG compatíveis com gestação, mas que desapareciam após determinado período) ou aborto no primeiro trimestre.

### **III.2.a. TRATAMENTO CONVENCIONAL**

A fase inicial do tratamento foi denominada "convencional" e compreendeu os tratamentos cirúrgico e clínico.

### **III.2.a.1. TRATAMENTO CIRÚRGICO (VARICOCELECTOMIA)**

Os pacientes que apresentavam varicocele clínica uni ou bilateral sofreram varicocelectomia pela técnica de PALOMO (1949) ou IVANISSEVICH (1960) e foram acompanhados por um período de seis meses; caso não ocorresse gestação, os pacientes receberam também tratamento clínico (descrito a seguir), e acompanhados por 12 meses.

### **III. 2.a.2. TRATAMENTO CLÍNICO**

Os pacientes com oligospermia sem causa aparente e os que não engravidaram após a varicocelectomia receberam tratamento clínico, através da indução da espermatogênese com antiestrogênio e/ou gonadotrofinas. Inicialmente os pacientes receberam citrato de clomifeno, na dose de 50 mg por via oral ao dia por um período mínimo de 90 dias. Aqueles que apresentavam elevação sérica de FSH (superior a pelo menos 50,00% do valor basal após 30 dias) ou que apresentavam normalização das características do espermograma após 90 dias mantiveram a medicação por um período de seis meses; caso não ocorresse gestação, os mesmos passaram a receber estímulo hormonal através de injeções semanais de gonadotrofina coriônica - HCG (1000 UI duas vezes por semana por 12 a 24 semanas) associado à gonadotrofina da menopausa (HMG) (1000 UI por semana por via intramuscular por 12 a 24 semanas). Os pacientes que não

mostraram resposta ao estímulo com citrato de clomifeno ou que apresentaram resposta deletéria (piora dos valores seminais devido a provável efeito estrogênico) receberam estímulo com gonadotrofinas conforme esquema descrito acima, ou 75 a 150 UI de FSH puro por via intramuscular por 12 a 24 semanas.

Após um período de seguimento de 12 meses, os casais que não apresentaram gestação com o tratamento convencional, foram encaminhados para reprodução assistida (Figura 3).

### **III.2.b. TRATAMENTO ATRAVÉS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA**

O tratamento por reprodução assistida constou de inseminação intra-uterina (AIH) ou fertilização "in vitro" (FIV). A escolha de um ou outro procedimento baseou-se no número de espermatozóides recuperados através das técnicas de capacitação.

#### **III.2.b.1. SELEÇÃO DA TÉCNICA**

Inicialmente realizou-se capacitação espermática, através de duas técnicas distintas: técnica de lavagem e migração em meio Ham's F10 - "swim-up" (ANEXO I) e técnica de "swim-down" em coluna de Percoll (ANEXO II). A técnica que apresentasse a melhor recuperação de espermatozóides capacitados seria a selecionada para o paciente em questão.

Os casais com recuperação igual ou superior a dois milhões de espermatozóides em uma das duas técnicas consideradas foram tratados

através de inseminação intra-uterina (AIH), utilizando ciclos menstruais estimulados.

Os pacientes com recuperação inferior a dois milhões de espermatozoides nas duas técnicas de capacitação foram encaminhados para o programa de fertilização in vitro (FIV).

### **III.2.b.1.a. INSEMINAÇÃO INTRA-UTERINA**

Neste procedimento, os espermatozoides capacitados por intermédio das técnicas de beneficiamento são introduzidos na cavidade uterina durante ciclos ovulatórios estimulados, no período mais próximo à ovulação (IRIANNI et al, 1990).

Os ciclos ovulatórios são estimulados pela combinação de citrato de clomifeno e gonadotrofina da menopausa. O crescimento dos folículos ovarianos é acompanhado pela ultra-sonografia pélvica ou transvaginal seriada. Quando, ao ultra-som, o folículo dominante atinge 18 mm em seu maior diâmetro, administra-se à paciente 10.000 U.I. de gonadotrofina coriônica humana, e após 36 horas, procede-se à inseminação propriamente dita utilizando o sêmen capacitado.

A paciente é colocada em posição ginecológica e em Trendelenburg, e após a colocação do espéculo, o canal uterino é



cateterizado e a solução contendo os espermatozoides capacitados é injetada com o auxílio de sondas especiais (\*). A paciente permanece em repouso nessa posição por 20 minutos, sendo a seguir liberada. Vinte e quatro horas após, a ocorrência da ovulação é confirmada por nova ultra-sonografia pélvica ou transvaginal. Caso a ovulação não tenha ocorrido, o procedimento é repetido.

A segunda fase do ciclo menstrual é mantida através da injeção de 5.000 U.I. de gonadotrofina coriônica, 48 e 72 horas após a inseminação.

Caso após 14 dias não tenha ocorrido menstruação, confirma-se a gestação através da dosagem sérica de beta-HCG e posteriormente através de ultra-sonografia pélvica ou transvaginal.

### **III.2.b.1.b.FERTILIZAÇÃO IN VITRO**

Nesta técnica, os óvulos obtidos por punção transvaginal guiada pelo ultra-som são inseminados com os espermatozoides capacitados no laboratório. Após a fertilização, os embriões assim formados são transferidos para a cavidade uterina (JONES Jr et al, 1984).

A ovulação é estimulada com hormônio liberador de gonadotrofinas, citrato de clomifeno, gonadotrofina da menopausa ou FSH puro. O crescimento folicular ovariano é controlado pela ultra-sonografia pélvica seriada ou transvaginal e dosagem de estradiol sérico.

---

(\*) Sonda de Tomcat, Sherwood, U.S.A., ou sonda KDF-2.3, Unimar, U.S.A.

Quando o tamanho do folículo ovariano dominante atinge 18 mm em seu maior diâmetro e a dosagem de estradiol excede 100 ug/mL por folículo, realiza-se a coleta dos óvulos, sob anestesia geral (com o uso de propofol endovenoso), através da punção transvaginal dos ovários guiada por ultra-som. Todos os folículos ovarianos são aspirados.

Os óvulos assim obtidos são mantidos em cultura em meio de Ham's F10 contendo 7,50% de soro fetal. Após quatro a seis horas em estufa de gás carbônico a 37°C, adiciona-se em média 100 mil espermatozoides capacitados por óvulo. Os gametas são mantidos na estufa por 12 a 24 horas, sendo então examinados quanto à presença de pronúcleos.

Os embriões formados são transferidos para a cavidade uterina após a primeira ou segunda divisão celular (embrião de duas ou quatro células) com o auxílio da sonda de Fridman (\*)

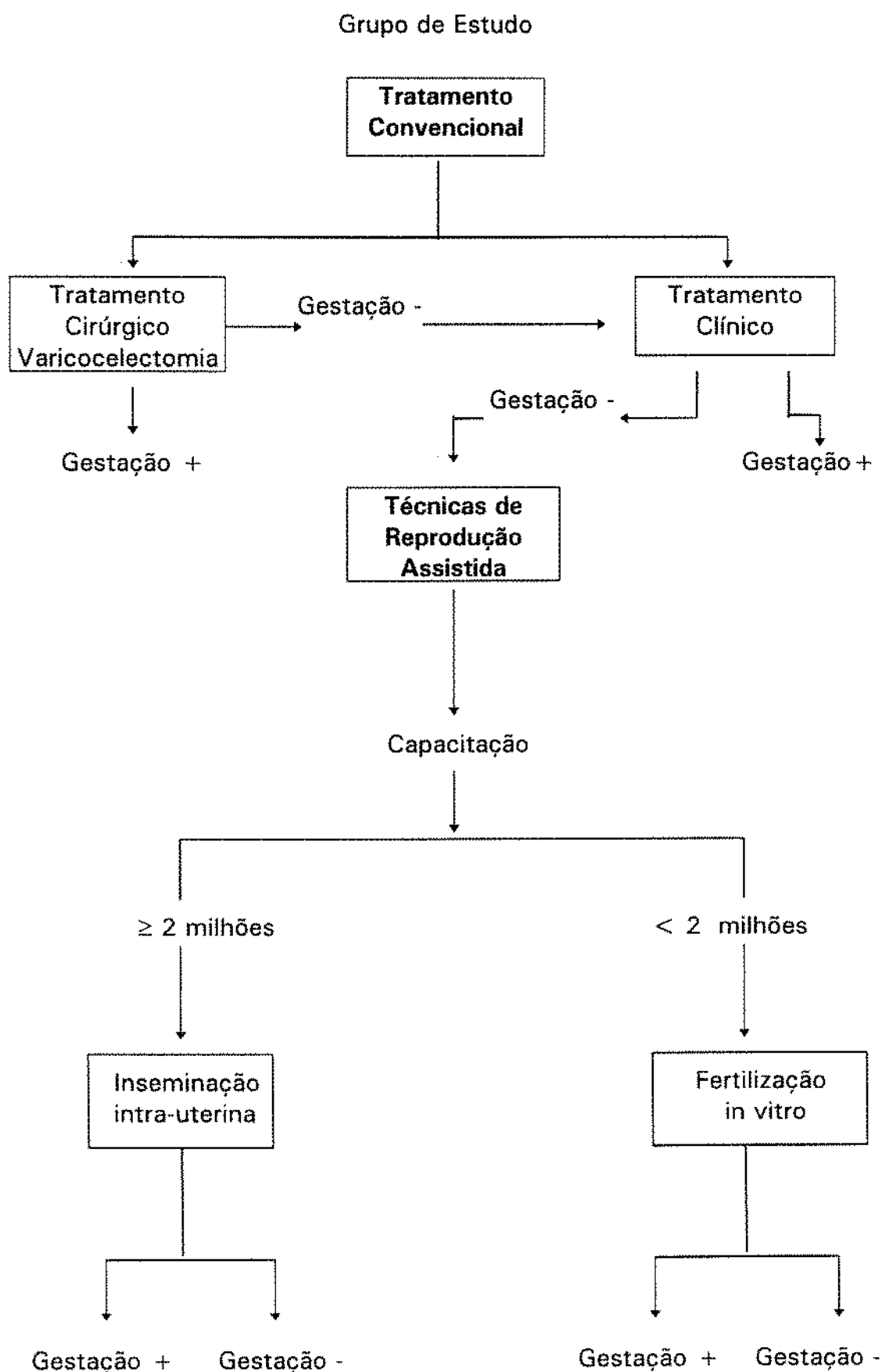
A segunda fase do ciclo menstrual é mantida com progesterona (solução oleosa, 50 mg/dia por via intramuscular).

Após 14 dias, a gestação é confirmada através da dosagem sérica de beta-HCG e posteriormente pela ultra-sonografia pélvica ou transvaginal. Caso a mesma seja confirmada, a progesterona é mantida por 4 a 8 semanas.

---

(\*) Cook Obgyn, U.S.A.

**FIGURA 3 - Organograma do Tratamento**



### **III.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados do tratamento convencional e da reprodução assistida (gestações) foram comparados e analisados estatisticamente pelo teste de Fisher (SIEGEL, 1975)

## IV. RESULTADOS

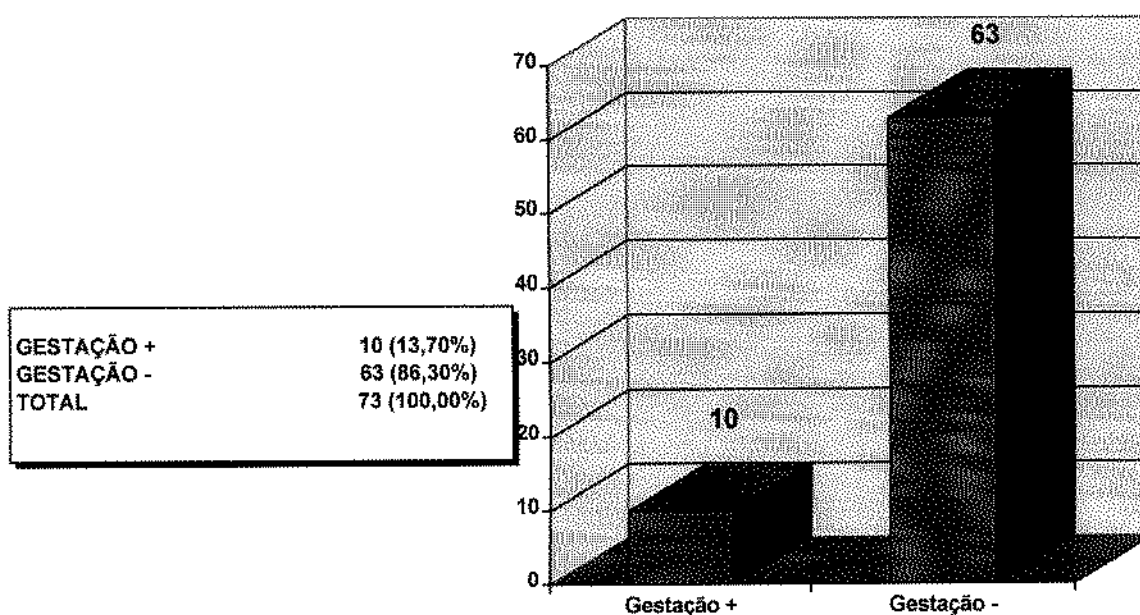
### IV.1. TRATAMENTO CONVENCIONAL

#### IV.1.a. TRATAMENTO CIRÚRGICO (VARICOCELECTOMIA)

Dentre os 331 pacientes que constituíram o grupo de estudo, 73 apresentavam varicocele clínica uni ou bilateral (22,05%). Estes pacientes inicialmente sofreram correção cirúrgica da varicocele.

Após seguimento de seis meses três pacientes apresentaram gestação (4,11%); os 70 restantes receberam tratamento clínico e acompanhados por 12 meses. Neste período, outros sete apresentaram gestação (9,59%). No total, durante todo o período de seguimento, 10 casais apresentaram gravidez (13,70%) (Tabela e Gráfico 1).

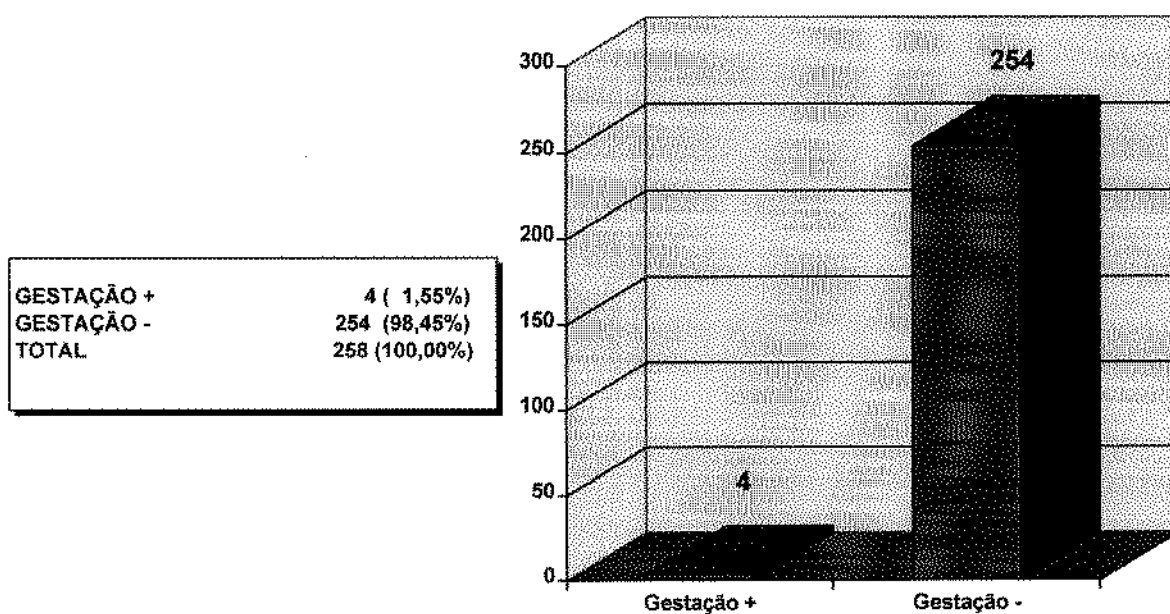
**TABELA E GRÁFICO 1: Resultados do Tratamento Cirúrgico**



#### IV.1.b. TRATAMENTO CLÍNICO

Duzentos e cinquenta e oito pacientes (77,95%) receberam tratamento clínico e os casais foram acompanhados por um período de 12 meses. Ao término deste período, apenas quatro casais (1,55%) apresentaram gestação (Tabela e Gráfico 2).

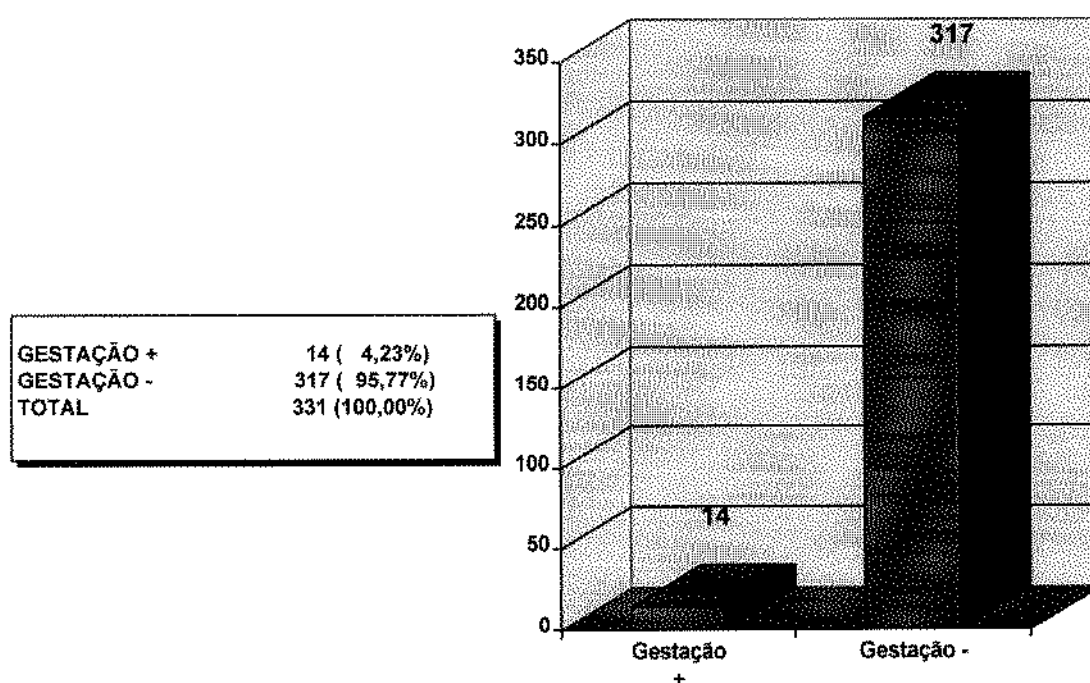
**TABELA E GRÁFICO 2: Resultados do Tratamento Clínico**



#### IV.1.c. RESULTADO GERAL DO TRATAMENTO CONVENCIONAL

Trezentos e dezessete casais não obtiveram gestação com o tratamento clínico e/ou cirúrgico (convencional) (95,77%). Apenas 14 gestações foram observadas com o tratamento convencional (4,23%) (Tabela e Gráfico 3) no período de seguimento de 12 a 18 meses.

**TABELA E GRÁFICO 3: Resultado Geral do Tratamento Convencional**



## **IV.2. TRATAMENTO POR REPRODUÇÃO ASSISTIDA**

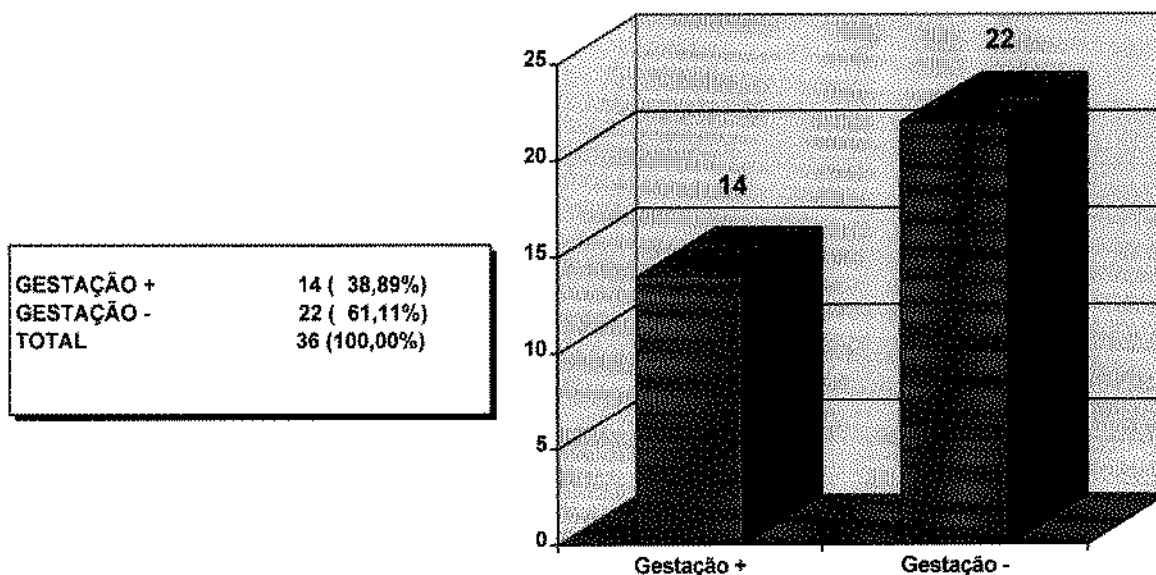
Dentre os 317 casais que não apresentaram gestação com o tratamento convencional, 63 foram tratados pelas técnicas de reprodução assistida (19,87%). Os 254 pacientes restantes (80,13%) abandonaram o tratamento principalmente devido ao fator financeiro (custo dos medicamentos).

### **IV.2.a. INSEMINAÇÃO INTRA-UTERINA**

Trinta e seis casais (57,14%) foram selecionados para o tratamento por inseminação intra-uterina (recuperação de pelo menos dois milhões de espermatozóides capacitados). Neste subgrupo de pacientes a média de recuperação foi de  $6,02 \pm 2,41$  milhões de espermatozóides.

As gestações foram analisadas em função do número de ciclos e do número de espermatozóides inseminados .



**TABELA E GRÁFICO 4: Resultados de AIH**

#### IV.2.a.1. Número de ciclos

Os casais foram tratados através de um a nove ciclos de AIH, num total de 131 ciclos. Observou-se 14 gestações (38,89% dos casais com uma taxa de gravidez por ciclo de 10,69%) (Tabela 4). As gestações resultaram no nascimento de 10 fetos únicos (71,43%), dois gemelares e dois trigemelares (28,57% de gestações múltiplas). Dentre os 14 casais que engravidaram, a média de ciclos foi de  $2,71 \pm 1,94$ , mediana 2, moda 1º ciclo (ciclo aonde mais freqüentemente ocorreu a gestação). Dentre os que não engravidaram, a média de ciclos foi de  $4,23 \pm 1,8$ , mediana 4 (Tabela 5).

**TABELA 5: AIH: NÚMERO DE CICLOS**

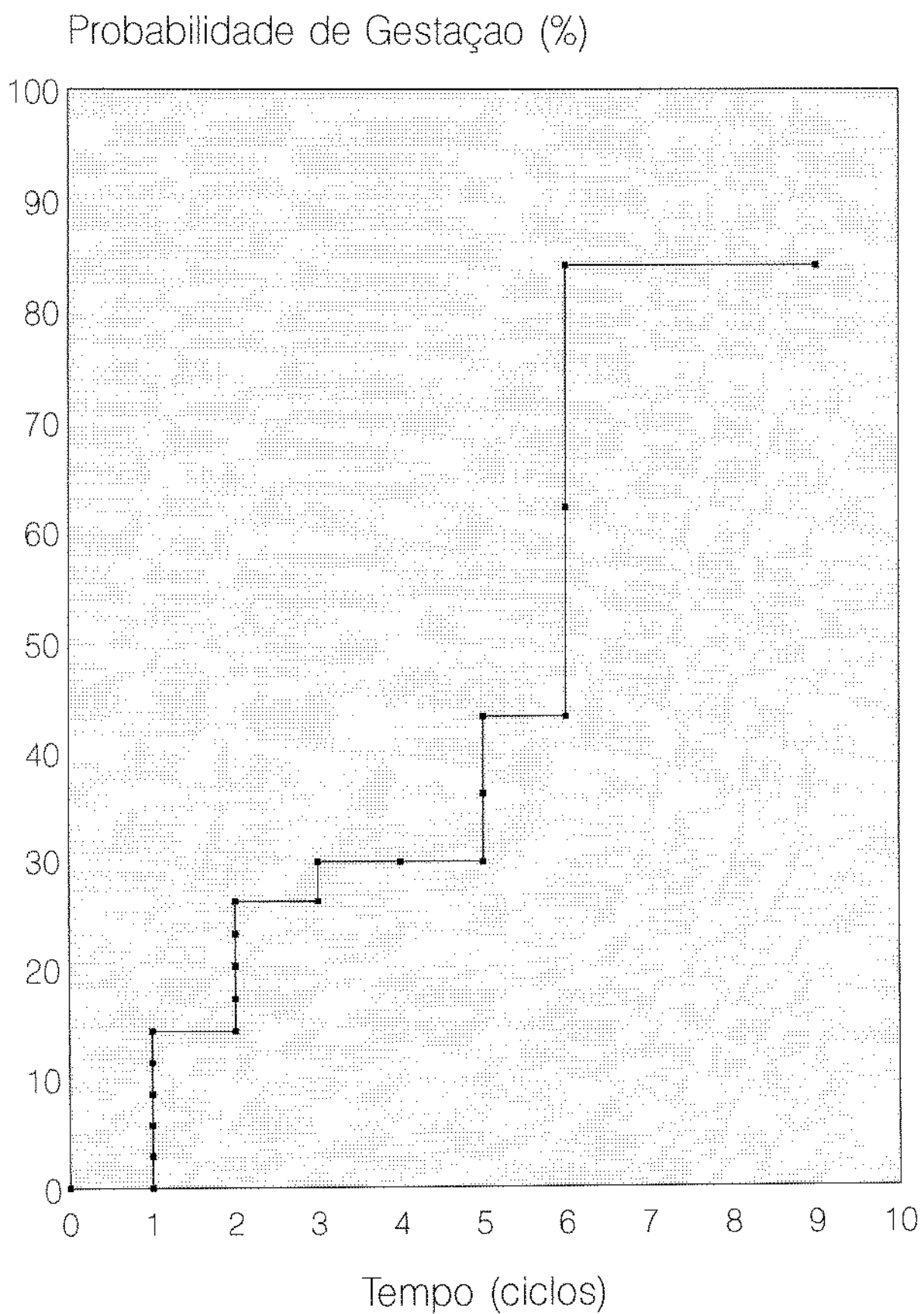
	Média $\pm$ D.P	Mediana
GESTAÇÃO +	2.71 $\pm$ 1.94	2.00
GESTAÇÃO -	4.23 $\pm$ 1.80	4.00

A correlação entre o tempo decorrido em ciclos, do início do procedimento até a obtenção da gestação, está representada na Tabela 6. A figura 4 representa a probabilidade cumulativa de gravidez (84,09% até o 6º ciclo).

**TABELA 6: TEMPO (EM CICLOS) DECORRIDO ENTRE O INÍCIO DO TRATAMENTO E A GESTAÇÃO UTILIZANDO AIH (INSEMINAÇÃO INTRA-UTERINA)**

TEMPO (CICLOS) ATÉ A GESTAÇÃO	PROBABILIDADE DE GESTAÇÃO	ERRO PADRÃO
	0,00%	----
1	0,00%	----
1+	2,86%	0,03
1+	5,71%	0,04
1+	8,57%	0,05
1+	11,43%	0,05
1+	14,29%	0,06
2	14,29%	0,06
2+	17,24%	0,06
2+	20,20%	0,07
2+	23,15%	0,07
2	26,11%	0,07
2	26,11%	0,07
3	26,11%	0,07
3	26,11%	0,07
3	26,11%	0,07
3	26,11%	0,07
3	26,11%	0,07
3	29,80%	0,08
3	29,80%	0,08
4	29,80%	0,08
4	29,80%	0,08
4	29,80%	0,08
4	29,80%	0,08
4	29,80%	0,08
4	29,80%	0,08
4	29,80%	0,08
5	29,80%	0,08
5+	36,18%	0,09
5	36,18%	0,09
5+	43,27%	0,11
6	43,27%	0,11
6	43,27%	0,11
6	43,27%	0,11
6	43,27%	0,11
6	43,27%	0,11
6+	62,18%	0,17
6+	84,09%	0,16
9	84,09%	0,16

+ = Gestação

**FIGURA 4: INSEMINAÇÃO INTRA-UTERINA. PROBABILIDADE CUMULATIVA DE GESTAÇÃO**

#### **IV.2.a.2. Número de espermatozóides inseminados**

Os resultados de gravidez foram analisados em função do número de espermatozóides inseminados. Para tanto, os pacientes foram divididos em dois subgrupos: aqueles com recuperação entre dois e cinco milhões (13 casos, ou 36,11%) e aqueles com recuperação entre cinco e 10 milhões (23 pacientes, ou 63,89%). No primeiro subgrupo de pacientes, a média de recuperação foi de  $3,22 \pm 0,77$  milhões de espermatozóides, e no segundo subgrupo, a média foi de  $7,60 \pm 1,30$  milhões de espermatozóides. A tabela 7 apresenta os resultados em termos de gravidez. O primeiro subgrupo apresentou quatro gestações (28,57% do total de gestações) e o segundo 10 gestações (71,43%). Ao se aplicar o teste exato de Fisher para a comparação entre os dois subgrupos de pacientes, não se observou diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,5013$ ).

**TABELA 7: RESULTADOS DA AIH EM RELAÇÃO AO NÚMERO DE ESPERMATOZÓIDES CAPACITADOS UTILIZADOS PARA INSEMINAÇÃO**

Nº ESPERMATOZÓIDES CAPACITADOS	GESTAÇÃO +	GESTAÇÃO -
2 a 5	4 (28,57%)	9 (40,91%)
5 a 10	10 (71,43%)	13 (59,09%)
TOTAL	14 (100,00%)	22 (100,00%)

Teste exato de Fisher: P = 0.5013

N.S.

#### IV.2.b. FERTILIZAÇÃO IN VITRO

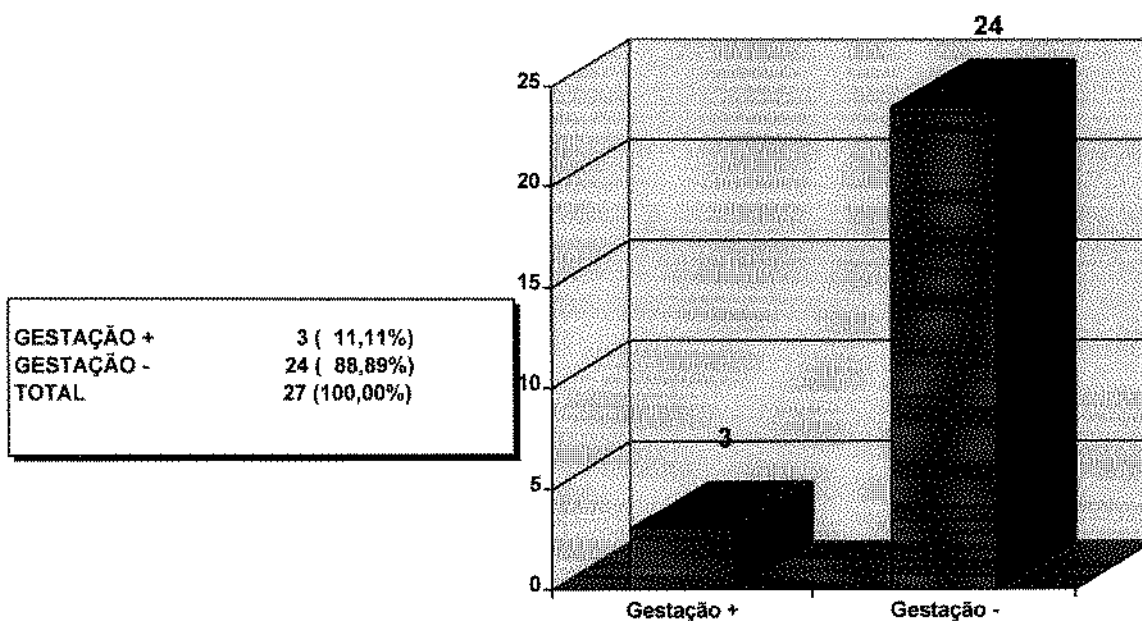
Em 27 casais (42,86%) utilizou-se a técnica de fertilização in vitro. A média de recuperação de espermatozóides capacitados para este grupo de pacientes foi de  $1,16 \pm 0,54$  espermatozóides.

Os resultados (gestações) foram analisados quanto ao número de ciclos e ao número de espermatozóides utilizados no procedimento.

##### IV.2.b.1. Número de ciclos

Os casais receberam de um a três ciclos de tratamento, em média um, num total de 37 ciclos. Ocorreu gravidez em três casos (11,11% com uma taxa de gravidez de 8,11% por ciclo). Todos os nascimentos foram de fetos únicos (100,00%) (Tabela e Gráfico 8).

**TABELA E GRÁFICO 8: Resultados da Fertilização in vitro**



#### **IV.2.b.2. Número de espermatozóides utilizados**

Os resultados de gravidez foram analisados em função do número de espermatozóides utilizados para FIV. Para tanto, os pacientes foram divididos em dois subgrupos: aqueles com recuperação entre um e dois milhões (17 casais, ou 62,96%) e aqueles com recuperação inferior a um milhão (10 casais, ou 37,04%). Observou-se no primeiro subgrupo de pacientes três gestações (17,65%) e nenhuma gestação no segundo subgrupo de pacientes (0,00%). A média de espermatozóides capacitados para o primeiro subgrupo de pacientes foi de  $1,46 \pm 0,45$  milhões, enquanto que para o segundo subgrupo foi de  $0,66 \pm 0,21$  milhões de espermatozóides capacitados. Ao se aplicar o teste exato de Fisher, não se observou diferença estatisticamente significativa entre o total de gravidez dos dois subgrupos de pacientes ( $p = 0,2735$ ) (Tabela 9).

**TABELA 9: RESULTADOS DA FIV EM RELAÇÃO AO NÚMERO DE ESPERMATOZÓIDES CAPACITADOS UTILIZADOS PARA INSEMINAÇÃO**

Nº ESPERMATOZÓIDES CAPACITADOS	GESTAÇÃO +	GESTAÇÃO -
1 A 2	3 (100,00%)	14 (58,33%)
Inferior a 1	0 (0,00%)	10 (41,67%)
TOTAL	3 (100,00%)	24 (100,00%)

Teste de exato de Fisher:  $P = 0,2735$

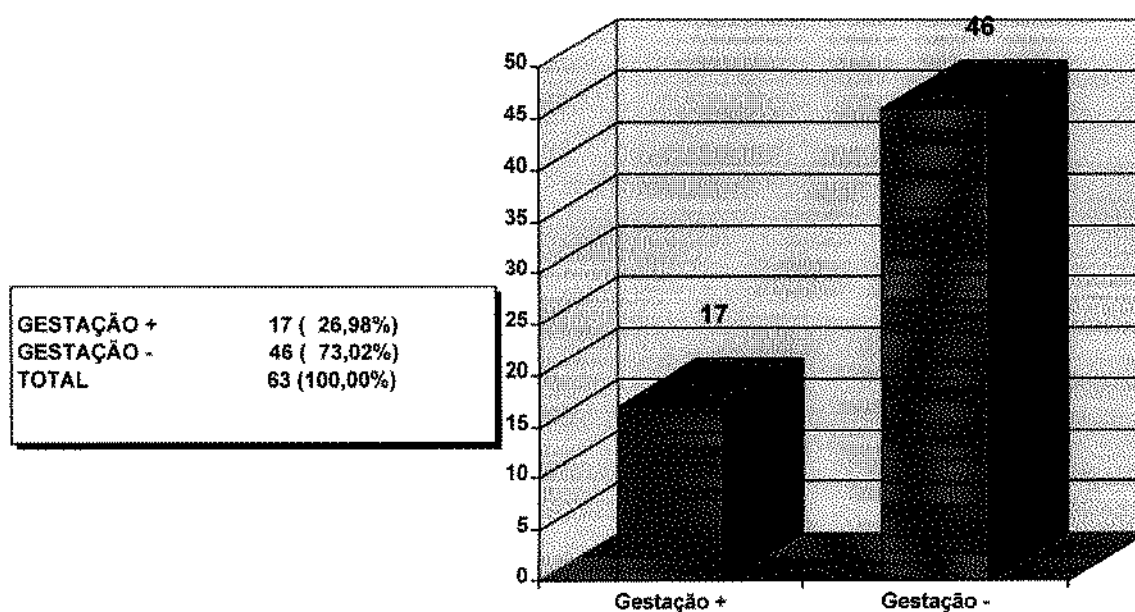
N.S.

#### IV.2.c. RESULTADO GERAL DO TRATAMENTO POR REPRODUÇÃO ASSISTIDA

A tabela e gráfico 10 apresentam os resultados das técnicas de AIH e FIV. Dezesete casais obtiveram gestação (26,98%) utilizando reprodução assistida.

**TABELA E GRÁFICO 10: RESULTADOS DA REPRODUÇÃO ASSISTIDA (AIH E FIV)**

	AIH	FIV	TOTAL
GESTAÇÃO +	14(38,99%)	3(11,11%)	17 (26,98%)
GESTAÇÃO -	22(61,11%)	24(88,89%)	46 (73,02%)
TOTAL	36 (100,00%)	27(100,00%)	63 (100,00%)

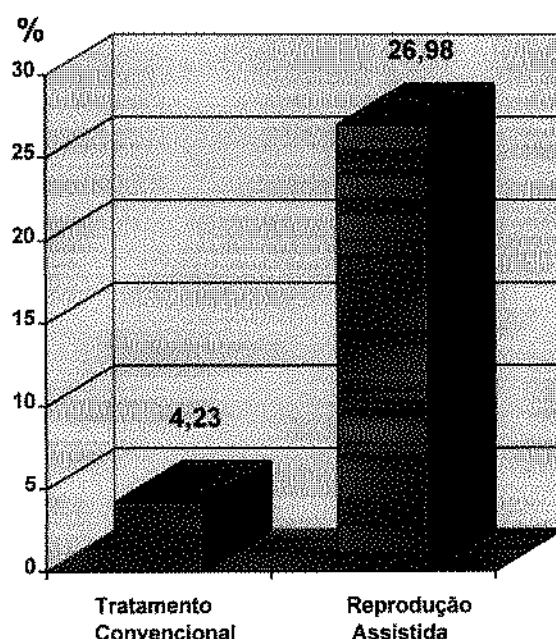


### IV.3. COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO CONVENCIONAL E POR REPRODUÇÃO ASSISTIDA

Ao se comparar os resultados do tratamento convencional (clínico e/ou cirúrgico) com os obtidos através da reprodução assistida, os resultados do tratamento por AIH e FIV foram superiores aos do tratamento convencional (Tabela e Gráfico 11). Observou-se 14 gestações num total de 331 casais tratados convencionalmente (4,23%), e 17 gestações num total de 63 casais tratados por reprodução assistida (26,98%).

**TABELA E GRÁFICO 11: COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DO TRATAMENTO CONVENCIONAL E POR REPRODUÇÃO ASSISTIDA.**

	Gestação +	Gestação -	Total
Trat.Convencional	14 (4,23%)	317 (95,78%)	331 (100,00%)
Reprod. Assistida	17 (26,98%)	46 (73,02%)	63 (100,00%)





## V. DISCUSSÃO

A infertilidade conjugal atinge 15,00% dos casais, sendo o fator masculino responsável por aproximadamente 50,00% dos casos (FISCH & LIPSHULTZ, 1992). Assim, um grande número de pacientes inférteis procura o urologista, que por sua vez deve identificar as possíveis causas e indicar o tratamento mais eficaz.

Recomenda-se avaliação urológica extensa para todos os pacientes inférteis em busca de causas potencialmente tratáveis, antes de se realizar exames dispendiosos ou adotar tratamentos complexos (HONIG, LIPSHULTZ & JAROW, 1994). Em determinadas ocasiões é possível identificar-se problemas graves, como tumores testiculares ou mesmo cerebrais, ou malformações geniturinárias que se manifestam inicialmente por infertilidade (JAROW, 1994). Aspectos da história, como idade, atividade ocupacional (MURRAY & MEACHAM, 1993), uso de drogas ou alcoolismo (CLOSE, ROBERTS & BERGER, 1990), alterações da esfera sexual ou mesmo estresse (TRUMMER et al, 1995) podem indicar características que justifiquem a infertilidade masculina e suscitar tratamentos específicos. O encontro destes aspectos possibilita a adoção de medidas como a limitação à exposição ocupacional, médica e recreacional a gonadotoxinas (THOMPSON, 1994).

### **Seleção do grupo de estudo**

A grande maioria dos pacientes com queixa de infertilidade masculina primária compreende indivíduos com oligospermia idiopática. Nestes pacientes, como não é possível identificar uma causa, o tratamento não é eficaz. Este grande contingente de pacientes habitualmente recebe inúmeros tratamentos empíricos; por esta razão, pareceu-nos importante realizar o estudo neste grupo de pacientes, que totalizou 66,00% dos homens inférteis que procuraram o ambulatório de Urologia no período de 1990 a 1994.

### **Exame físico: presença de varicocele**

O exame físico completo, em especial urogenital, pode também sugerir alterações que justifiquem a infertilidade, como a presença de hipospádias, espessamento do epidídimo ou atrofia testicular.

A varicocele é uma das causas de infertilidade. A Organização Mundial da Saúde em 1992 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992) estudou 9034 pacientes inférteis em 24 centros de tratamento no mundo e observou a presença de varicocele em 25,40% dos homens com sêmen alterado e em 11,70% dos homens com espermograma normal. Os casos de varicocele foram acompanhados de diminuição do volume testicular e das

alterações características do espermograma (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992).

A varicocele causa na espermatogênese uma lesão de caráter progressivo, que pode vir a prejudicar a fertilidade. Diversos estudos sobre infertilidade secundária confirmam este padrão evolutivo da lesão (CHEVAL, M.J., PURCELL, M.H., 1992; GORELICK & GOLDSTEIN, 1993; WITT & LIPSHULTZ, 1993). No espermograma, observa-se a presença de espermatozóides alongados e afilados ("tapering") (NAFTULIN et al, 1991).

No entanto, até o presente momento, não se estabeleceu se a correção cirúrgica desta enfermidade representa um tratamento eficaz da infertilidade. Estudos controlados, com seguimentos prolongados, revelam que as taxas de gravidez em pacientes operados não diferem estatisticamente daquelas dos homens não operados (RAGETH et al, 1992). Da mesma forma, outros estudos indicam não haver diferença estatisticamente significativa entre as taxas de gravidez dos pacientes com varicocele tratados clinicamente daquelas de indivíduos tratados cirurgicamente (RODRIGUES NETTO JR, 1986).

O encontro de varicocele subclínica, ou seja, aquela somente detectável através de métodos complementares, como doppler, termografia ou venografia, representa uma outra controvérsia. Não existem evidências convincentes de que a correção da varicocele subclínica melhore a fertilidade (HOWARDS, 1995).

Em geral, a correção cirúrgica da varicocele clínica é indicada para os pacientes com espermograma alterado, cuja parceira é normal (HOWARDS, 1995).

Em nosso estudo encontramos a presença de varicocele clínica em 22,05% dos pacientes do grupo de estudo, dado este coincidente com o apontado pela Organização Mundial da Saúde em 1992. Consideramos como parte do tratamento convencional a varicocelectomia, embora existam dados controversos na literatura quanto à cirurgia. O achado de varicocele subclínica não foi valorizado em nosso estudo.

A eficácia do tratamento cirúrgico foi de 13,70% em nosso estudo, coincidente com os resultados de RAGETH et al (1992).

### **Exames subsidiários**

O diagnóstico laboratorial também é fundamental. Os exames subsidiários podem revelar alterações hormonais ou infecção geniturinária que podem estar contribuindo com a infertilidade (BAR-CHAMA, GOLUBOFF & FISCH, 1994). As dosagens de FSH, LH e testosterona podem revelar casos de hipogonadismo hipogonadotrófico, tratáveis pela reposição hormonal (GONZALES et al, 1989). A hiperprolactinemia prejudica a espermatogênese, e não raro, sua correção leva à gestação num curto período de tempo (SOLER FERNANDEZ et al, 1990).

Desta forma, em nossa série, pareceu-nos adequado excluir os casos que indicassem alterações passíveis de tratamento específico, cujos resultados são estabelecidos na literatura.

O desenvolvimento das técnicas laboratoriais de diagnóstico auxiliou em muito a pesquisa da infertilidade masculina (NEVES, 1991). Exames laboratoriais mais complexos, como a pesquisa da reação

acrossômica, pesquisa do DNA nos espermatozóides ou os testes de fertilização, têm elucidado causas de infertilidade conjugal antes consideradas idiopáticas (SIEGEL, 1993). Assim, cada vez mais diminui o número de pacientes considerados como portadores de infertilidade sem causa aparente.

### **Tratamento clínico**

Diversos foram os tratamentos clínicos propostos para a infertilidade masculina. Destacam-se os que utilizam drogas que atuam diretamente sobre a espermatogênese ou sobre a maturação epididimária e que teoricamente poderiam melhorar a qualidade do espermograma (GILBAUGH & LIPSHULTZ, 1994). Entretanto, nenhum método eficaz foi estabelecido até o presente (SOKOL, 1988).

Numa extensa revisão sobre o tratamento clínico da infertilidade masculina, HOWARDS (1995) listou os principais estudos publicados, envolvendo grandes séries de pacientes (Tabela 12). No total, foram tratados 2236 pacientes que apresentaram taxa de gestação média de  $14,13 \pm 13,01\%$ . A maioria dos estudos não foi controlada, e utilizaram drogas que aumentavam o nível endógeno de andrógenos, FSH ou ambos. A maioria dos tratamentos provou ser ineficaz. O tratamento com qualquer uma dessas drogas não foi melhor do que o simples acompanhamento dos casais, sem nenhuma atitude terapêutica (SOKOL, 1988).

**TABELA 12 : RESULTADOS DO TRATAMENTO EMPÍRICO DA  
INFERTILIDADE MASCULINA IDIOPÁTICA**

Medicamento e número de indivíduos tratados/controles	Gestação	Placebo (grupo controle)	Autores	Ano de publicação
<b>Testosterona</b>				
168	14	Não	Charny	1959
163	41	Não	Rowley & Heller	1972
145	27	Não	Lamensdorf et al.	1975
225	25	Não	Charny & Gordon	1978
5/7	0/0	Sim	Wang et al	1983
<b>Mesterolona</b>				
80	11	Não	Schellen & Beek	1972
20	15	Não	Keogh et al	1976
35/34/36*	12/9/11*	Sim	World Health Organization	1989
<b>Gonadotrofina coriônica humana</b>				
117	9	Não	Homonnai et al.	1978
64	36	Não	Chehval & Mehan	1979
47	6	Não	Margalioth et al.	1983
30	20	Não	Pusch et al.	1986
<b>Hormônio liberador de gonadotrofina</b>				
10	0	Não	Zarate et al.	1973
4	0	Não	Schwarzstein et al.	1975
4	0	Não	Fauser et al.	1985
14	21	Não	Aulitzky et al.	1989
<b>Citrato de clomifeno</b>				
79	0	Não	Jungck et al.	1964
69	5	Não	Palti	1970
114	19	Sim	Foss et al.	1973
101	19	Não	Schellen & Beek	1974
32	13	Não	Paulson et al.	1977
54	4	Não	Charny	1979
92	17	Não	Newton et al.	1980
53	14	Não	Ross et al.	1980
76	10	Não	Ronnberg	1980
93/86	17/13	Sim	Abel et al.	1982
29/7	28/0	Sim	Wang et al.	1983
56/45	13/0	Sim	Micic & Dotlic	1985
9/11	9/44	Sim	Sokol et al.	1988
70/71	10/18	Sim	World Health Organization	1992
<b>Tamoxifen</b>				
21	----	Não	Vermeulen and Comhaire	1978
25	40	Não	Buvat et al.	1983
30	----	Não	Noci et al.	1985
20 + 27/27	----	Não	Torok	1985
18	----	Não	Brigante et al.	1985
<b>Testolactona</b>				
9	55	Não	Vigersky & Glass	1981
9	22	Não	Dony et al.	1986
12/13	0/0	Sim	Clark & Sherins	1989

\* Os três números indicam as taxas de gestação para baixas doses, altas doses e grupo controle  
Adaptado de HOWARDS, S.S., 1995

## **Testosterona**

O tratamento com altas doses de testosterona visa inibir a hipófise do paciente, e por sua vez, diminuir o nível intratesticular de testosterona, 50 vezes mais alto que o nível sérico. Após a suspensão da droga, espera-se que a espermatogênese seja incrementada através de efeito rebote. O tratamento foi abandonado, já que alguns pacientes apresentaram azoospermia irreversível após o tratamento. Ainda, um estudo duplo-cego controlado provou ser o tratamento ineficaz (COMHAIRE, 1990).

## **Mesterolona**

Andrógeno sintético amplamente utilizado na Europa. A Organização Mundial da Saúde em 1989 realizou amplo estudo duplo-cego em diversos centros mundiais, que provou ser o tratamento ineficaz (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1989). Os mesmos resultados foram observados num estudo que utilizou mesterolona em altas doses (GERRIS et al, 1991).

## **Gonadotrofina Coriônica Humana (HCG) e da Menopausa (HMG)**

No período de 1960 a 1970, 18 estudos não controlados foram publicados a respeito do uso de HCG e HMG (HOWARDS, 1995). Utilizou-se HCG na dose de 2500 a 5000 UI, uma a três vezes por semana por 12 a 15 semanas, observando-se em média 16,00% de gestação. A adição de HMG não melhorou o índice de sucesso.

## **Antiestrogênios**

Os antiestrogênios são as drogas mais amplamente utilizadas no tratamento da infertilidade masculina. Estes medicamentos aumentam a secreção hipotalâmica de GnRH, e portanto a secreção hipofisária de FSH e LH, assim como a produção testicular de testosterona. A maioria dos estudos aponta uma taxa de sucesso inferior a 30,00%. Estudo mundial proposto pela Organização Mundial da Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992) provou que o tratamento com o citrato de clomifeno, assim como o tratamento com tamoxifen, são ineficazes. Outros estudos controlados também demonstraram a ineficácia do tratamento com tamoxifen (KOTOULAS et al, 1994).

## **Outros medicamentos**

Outros compostos foram utilizados para o tratamento clínico da infertilidade masculina, com resultados desapontadores (GnRH, captopril (SCHILL, PARSCH & MISKA, 1994), testolactona, ácido fólico (BENTIVOGLIO, MELICA & CRISTOFORONI, 1993)).

Descreveu-se o uso de alfa-bloqueador combinado com beta-estimulante para o tratamento de oligospermia, com taxas de gestação ao redor de 25,00% (YAMAMOTO et al, 1986). Os mesmos autores, em 1995, publicam estudo duplo-cego controlado, comparando o uso de alfa-bloqueador (bunazosin) e placebo, e encontraram uma taxa de gravidez de



25,00% para os pacientes tratados com a substância, contra 6,70% para os que usaram placebo. Porém, não conseguiram estabelecer diferença estatisticamente significativa entre as taxas de gestação dos dois grupos de pacientes (YAMAMOTO et al, 1995).

Recentemente foi descrito o uso de hormônio foliculo-estimulante puro (FSH) para melhorar as taxas de fertilização dos espermatozóides, num programa de fertilização in vitro, tendo como causa o fator masculino (ACOSTA et al, 1991). O FSH melhora a espermatogênese, atuando sobre as células de Sertoli e espermatogônias, sem interferir com a função endócrina testicular. Mais recentemente, demonstrou-se a eficácia do FSH puro em melhorar as taxas de fertilização de amostras teratozoospermicas num programa de fertilização in vitro (BARTOOV et al, 1994).

Apesar do exposto, optamos pelo uso do citrato de clomifeno e da combinação de gonadotrofina coriônica e da menopausa, por serem os tratamentos mais estudados e mais utilizados mundialmente. Nossos resultados foram bastante desapontadores; somente 1,55% dos pacientes apresentaram gestação no seguimento de 12 meses. Desta forma, comprovou-se a ineficácia do tratamento clínico com citrato de clomifeno e/ou gonadotrofinas.

## **Tratamento por reprodução assistida**

Com o advento da reprodução assistida, o tratamento da infertilidade masculina passou a contar com inúmeras técnicas, com resultados seguramente superiores aos do tratamento convencional.

### **- avaliação dos resultados**

A avaliação dos resultados da reprodução assistida deve utilizar como critério de sucesso o nascimento de fetos vivos. O uso de parâmetros como gestação química e batimento fetal é ideal somente para o estabelecimento de novas técnicas (SAKKAS et al, 1992). Desta forma, em nosso estudo, consideramos como sucesso a obtenção de fetos vivos de termo.

### **Técnicas de capacitação**

A técnica de lavagem e migração - "swim-up" e a técnica de Percoll são igualmente eficazes em recuperar espermatozóides capacitados, porém apresentam diferenças quanto aos resultados de acordo com a motilidade inicial da amostra (NEVES et al 1990). A técnica de "swim-up" recupera uma porcentagem maior de espermatozóides móveis e ovais, enquanto a técnica de Percoll recupera maior porcentagem de espermatozóides com acrossoma intacto (NEVES, 1990; BRANDEIS & MANUEL, 1993). Devido à dúvida existente, pareceu-nos adequado utilizar

inicialmente as duas técnicas de capacitação para selecionar a mais eficaz para cada paciente, pois eventualmente uma das técnicas recuperaria maior número de espermatozóides capacitados.

### **Inseminação intra-uterina**

O valor da inseminação intra-uterina (AIH) no tratamento do fator masculino (oligoastenospermia) permanece controverso; porém, esta tem sido a indicação mais frequente de AIH, juntamente com infertilidade sem causa aparente (MARTINEZ et al, 1990). Ao se analisar os resultados desta técnica, deve-se ter em mente que a taxa de gravidez espontânea para os casais que estão sendo avaliados por infertilidade varia de 14,00 a 44,00% (BELKER & COOK, 1987).

Numa revisão de 17 séries publicadas, BELKER & COOK (1987) encontraram taxas de gestação que variaram de 0 a 66,00% com o uso de AIH. Quando se tratava o fator masculino foram estudados 219 pacientes que apresentaram taxa de gestação média de  $20,10 \pm 19,60\%$ . A técnica é relativamente simples, de baixo custo, e requer basicamente um laboratório para a realização das técnicas de capacitação.

Em nossa série, a taxa de sucesso foi de 38,89% com taxa de gravidez de 10,69% por ciclo, coincidente com os resultados da literatura (BELKER & COOK, 1987).

Ao se analisar os resultados da revisão de BELKER & COOK (1987) observa-se que em média foram utilizados 3,6 ciclos para os pacientes que engravidaram (1 a 9 ciclos) e 6,1 para os que não

engravidaram (3 a 18). Observou-se que 64,00% das gestações ocorreram até o terceiro ciclo. Em nosso estudo, observou-se que a maioria das gestações ocorreu no primeiro ciclo, e para as pacientes que engravidaram utilizou-se em média  $2,71 \pm 1,94$  ciclos, mediana 2. A taxa cumulativa de gravidez atingiu 84,09% no sexto ciclo.

A análise retrospectiva de 231 casais tratados com 762 ciclos de AIH revelou que 98,34% das gestações ocorreram nos primeiros quatro ciclos (FRIEDMAN et al, 1991). Esses autores recomendam que os casais que não engravidam nos primeiros quatro ciclos de AIH sejam encaminhados para outra técnica de reprodução assistida. Em nossa série, procuramos evitar o uso da técnica por mais de seis ciclos. Em apenas um caso o procedimento foi repetido nove vezes.

Em relação à utilização da técnica em ciclos menstruais espontâneos ou estimulados, um estudo comparativo, randomizado e cruzado analisou 56 casais com infertilidade sem causa aparente tratados pela técnica de AIH. As inseminações foram realizadas em ciclos espontâneos ou em ciclos estimulados com citrato de clomifeno e HCG. Os resultados mostraram maior taxa de gravidez nos pacientes com infertilidade sem causa aparente tratados com ciclos estimulados (ARICI et al, 1994). O mesmo foi observado por ABOUGHAR et al (1993). A taxa de gravidez para os casais com infertilidade sem causa aparente tratados por AIH utilizando ciclos estimulados foi de 34,70%, em comparação com a taxa de 8,90% para ciclos naturais. Por estas razões, em nossa série, utilizamos sempre ciclos estimulados.

Em relação ao número de espermatozóides a serem utilizados para inseminação, admite-se que não se deve indicar AIH quando se dispõe de menos de um milhão de espermatozóides capacitados (BELKER & COOK, 1987). Entretanto, alguns autores preconizam o uso mínimo de 10 milhões para AIH (IRIANNI et al, 1990).

Em nosso estudo, estabelecemos como valor mínimo dois milhões de espermatozóides capacitados. Ao analisarmos os resultados de gravidez em função do número de espermatozóides inseminados, não observamos diferença estatisticamente significativa entre as gestações do subgrupo que utilizou dois a cinco milhões em relação ao que utilizou cinco a 10 milhões de espermatozóides ( $P=0.5013$ ). Portanto, consideramos adequado indicar o tratamento para os pacientes cujos testes iniciais de capacitação demonstrem recuperação igual ou superior a dois milhões, visto ser esta uma técnica simples e que oferece resultados ao redor de 39,00%.

Alguns artifícios laboratoriais foram propostos para aumentar o número de espermatozóides móveis a partir de amostras oligoastenospérmicas; o uso de dois ejaculados consecutivos, obtidos com intervalo de uma a quatro horas, aumentou em duas ou três vezes o número total de espermatozóides móveis (TUR-KASPA et al, 1990). Da mesma forma, técnicas de capacitação mais simples, que dispensam o uso de equipamentos sofisticados, foram propostas para simplificar ainda mais o método (NEVES & FIGUEIREDO, 1993).

Algumas modificações da técnica de AIH foram propostas, como a inseminação intratubária por via vaginal sob controle ultra-sonográfico (ABDELMASSIH, 1991), que no tratamento do fator masculino apresentou

taxa de gravidez de 15,00%. A técnica de inseminação intraperitoneal direta e hiperestimulação ovariana foi utilizada na infertilidade devida ao fator masculino, com taxa de gravidez de 13,80% ou 4,90% por ciclo (BEN RHOUMA et al, 1994).

### **Fertilização in vitro**

A técnica de fertilização in vitro (FIV) para o tratamento do fator masculino vem sendo utilizada com resultados encorajadores.

Entre 1986 e 1990, 800 casais com infertilidade masculina foram tratados na França pela técnica de fertilização in vitro (FIV). A taxa de gestação clínica foi de 13,60% (FRENCH NATIONAL IVF REGISTRY, 1993). Estes dados foram coincidentes com os resultados da "Society for Assisted Reproductive Technology" em 1991 (SOCIETY FOR ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY, 1991), que apontaram 11,80% de gravidez utilizando FIV no fator masculino. Mais recentemente, a "American Fertility Society" publicou os resultados obtidos em 1992, nos Estados Unidos e Canadá, relatando 15,30% de sucesso para o fator masculino em mulheres com menos de 40 anos de idade, e 4,90% para mulheres acima de 40 anos (SOCIETY FOR ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY, 1994). Os dados registraram o nascimento de 67,30% de fetos únicos, 1,00% de natimortos e 31,70% de nascimentos múltiplos.

Em nossa série, observamos 100,00% de nascimentos únicos com a técnica de FIV, e 71,43% com a técnica de AIH.

No Brasil, descreveu-se 24,00% de gravidez por ciclo utilizando-se fertilização in vitro (FRANCO et al, 1991). Em nossa série, observamos 8,11% gestações por ciclo. A taxa de sucesso de 11,11% por nós observada aproxima-se à relatada pela "American Fertility Society". Não observamos diferença estatisticamente significante quando comparamos os resultados em relação ao número de espermatozóides utilizados no procedimento (entre um e dois milhões ou inferior a um milhão de espermatozóides capacitados). Parece-nos adequado indicar a técnica para todos os pacientes com recuperação inferior a dois milhões, já que não dispomos ainda de técnicas sofisticadas como micromanipulação de gametas, que poderiam melhorar a taxa de sucesso para os pacientes com número diminuto de espermatozóides.

### **Perspectivas futuras**

As perspectivas do tratamento do paciente infértil pela reprodução assistida são bastante promissoras. As técnicas de micromanipulação de óvulos e espermatozóides melhoraram substancialmente as taxas de sucesso.

Inicialmente, a técnica de "partial zona dissection" (PZD) foi empregada no tratamento do fator masculino, mas os resultados não foram superiores à FIV convencional (CALDERON et al, 1993). A seguir, a injeção subzonal de espermatozóides (SUZI: "subzonal sperm injection") melhorou os resultados (CATT et al, 1994), mas foi somente com a descrição da técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozóides - ICSI ("intracitoplasmatic

sperm injection") que observou-se uma grande melhoria das taxas de gravidez no tratamento do fator masculino severo (VISOSKI et al, 1995).

O uso da micromanipulação não invalida o uso da FIV convencional. Ao se modificar alguns aspectos laboratoriais da FIV, é possível obter-se gestações em até 48,00% por ciclo no tratamento de pacientes com oligoastenozoospermia severa (ORD et al, 1993).

Novos tratamentos vêm sendo descritos na área de reprodução assistida. A punção microcirúrgica do epidídimo para os pacientes com agenesia do canal deferente (SILBER, 1988) foi estendida para os doentes tratados pela vasoepididimoanastomose microcirúrgica sem sucesso (MARMAR et al, 1993). Atualmente durante o procedimento cirúrgico podem ser obtidos espermatozóides em número suficiente para uso imediato e para congelamento e posterior utilização em outros ciclos de FIV (OATES, 1995). A associação da punção microcirúrgica do epidídimo com a injeção intracitoplasmática dos espermatozóides elevou a taxa de sucesso para 35,70% por ciclo (TOURNAYE et al, 1994).

SCHOYSMAN et al (1993;1994) descreveram em seis pacientes com azoospermia o uso de espermatozóides obtidos diretamente no testículo, através de biópsia. Os espermatozóides foram inseminados em óvulos por micromanipulação, obtendo-se duas gestações clínicas. Outra série relata índices ainda maiores de gravidez, usando também espermatozóides colhidos diretamente no parênquima testicular (WITT et al, 1995). O desenvolvimento de embriões a partir da fertilização utilizando microinjeção de espermátides ou espermatogônias foi relatado com sucesso em coelhos, e mais recentemente em seres humanos (SOFIKITIS et al, 1995). Espermatogônias



foram isoladas a partir de biópsias do testículo de pacientes azoospermicos, e o material genético do núcleo foi microinjetado em óvulos, produzindo duas gestações.

Diante de tantos avanços científicos, é importante estabelecer o real papel do tratamento convencional para os pacientes com infertilidade primária. Não se justifica o uso de tratamentos empíricos, portanto sem base científica, que apresentam resultados duvidosos ou ineficazes.

De acordo com nossos resultados, a reprodução assistida deve ser o tratamento de escolha para os pacientes com infertilidade masculina primária.

## VI. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, infere-se que o tratamento por reprodução assistida, por apresentar maior eficácia, é o tratamento de escolha para os pacientes com infertilidade masculina primária portadores ou não de varicocele.

## **ANEXO I - TÉCNICA DE "SWIM-UP"**

Após a liquefação e análise inicial do sêmen, o mesmo é misturado com igual volume de meio de cultura Ham's F10 (cujo pH é 7,4 e a osmolaridade 280 mOsm) contendo 5,00% de albumina humana. Essa mistura é, a seguir, centrifugada a 300 G por 10 minutos. O sobrenadante assim obtido é descartado e o botão formado pelos espermatozóides é ressuspenso com 5 mL do mesmo meio de cultura para nova lavagem e centrifugação. A seguir, adiciona-se cuidadosamente sobre o botão de espermatozóides 1 mL do meio de cultura, colocando-se o tubo em estufa de CO<sub>2</sub> a 5,00% e a 37°C, para que ocorra migração dos espermatozóides móveis do botão para o meio. Após 60 minutos, o sobrenadante é recolhido e analisado quanto à presença e qualidade dos espermatozóides recuperados (concentração e motilidade). O sobrenadante contendo os espermatozóides capacitados é utilizado para inseminação ou para qualquer outra técnica de reprodução assistida.

## **ANEXO II - TÉCNICA DE GRADIENTE DESCONTÍNUO DE PERCOLL**

Inicialmente preparam-se as diversas diluições de Percoll. A solução de Percoll a 100,00% é preparada adicionando-se 6 mL do meio de cultura Ham's F10 concentrado 10 vezes com 75 mL de Percoll. O pH da solução é acertado para 7,35 com solução estéril de bicarbonato de sódio a 7,50% e a osmolaridade ajustada para 278 mOsm.

### Preparo do meio Ham's F10:

1 pacote de Ham's F10 (9,81 g) + 30 mL de água destilada  
15 mL de solução estreptomicina/penicilina (30.000 UI de cada antibiótico)  
308 mg de lactato de cálcio em 10 mL de água destilada  
Completar o volume para 1000 mL com água destilada  
Acertar o pH para 7,35 com solução de HCl 1,0 N/NaOH 1,0 N  
Acertar a osmolaridade para 280 mOsm

### Preparo do meio Ham's F10 concentrado 10 vezes:

1 pacote de Ham's F10 (9,81 g) + 30 mL de água destilada  
15 mL de solução estreptomicina/penicilina (30.000 UI de cada antibiótico)  
308 mg de lactato de cálcio em 10 mL de água destilada  
Completar o volume para 100 mL com água destilada  
O meio Ham's F10 normal e o concentrado 10 vezes são filtrados em membrana esterilizante de 0,22 micra\*.

---

\*Millex (R), Millipore, Brasil

### Preparo dos gradientes de Percoll:

	Ham's F10	Percoll 100,00%
GRADIENTE 90,00%	1,0 mL	9,0 mL
GRADIENTE 65,00%	3,5 mL	6,5 mL
GRADIENTE 35,00%	6,5 mL	3,5 mL

Para a realização da técnica de capacitação coloca-se em um tubo de centrífuga 1,5 mL de solução a 90,00%, 1,5 mL de solução a 65,00% e 1,5 mL do gradiente a 35,00% nesta ordem. Após a liquefação e análise do sêmen, o mesmo é colocado sobre a coluna preparada no tubo, sobre o gradiente de menor densidade (35,00%). A seguir, o tubo é centrifugado por 15 minutos a 300 G. Após a centrifugação, retira-se cuidadosamente com pipeta o sêmen restante e as duas primeiras camadas de Percoll (diluições de 35,00% e 65,00%). O gradiente restante (90,00%) contém os espermatozóides capacitados. Para recuperação dos mesmos, adiciona-se 5 mL de meio de cultura Ham's F10 à diluição restante, submetendo-se a mistura a nova centrifugação a 300 G por 15 minutos. O sobrenadante é desprezado e o botão formado é ressuspensão com 1 mL do meio Ham's F10. Retira-se uma alíquota para análise da concentração e motilidade dos espermatozóides recuperados. A solução contendo os espermatozóides capacitados é utilizada nas técnicas de reprodução assistida.

## **SUMMARY**

From 1990 to 1994, 331 male patients with primary infertility were treated at the Department of Urology of the University of Campinas Medical School - UNICAMP. The initial approach included conventional medical and surgical (varicocelectomy) regimens. Patients who did not achieve pregnancy with these modalities underwent assisted reproduction therapy.

The conventional treatment group included 258 patients treated medically (clomiphene citrate, 50 mg qd, or chorionic human gonadotropin, 2000 UI/week, associated with human menopausal gonadotropin, 1000 UI/week, administered for 12 months). A total of 4 patients achieved pregnancy (1,55%). A total of 73 patients underwent surgical (varicocelectomy) and medical treatment and were followed for 18 months. Pregnancy was achieved in 10 patients (13,70%). The pregnancy rate for conventional treatment was 4.23%.

A total of 317 patients did not achieve pregnancy with conventional treatment. Of these, 63 were submitted to assisted reproduction. Intrauterine insemination (AIH) was selected when initial capacitation could recover at least 2 million motile sperms (grades A and B). A total of 36 patients (57,14%) received 1 to 9 cycles of AIH, totalizing 131 cycles. Pregnancy was observed in 14 patients (38.89%) with a pregnancy rate of 10.69% per cycle. There was not statistically significant difference when the results were compared according to the number of spermatozoa inseminated (2 to 5 and 5 to 10 million sperms). In vitro

fertilization (IVF) was used when the initial capacitation could recover less than 2 million motile sperms. A total of 27 patients (42.86%) were treated with 37 cycles of IVF and 3 (11.11%) achieved pregnancy (pregnancy rate per cycle of 8.11%). There was not statistically significant difference when the results were compared according to the number of spermatozoa used for the in vitro fertilization (1 to 2 millions or lower than 1 million motile sperm). The total pregnancy rate for assisted reproduction was 26.98%.

In conclusion, assisted reproduction is the treatment of choice for male patients with primary infertility, with or without varicocele, in view of its higher efficacy rate compared to conventional treatment.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ABDELMASSIH, R., SALGUEIRO, L.L., TOGNOTTI, E., DOTTAVIANO, E.J., SOLLIA, S. , SAYÃO, M.A. Inseminação intratubária por via vaginal (VITI): uma alternativa viável para reprodução assistida. *Reprodução*, v. 6, n.3, p.135-138, 1991.
- 2 - ABOULGHAR, M.A., MANSOUR, R.T., SEROUR, G.I., AMIN, Y., ABBAS, A.M., SALAH, I.M. Ovarian superstimulation and intrauterine insemination for the treatment of unexplained infertility. *Fertil. Steril.*, v.60, n. 2, p. 303-306, 1993.
- 3 - ACOSTA, A.A., CHILLIK, C.F., BRUGO, S., ACKERMAN, S., SWANSON, R.J., PLEBAN, P., YUAN, J., HAQUE, D. In vitro fertilization and the male factor. *Urology*, v. 28, n.1, p. 1-14, 1986.
- 4 - ACOSTA, A.A., OEHNINGER, S., ERTUNC, H., PHILPUT, C. Possible role of pure human follicle-stimulating hormone in the treatment of severe male-factor infertility by assisted reproduction: preliminary report. *Fertil. Steril.*, v. 55, n. 6, p.1150-1156, 1991.
- 5 - ALLEN, N.C., HERBERT C.M., MAXON, W.S., ROGERS, B.J., DIAMOND, M.P., WENTS, A.C. Intrauterine insemination: a critical review. *Fertil. Steril.*, v.44, n. 3, p. 569-573, 1985.



- 6 - ARICI, A., BYRD, W., BRADSHAW, K., KUTTEH, W.H., MARSHBURN, P., CARR, B.R. Evaluation of clomiphene citrate and human chorionic gonadotropin treatment: a prospective, randomized, crossover study during intrauterine insemination cycles. *Fertil. Steril.*, v.61, n. 2, p. 314-318, 1994.
- 7 - AUSTIN, C.R. The "capacitation" of the mammalian sperm. *Nature*, v.170, p. 236-330, 1952.
- 8 - AUSTIN, C.R., SHORT, R.V. (eds). *Reproduction in Mammals. Book 1. Germ Cells and Fertilization*. London, Cambridge University Press, p. 103, 1980.
- 9 - BAR-CHAMA, N., GOLUBOFF, E., FISCH, H. Infection and pyospermia in male infertility. Is it really a problem? *Urol. Clin. North Am.*, v.21, n.3., p.469-475, 1994.
- 10 - BARTOOV, B., ELTES, F., LUNENFELD, E., HAR-EVEN, D., LEDERMAN, H., LUNENFELD, B. Sperm quality of subfertile males before and after the treatment with human follicle-stimulating hormone. *Fertil. Steril.*, v. 61, n.4, p. 727-734, 1994.
- 11 - BELKER, A.M., COOK, C.L. Sperm processing and intrauterine insemination for oligospermia. *Urol. Clin. North Am.*, v. 14, n. 3, p. 597-607, 1987.

- 12 - BEN RHOUMA, K.B., BEN MILED, E., BEN MARZOUK, A., RIHANI, M., BAKIR, M. Direct intraperitoneal insemination and controlled ovarian hyperstimulation in subfertile couples. *J.Assist.Reprod.Genet.*, v. 11, n. 4, p. 189-192, 1994.
- 13 - BENTIVOGLIO, G., MELICA, F., CRISTOFORONI, P. Folinic acid in the treatment of human male infertility. *Fertil. Steril.*, v. 60, n. 4, p. 698-701, 1993.
- 14 - BRANDEIS, V.T. , MANUEL, M.T. Effects of four methods of sperm preparation on the motile concentration, morphology, and acrosome status of recovered sperm from normal semen samples. *J.Assist.Reprod.Genet.*, v. 10, n.6, p. 409-416, 1993.
- 15 - CALDERON, G., VEIGA, A., PENELLA, J., BARRI, P.N. Two years of assisted fertilization by partial zona dissection in male factor infertility patients. *Fertil. Steril.*, v. 60, n. 1, p. 105-109, 1993.
- 16 - CATT, J., KRZYMINSKA, U., CSEHI, E., RYAN, J., PIKE, I., O'NEILL, C. Subzonal insertion of multiple sperm is a treatment for male factor infertility. *Fertil. Steril.*, v. 61, n. 1, p. 118-125, 1994.

- 17 - CHEHVAL, M.J., PURCELL, M.H. Deterioration of semen parameters over time in men with untreated varicocele: evidence of progressive testicular damage. *Fertil. Steril.*, v. 57, n. 1, p. 174-177, 1992.
- 18 - CLOSE, C.E., ROBERTS, P.L., BERGER, R.E. Cigarettes, alcohol and marijuana are related to pyospermia in infertile men. *J. Urol.*, Baltimore, v. 144, n. 4, p. 900-903, 1990.
- 19 - COMHAIRE, F. Treatment of idiopathic testicular failure with high-dose testosterone undecanoate: a double-blind study. *Fertil. Steril.*, v. 54, n. 4, p. 689-693, 1990.
- 20 - FISCH, H., LIPSHULTZ, L.I. Diagnosing male factors of infertility. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, v. 116, n. 4, p. 398-405, 1992.
- 21 - FRANCO Jr., J.G., BARUFFI, R., CAMARGO, C., CORNICELLI, J., MAURI, A.L., PETERSEN, C.G., CAMPOS, M.S., BOAS, E.V., URSOLINO, G.L. Taxas de gravidez no programa ambulatorial de fertilização in vitro e transferência de embriões da Maternidade Sinhá Junqueira. *Reprodução*, v.6, n. 3., p. 151-154, 1991.
- 22 - FRENCH NATIONAL IVF REGISTRY. Analysis of 1986 to 1990 data. FIVNAT (French In Vitro National). *Fertil. Steril.*, v.59, n. 3, p. 587-595, 1993.

- 23 - FRIEDMAN, A.J., JUNEAU-NORCROSS, M., SEDENSKI, B., ANDREWS, N., DORFMAN, J., CRAMER, D.W. Life table analysis of intrauterine insemination pregnancy rates for couples with cervical factor, male factor and idiopathic infertility. *Fertil. Steril.*, v. 55, n. 5, p. 1005-1007, 1991.
- 24 - GERRIS, J., COMHAIRE, F., HELLEMANS, P., PEETERS, K. e SCHOONJANS, F. Placebo-controlled trial of high-dose mesterolone treatment of idiopathic male infertility *Fertil. Steril.*, v. 55, n.3, p. 603-607, 1991.
- 25 - GILBAUGH, J.H. 3rd , LIPSHULTZ, L.I. Nonsurgical treatment of male infertility. An update. *Urol. Clin. North Am.*, v. 21, n. 3, p. 531-548, 1994.
- 26 - GONZALEZ, G.F., GARCIA-HJARLES, M., VELAZQUEZ, G., COYOTUPA, J. Seminal prolactin and its relationship to sperm motility in men. *Fertil. Steril.*, v. 51, n. 3, p. 498-503, 1989.
- 27 - GORELICK, J.I., GOLDSTEIN, M. Loss of fertility in men with varicocele. *Fertil. Steril.*, v. 59, n. 3, p. 613-616, 1993.

- 28 - GRIFFIN, J.E., WILSON, J.D. Disorders of testes and male reproductive tract. In: WILSON, J.D., FOSTER, D.W. (ed.) *Williams Textbook of Endocrinology*. 7a. ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1985, cap. 10, p. 259-311.
- 29 - HONIG, S.C., LIPSHULTZ, L.I., JAROW, J. Significant medical pathology uncovered by a comprehensive male infertility evaluation. *Fertil. Steril.*, v. 62, n. 5, p. 1028-1034, 1994.
- 30 - HOWARDS, S.S. Treatment of male infertility. *N. Eng. J. Med.*, v. 332, n. 5, p. 312-317, 1995.
- 31 - IRIANNI, F., ACOSTA, A.A., OEHNINGER, S., ACOSTA, M.R. Evaluation and preparation of spermatozoa for intrauterine insemination. Section B: Clinical Aspects. In: ACOSTA, A.A., SWANSON, R.J., ACKERMAN, S.B., KRUGER T.F., VAN ZYL, J.A., MENKVELD, R. (eds). *Human Spermatozoa in Assisted Reproduction*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1990, cap. 7, p. 265-279.
- 32 - IVANISSEVICH, O. Left varicocele due to reflux, experience with 4470 operative cases in 42 years. *J.Int.Coll.Surg.*, v.24, p.742, 1960.
- 33 - JAROW, J.P. Life-threatening conditions associated with male infertility. *Urol. Clin. N. Am.*, v. 21, n. 3, p. 409-415, 1994.

- 34 - JONES, H.W. Jr., ACOSTA, A.A., ANDREWS, M.C., GARCIA, J.E., JONES, G.S., MAYER, J., McDOWELL, J.S., ROSENWAKS, Z., SANDOW, B.A., VEECK, L.L., WILKES, C.A. Three years of in vitro fertilization at Norfolk. *Fertil. Steril.*, v. 42, n. 3, p. 826-840, 1984.
- 35 - KOTOULAS, I.G., CARDAMAKIS, E., MICHPOULOS, J., MITROPOULOS, D., DOUNIS, A. Tamoxifen treatment in male infertility. I. Effect on spermatozoa. *Fertil. Steril.*, v. 61, n. 5, p. 911-914, 1994.
- 36 - LAMBERT, H., OVERSTREET, J.W., MORALES, P., HANSON, F.W., YANAGIMACHI, R. Sperm capacitation in the human female reproductive tract. *Fertil. Steril.*, v. 43, n. 2, p. 325-330, 1985.
- 37 - MARMAR, J.L., CORSON, S.L., BATZER, F.R., GOCIAL, B., GO, K. Microsurgical aspiration of sperm from the epididymis: a mobile program. *J.Urol.*, Baltimore, v. 149, n. 2, p. 1368-1373, 1993.
- 38 - MARTINEZ, A.R., BERNARDUS, R.E., VOOHORST, F.J., VERMEIDEN, J.P., SCHOEMAKER, J. Intrauterine insemination does and clomiphene citrate does not improve fecundity in couples with infertility due to male or idiopathic factors: a prospective, randomized, controlled study. *Fertil. Steril.*, v. 53, n. 5, p. 847-853, 1990.

- 39 - MURRAY, M.J., MEACHAM, R.B. The effect of age on male reproductive function. *World J. Urol.*, v. 11, n. 2, p. 137-140, 1993.
- 40 - NAFTULIN, B.N., SAMUELS, S.J., HELLSTROM, W.J., LEWIS, E.L., OVERSTREET, J.W. Semen quality in varicocele patients is characterized by tapered sperm cells. *Fertil. Steril.*, v. 56, n. 1, p. 149-151, 1991.
- 41 - NEVES, P.A. O papel do laboratório no tratamento da infertilidade masculina. *J.Bras. Urol.*, v. 15, n. 3, p. 153-160, 1990.
- 42 - NEVES, P.A. Comparação entre duas técnicas de capacitação de espermatozóides para reprodução assistida. Dissertação de Mestrado, Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, 1991.
- 43 - NEVES, P.A. , FIGUEIREDO, J.B.L. Técnica alternativa de capacitação de espermatozóides em jarra de gás carbônico. *Reprodução*, v. 8, n. 2, p. 64-66, 1993.
- 44 - NEVES, P.A., LUIZ, F.A.B ., FAZANO, F.A.T., LUCIO, M.A., BURMEISTER, M.L.M.B., RODRIGUES NETTO Jr., N. Relação entre os parâmetros do espermograma e a recuperação de espermatozóides pela técnica de "swim-up". *J.Bras.Urol.*, v. 16, n. 1, p. 33-36, 1990.

- 45 - OATES, R. D., DUBAY, A., HARRIS, D., BURGESS, C. Efficacy of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using cryopreserved epididymal sperm: preliminary results. *J.Urol.*, Baltimore, v.153, n.4, Abstract 1073,1995.
- 46 - ORD, T., PATRIZIO, P., BALMACEDA, J.P., ASCH, R.H. Can severe male factor infertility be treated without micromanipulation? *Fertil. Steril.*, v. 60, n. 10, p. 110-115, 1993.
- 47 - PALOMO, A. Radical cure of varicocele by a new technique. *J. Urol.*, Baltimore, v. 61, n. 2, p. 604-606, 1949.
- 48 - RODRIGUES NETTO Jr, N. Varicocele: fact or fiction? In: PAULSON, J.D., NEGRO-VILAR, A., LUCENA, E., MARTINI, L. (ed.). *Andrology. Male Fertility and Sterility*. Orlando, Academic Press Inc., 1986, cap. 13, p. 233-252.
- 49 - SAKKAS, D., LACHAM, O., GIANAROLI, L., TROUNSON, A. Subzonal sperm microinjection in cases of severe male factor infertility and repeated in vitro fertilization failure. *Fertil.Steril*, v. 57, n. 6, p. 1279-1288, 1992.
- 50 - SANDLOW, J.I., DONOVAN, J.F. The infertile couple (letter). *N. Eng. J. Med.*, v. 330, n. 16, p. 1154-1155, 1994.



- 51 - SCHILL, W.B., PARSCH, E.M., MISKA, W. Inhibition of angiotensin-converting enzyme - a new concept of medical treatment of male infertility? *Fertil. Steril.*, v. 61, n. 6, p.1123-1128, 1994.
- 52 - SCHLEGEL, P.N. Micromanipulation of gametes for male factor infertility. *Urol. Clin. N. Am.*, v. 21, n. 3, p. 477-486, 1994.
- 53 - SCHOYSMAN, R., VANDERZWALMEN, P., NIJS, M., SEGAL, L., SEGAL-BERTIN, G., GEERTS, L., VAN ROOSEDAAL, E., SCHOYSMAN-DEBOECK, A. Pregnancy after fertilization with human testicular spermatozoa. *Lancet*, v. 42, p. 1236-1237, 1993.
- 54 - SCHOYSMAN, R., VANDERZWALMEN, P., NIJS, M., SEGAL, L., SEGAL-BERTIN, G., GEERTS, L., VAN ROOSEDAAL, E., SCHOYSMAN-DEBOECK, A. Pregnancy obtained with human testicular spermatozoa in an in vitro fertilization program. *J. Androl.*, v.15(suppl), p. 10S-13S, 1994.
- 55 - SIEGEL, M.S. The male fertility investigation and the role of the andrology laboratory. *J. Reprod. Med.*, v. 38, n. 5, p. 317-334, 1993.
- 56 - SIEGEL, S. *Estadística No Paramétrica*. Mexico, Ed. Trillas, 1975.
- 57 - SIGMAN, M. Assisted reproductive techniques and male infertility. *Urol. Clin. North Am.*, v. 21, n. 3, p. 505-515, 1994.

- 58 - SILBER, S.J., BALMACEDA, J., BORRERRO, C., ORD, T., ASCH, R.  
Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of the epididymis: a new treatment for congenital absence of the vas deferens. *Fertil. Steril.*, v. 50, n. 3, p. 525-529, 1988.
- 59 - SOCIETY FOR ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY, The American Fertility Society. Assisted reproductive technology in the United States and Canada: 1991 results from the Society for Assisted Reproductive Technology generated from the American Fertility Society Registry. *Fertil. Steril.*, v. 59, n. 5, p. 956-962, 1993.
- 60 - SOCIETY FOR ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY, The American Fertility Society. Assisted reproductive technology in the United States and Canada: 1992 results generated from the American Fertility Society/Society for Assisted Reproductive Technology Registry. *Fertil. Steril.*, v. 62, n. 6, p. 1121-1128, 1994.
- 61 - SOFIKITIS, N., MIYAGAWA, I., SHARLIP, I., HELLSTROM, W., MEKRAS, G., MASTELOU, E. Human pregnancies achieved by intra-ooplasmic injections of round spermatids (RS) nuclei isolated from testicular tissue of azoospermic men. *J.Urol.*, Baltimore, v. 153, n. 4, Abstract 368, 1995.

- 62 - SOKOL, R.Z., PETERSEN, G., STEINER, B.S., SWERDLOFF, R.S., BUSTILO, M. A controlled comparison of the efficacy of clomiphene citrate in male infertility. *Fertil. Steril.*, v.49, n. 4, p. 865-870, 1988.
- 63 - SOLER FERNANDEZ, J.M., CARAVACA, MAGARINOS, F., DOMINGUEZ BRAVO, C., MURILLO MIRAT, J., APARICIO PALOMINO, A., HERRERA PUERTO, J. Correlation of serum prolactin, sperm count and motility. Prevalence of hyperprolactinemia in the infertile male. *Arch. Esp. Urol.*, v. 43, n. 8. p. 891-895, 1990.
- 64 - THOMPSON, S.T. Prevention of male infertility: an update. *Urol. Clin. North Am.*, v. 21, n. 3, p. 365-376, 1994.
- 65 - TOURNAYE, H., DEVROEY, P., LIU, J., NAGY, Z., LISSENS, W., VAN STEIRTEGHEM, A. Microsurgical epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection: a new effective approach to infertility as a result of congenital bilateral absence of the vas deferens. *Fertil. Steril.*, v. 61, n. 6, p. 1045-1051, 1994.
- 66 - TRUMMER, H., GREIMEL, E., GRUBER, H., PUMMER, K. Stress and male fertility. *J.Urol.*, Baltimore, v. 153, n. 4, Abstract 133, 1995.

- 67 - TUR-KASPA, I., DUDKIEWICZ, A., CONFINO, E., GLEICHER, N. Pooled sequential ejaculates: a way to increase the total number of sperm from oligozoospermic men. *Fertil Steril.*, v. 54, n. 5, p. 906-909, 1990.
- 68 - VISOSKI, A., LIPSHULTZ, L.I., WUN, W.S., GRUNERT, G., VALDES, CECILIA, DUNN, R., CARSON, S.A., CISNEROS, P., LAMB, D.J. Intracytoplasmic insertion of sperm (ICSI) for severe male factor infertility. *J.Urol.*, Baltimore, v.153, n. 4, Abstract 379, 1995.
- 69 - WITT, M.A., BURT, R., MASSEY, J., ELSNER, C., TOLEDO, A, MITTCHELL-LEEF, D., KORT, H., TUCKERS, M. The results of direct intracytoplasmic sperm injection using testicular sperm. *J.Urol.*, Baltimore, v. 153, n. 4, Abstract 370, 1995.
- 70 - WITT, M.A., LIPSHULTZ, L.I. Varicocele: a progressive or static lesion? *Urology*, v. 42, n.5, p. 541-543, 1993.
- 71 - WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction*. Cambridge, Cambridge University Press, 1987.
- 72 - WORLD HEALTH ORGANIZATION: Task force on the diagnosis and treatment of infertility. Mesterolone and idiopathic male infertility: a double-blind study. *Int. J. Androl.*, v. 12, p. 254-264, 1989.

- 73 - WORLD HEALTH ORGANIZATION. A double-blind trial of clomiphene citrate for the treatment of idiopathic male infertility. *Int. J. Androl.*, v. 15, p. 299-307, 1992.
- 74- WORLD HEALTH ORGANIZATION. The influence of varicocele on parameters of fertility in a large group of men presenting to infertility clinics. *Fertil. Steril.*, v. 57, n. 6, p. 1289-1293, 1992.
- 75 - YAMAMOTO, M., TAKABA, H., HASHIMOTO, J., MIYAKE, K., MITSUYA, H. Successful treatment of oligospermic and azospermic men with alfa-blocker and beta-stimulator: new treatment for idiopathic male infertility. *Fertil. Steril.*, v. 46, n. 5, p. 1162-1164, 1986.
- 76 - YAMAMOTO, M., HATSUKI, H., MIYAKE, K. Comparison of the effectiveness of placebo and alfa-blocker therapy for the treatment of idiopathic oligozoospermia. *Fertil. Steril.*, v.63, n. 2, p. 369-400, 1995.

**As referências bibliográficas foram dispostas de acordo com a norma NBR 6023 - Referências Bibliográficas - ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas - 1989.**