



Nayara Cristina Amaral

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTACIONAL

Juiz de Fora
2018

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ- IMPLANTACIONAL

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Banca Examinadora da
Universidade Presidente Antônio
Carlos, como exigência parcial para
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Marcella M. Terra

Juiz de Fora
2018

Nayara Cristina Amaral

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ- IMPLANTACIONAL

BANCA EXAMINADORA

Prof. Anna Marcela Neves Dias

Bárbara Bruna Abreu de Castro

Prof. Dr. Marcella Martins Terra

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTACIONAL PRE-IMPLANTATION GENETIC DIAGNOSIS

NAYARA CRISTINA AMARAL¹, MARCELLA M. TERRA².

Resumo

Introdução: A biotecnologia é uma ciência que explora todos os métodos do conhecimento científico embasado nas pesquisas através do DNA. Entre esses métodos se encontra a Inseminação Artificial, que utiliza de recursos científicos para realizar a fecundação. A maternidade nos dias atuais está incorporada diretamente à fertilização, uma vez que, muitos casais desejam ter filhos e encontram algumas dificuldades. No intuito de resultados satisfatórios na questão da inseminação artificial, alguns cuidados e protocolos como o Diagnóstico Genético Pré-Implantacional, pode ser utilizado para identificar anomalias genéticas precocemente. **Objetivo:** Relatar sobre o Diagnóstico Genético Pré-Implantacional, suas especificidades científicas, desde o histórico da Inseminação Artificial até as questões éticas da biomedicina. **Métodos:** Foi feita através de revisão bibliográfica, onde a fundamentação teórica está embasada nos critérios de autores e obras coerentes ao tema, a partir da pesquisa de artigos em banco de dados, como Bireme, Scielo, Google acadêmico e Bireme. **Revisão Bibliográfica:** O Diagnóstico Genético Pré-Implantacional é realizado em embriões obtidos pela técnica de fertilização *in vitro* antes de sua implantação no útero, permitindo o diagnóstico de um grande número de doenças genéticas nestes embriões precocemente. O DGPI é um procedimento pelo qual se confirma a causa genética de determinada doença ou se avalia a presença ou ausência de mutações genéticas. **Considerações Finais:** Casais com histórico familiar e com uma grande chance de terem filhos com alterações genéticas podem recorrer a essa técnica.

Descritores: Inseminação Artificial. Diagnóstico Pré-Implantacional. Bioética.

Abstract

Introduction: Biotechnology is a science that exploits all methods of scientific knowledge based on DNA research. Among these methods is Artificial Insemination, which uses scientific resources to perform fertilization. Motherhood today is directly incorporated into fertilization, since many couples wish to have children and encounter some difficulties. In order to achieve satisfactory results in the question of artificial insemination, some care and protocols such as DGPI can be used to identify early genetic abnormalities. **Objective:** To report on the Pre-implantation Genetic Diagnosis, its scientific specificities, from the history of Artificial Insemination to questions ethical aspects of biomedicine. **Methods:** It was done through a bibliographic review, where the theoretical underpinning is based on the criteria of renowned authors and works coherent to the theme, from the research of articles in database, such as Bireme, Scielo, Google academic. **Bibliographical Review:** The

¹ Acadêmica do Curso de Biomedicina da Universidade Presidente Antônio Carlos – UNIPAC – Juiz de Fora –MG

² Biomédica, Professora do Curso de Biomedicina da Universidade Presidente Antônio Carlos – UNIPAC, doutorado

DGPI is performed in embryos obtained by the technique of in vitro fertilization before its implantation in the uterus, allowing the diagnosis of a large number of genetic diseases in these early embryos. The DGPI is a procedure by which the genetic cause of a disease is confirmed or the presence or absence of genetic mutations is evaluated. Conclusion: Couples with a family history and a high chance of having children with genetic alterations should resort to this technique.

Keywords: Artificial insemination. Pre-implantation Diagnosis.

Bioethics. Preimplantation genetic diagnosis.

INTRODUÇÃO

O Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (DGPI), é uma técnica que tem como objetivo aumentar as chances de uma gestação plena e saudável. Derivada dos procedimentos de reprodução humana assistida (RHA), a técnica consiste em um exame genético realizado em células embrionárias antes do mesmo ser transferido para o útero materno.¹ Como são retiradas apenas algumas células do embrião este não sofre prejuízos e segue seu desenvolvimento normalmente.²

Quem procura o procedimento do DGPI, são casais que já possuem uma criança afetada por uma doença genética, ou que possuem histórico familiar com alterações genéticas. Existem diferentes meios para aumentar as chances de gerar crianças saudáveis como a possibilidade de ser realizado o DGPI, como objetivo de diagnosticar nos embriões a existência de uma doença gênica ou cromossômica. As principais indicações para o uso do Diagnóstico Genético Pré-Implantacional no período de 1997-2007, foram a presença de aneuploidias (61%), doenças de herança monogênica (17%), anormalidades cromossômicas (16%), sexagem para evitar doenças ligadas ao cromossomo X (4%) e sexagem social (2%).³

Visto que os avanços da medicina são extraordinários e que muito se evoluiu na área da Inseminação Artificial, frequentemente, é possível detectar novos procedimentos e novas técnicas que vão de encontro às necessidades humanas no que diz respeito à maternidade.⁴ Existem casais com grandes dificuldades de se tornarem pais de maneira natural, e é por isso que o avanço na ciência, através de pesquisas e das novas técnicas, vem conseguindo realizar o sonho de muitas pessoas.⁵

Portanto o presente trabalho, teve como objetivo revisar e apresentar uma abordagem geral sobre a aplicação da técnica de DGPI, evidenciando as técnicas e

protocolos laboratoriais usadas no diagnóstico, bem como abordar as questões éticas e legais envolvidas.

MÉTODOS

Esta pesquisa referiu-se a um estudo de revisão bibliográfica e análise crítica de artigos pesquisados eletronicamente por meio de banco de dados Scielo , Pubmed, Bireme, periódicos capes, Lilacs, USP e Google acadêmico, dissertações e monografias, usando os seguintes descritores : Diagnóstico Genético; Doenças Genéticas; Pré-Implantacional e Preimplantation Genetics.

Foram selecionados trabalhos da literatura médica em inglês e português , publicados no período de 2000 a 2018. Foi feita a descrição do Diagnóstico Genético Pré-Implantacional, como a técnica é realizada, qual sua finalidade, indicações, principais métodos de análise, doenças diagnosticáveis e uma pesquisa na legislação e no conselho de medicina.

REVISÃO DE LITERATURA

CARACTERIZAÇÃO DO DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTACIONAL

O DGPI é um exame indicado para casais que apresentam alto risco de gerarem um filho com uma doença genética. Geralmente, quem procura esse procedimento são casais que já possuem uma criança afetada por uma doença genética, ou tem histórico familiar. O Diagnóstico Genético Pré- Implantacional (DGPI) também é indicado para casais que recorrem à fertilização *in vitro* por problemas de fertilidade de um dos indivíduos ou no caso de mulheres com idade materna avançada, que apresentam um maior risco de gerar uma criança com alterações genéticas, principalmente aquelas derivadas das trissomias.⁶

Nos dias de hoje , estudos tem demonstrado um aumento em casos de aborto espontâneo por deficiências genéticas, relacionadas principalmente a idade materna avançada, uma vez que aumentou o número de mulheres que optam pela gestação tardia, devido a busca pela carreira profissional. Portanto houve um

aumento na busca por metodologias que possam diagnosticar essas alterações genéticas ainda durante a gestação.⁷ Nesse contexto uma técnica que vem sendo utilizada com o objetivo de aumentar as chances de uma gestação saudável é o Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (DGPI).⁸

Essa técnica é considerada menos invasiva em comparação a algumas outras técnicas tradicionais diagnosticadas nos exames de pré-natal, como por exemplo, a amniocentese (retirada das células do líquido amniótico) e a cordocentese (retirada das células do cordão umbilical).⁹

O primeiro procedimento de DGPI foi realizado na década de 1990 com sucesso. O objetivo do DGPI consistia em evitar o nascimento de crianças com doenças ligadas ao cromossomo X, e é realizado em diversas clínicas por todo mundo. Já no período compreendido entre os anos de 1997 e 2007, foram realizados 26.609 diagnósticos em âmbito mundial, dos quais 6.708 foram considerados inviáveis ou com diagnóstico inconclusivo e 19.901 embriões foram transferidos gerando 5.187 gestações e quase essa totalidade em nascimentos, ou seja, 5.135 crianças.^{10,11}

APLICAÇÕES DA TÉCNICA

As principais aplicações da técnica são o diagnóstico de alterações estruturais e numéricas que ocorrem no cariótipo dos cromossomos, onde as translocações cromossômicas presentes nos pais podem levar a geração de embriões com cromossomos não balanceados. Estes embriões muitas vezes são incapazes de se fixar no útero ou dão origem a fetos que não se desenvolvem normalmente, sendo uma importante causa de infertilidade e abortos,¹² diagnóstico de aneuploidias (ganho ou perda de cromossomos) que é a principal alteração genética na qual o DGPI vem sendo indicado. São exemplos destas anormalidades a Síndrome de Down (trissomia do cromossomo 21) e a Síndrome de Edwards (trissomia do cromossomo 18).^{13,14}

Biópsia embrionária que consiste na retirada de uma ou mais células do embrião, em laboratório, e é encaminhado para análise, antes mesmo de ele ser transferido para o útero. Este procedimento não afeta o futuro bebê, e o resultado pode ser obtido em poucas horas.^{15,16} Os embriões com alterações não devem ser transferidos para evitar algum prejuízo no desenvolvimento.¹⁷ O procedimento pode

ser utilizado em mulheres com mais de 40 anos, pois nessa idade, as chances de gerar um filho com problemas genéticos são maiores, ao passo que nas mulheres mais novas, até 35 anos, são mais raros.^{18,19}

Além de ser utilizada para minimizar as possibilidades de anomalias no bebê, esta técnica também aumenta a probabilidade de resultados positivos na Fertilização in vitro (FIV), pois a maioria dos embriões com anomalias não chega a implantar ou termina em aborto no início da gestação.²⁰

INDICAÇÕES DA TÉCNICA

Essas técnicas de diagnóstico devem ser realizadas nos casos de casais que apresentam grande risco de gerarem uma criança com alguma doença genética, uma vez que esses diagnósticos podem apresentar resultados falsos positivos e falsos negativos.²¹

O DGPI está indicado nas seguintes situações apresentadas no Quadro 1 :

Principais indicações de uso
Casais com alterações no cariótipo que apresentam risco elevado de alteração cromossômica
Idade materna avançada
História familiar de doença genéticas
Antecedente de filho com alteração genética
Tipagem do sistema HLA do embrião, com o objetivo de seleção de embriões HLA- compatíveis com algum filho do casal já afetado por doença cujo tratamento necessite de células tronco e de órgãos.

Quadro 1: Indicações do DGPI. Fonte: Sociedade Brasileira de Reprodução assistida

LEGISLAÇÃO VIGENTE

O Brasil ainda não tem uma legislação que regule o uso do Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (DGPI) e cabe ao Conselho Federal de Medicina direcionar a conduta correta para exercer tal procedimento.²² O Conselho Federal de Medicina (CFM) com as suas atribuições conferidas pela Lei nº 3.268, de 30 de setembro de 1957, que alterada pela Lei nº 11.000, de 15 de dezembro de 2004, regulamentada pelo Decreto nº 44.045, de 19 de julho de 1958, e Decreto nº 6.821, de 14 de abril de 2009, mostra que a importância da infertilidade humana como um problema de saúde, como implicações médicas e psicológicas, mostra que com o avanço do conhecimento científico já se é permitido solucionar vários casos de problemas de reprodução humana, inclusive associado à genotipagem do antígeno leucocitário humano (HLA) para obtenção de células-tronco. Porém é proibido o uso desta técnica para sexagem de embriões, visando a escolha do sexo da criança para fins não médicos.^{23,24}

Esta lei resolve adotar as normas éticas para a utilização das técnicas de reprodução assistida, anexas à presente resolução, e revoga a Resolução CFM nº 1.957/10.

Segundo o anexo VI da lei, as técnicas de Reprodução Assistida (RA) podem ser utilizadas acopladas à seleção de embriões submetidos a diagnóstico de alterações genéticas causadoras de doenças e também para genotipagem do sistema HLA do embrião, com o intuito de seleção de embriões compatíveis com algum filho(a) do casal já afetado por doença como modalidade de tratamento efetivo de transplante de células-tronco ou de órgãos. O tempo máximo de desenvolvimento de embriões *in vitro* será de 14 dias.²⁴

TÉCNICAS UTILIZADAS:

A hibridização Fluorescente *in situ*, conhecida como FISH (Fluorescence In Situ Hybridization), é uma técnica de primeira geração que detecta a presença ou ausência de determinadas seqüências de DNA por marcação fluorescente, realizada em célula de embriões com três dias de desenvolvimento. Com essa técnica é possível analisar apenas os cromossomos 13,14,15,16,17,18,20,21,22, X e Y. Essa técnica hoje se encontra em desuso.²⁵

A array-CGH (Hibridização Genômica Comparativa), é uma técnica de segunda geração que analisa geneticamente os 24 cromossomos entre seis e dez células do embrião no seu 5º dia do desenvolvimento, garante ótimos resultados pois detecta muitas anomalias por analisar todos os cromossomos.^{25,26}

A-SNP-APa (array single nucleotide polymorphism) é uma técnica de terceira geração , feita através da amostra de sangue ou saliva dos pais biológico que serve para testar, interpretar e comparar os resultado obtidos a partir células do futuro embrião. A combinação desses dois resultados auxilia no diagnóstico dos possíveis erros de análises que podem ocorrer nas técnicas de primeira e segunda geração. Essa técnica ainda permite identificar se o problema tem origem paterna ou materna, garante menor chance de resultados falsos negativos e falsos positivos, e detecta ainda os polimorfismos (pequenas variações no material genético) no embrião. No Brasil ainda não contamos com técnicas de última geração, então os exames devem ser coletados e levados para fora, para que possam ser analisados.^{25,27}

O NGS (Next Generation Sequencing), é um exame que investiga anomalias no número cromossômico, aneuploidias, mutações em genes e variações no DNA mitocondrial que é herdado exclusivamente da mãe com extrema precisão. É uma técnica revolucionária no diagnóstico em áreas em que a quantidade de tecido disponível é muito limitada.^{25,28}

Ainda se pode investigar uma doença específica que esteja presente no gene de um dos membros do casal. E uma outra possibilidade é analisar e escolher um embrião que seja mais compatível com um filho como forma de tratamento, esse procedimento é permitido pelo Conselho Federal de Medicina.²⁹

O DGPI é uma técnica bastante estendida pelo mundo e sua grande eficiência tem permitido a muitos casais terem filhos saudáveis. Por isso, espera-se que a procura por esta técnica aumente.^{30,31} É preciso também que o assunto seja mais discutido, permitindo que a população obtenha informação e possa formar uma opinião crítica sobre o uso dessa técnica. Isso é importante para que se discutam as questões éticas envolvidas na técnica, que os pesquisadores atuem em conjunto na criação de leis que deixem claras as medidas a serem utilizadas e o que fazer quando a aplicação dessa técnica for viável.³² As questões éticas mais relevantes associadas ao DGPI, prendem-se ao fato de haver lugar à destruição de embriões produzidos “*in vitro*”, em que sejam detectadas anomalias genéticas associadas à

expressão de doenças ou deficiências graves durante o seu posterior desenvolvimento fetal ou pós-natal precoce ou tardio, podendo transferidos para o útero ou descartados, e também essas questões têm a ver com a necessidade de ser produzido um número elevado de embriões para serem estudados e selecionados, o que pode levar a um excesso de embriões disponíveis para transferir, por não serem portadores de anomalia genética.³²⁻³⁴

Neste caso, os embriões em excesso podem ser congelados para transferência num outro ciclo, ou serem doados para banco de gametas. Segundo o Conselho Nacional de Ética para as Ciências da Vida (CNECV) “todo o embrião humano tem direito à vida e ao desenvolvimento, no corroborar do princípio universal de que todo o existente requer existir”, em conformidade com o ponto 19 do seu parecer nº 44 de 2004, sobre procriação medicamente assistida.³⁵

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a realização deste trabalho foi possível perceber de acordo com as pesquisas realizadas, que com o método estudado é possível verificar a presença de alterações genéticas em embriões proveniente de reprodução artificial, através do Diagnóstico Genético Pré-Implantacional, permitindo que se identifique doenças genéticas antes mesmo de o embrião ser implantado, e após várias avaliações os embriões inviáveis serão descartados de acordo com a resolução n.º 2. 2.013/2013 do Conselho Federal de Medicina (CFM).

Mesmo com profundo conhecimento das técnicas e pesquisas realizadas, os possíveis resultados dos exames devem ser claros e objetivos sendo imprescindível conscientizar os pais que mesmo tendo como finalidade a geração de uma vida saudável, essas técnicas podem levar muitos possíveis bebês a morte. Em muitos casos realmente eles não teriam chance de sobreviver, e em outros sofreriam muito. Em alguns casos, porém, como dos diagnosticados com trissomia do cromossomo 21, em que poderiam ter uma vida normal, alguns casais optam por não implantar, e por fim são descartados por falta de instrução, e podem recorrer ao aconselhamento genético feito por profissionais treinados.

REFERÊNCIAS

Zatz M. Genética: escolhas que nossos avôs não faziam. 1a ed. São Paulo: Globo; 2011.

Collins SL, Impey L. Prenatal diagnosis: Types and techniques. Early Human Development . 2012; 88(1): 3-8.

Kuliev A, Rechitsy S, Kaspas T, Verlinsky Y. Preimplantation Genetics: Improving Access to Stem Cell Therapy. Annals of the New York Academy Science. 2005; 1054: 223–27

LathiRB., Behr B. Pregnancy after trophectoderm biopsy of frozen–thawed blastocyst. FertilSteril. 2009; 91(5):1938-40

Leite EO. Procriações artificiais e o Direito: aspectos médicos, religiosos, psicológicos, éticos e jurídicos. São Paulo: Revista dos Tribunais, 2005.

Meirelles JML. A Vida Humana Embrionária e Sua Proteção Jurídica. Rio de Janeiro: Renovar, 2000.

Scalquette ACS. Estatuto da reprodução assistida. Tese (Doutorado). São Paulo : Faculdade de Direito da Universidade de São Paulo;2009

Swason A, Strawn E, Lau E, Bick D. Preimplantation genetic diagnosis: technology and clinical applications. Wisconsin Medical Journal. 2007; 106(3): 145-51.

Vannest E, Melotte C, Voet T, Robberecht C, Debrock S, Pexsters A, et al. PGD for a complex chromosomal rearrangement by Array comparative genomic hybridization. Human Reproduction. Oxford . 2011; 26(4): 941–949.

Kanavaki E., Traeger SJ. Preimplantation genetic diagnosis in clinical practice. J Med Genet. 2002; 39, p.6-11.

Correia AN. Diagnóstico Genético Pré-Implantacional.2015.35. [Monografia].Paraná :Universidade Federal do Paraná;2015

Sgreccia E. Reprodução assistida: questões de bioética e de ética da política. Documento eletrônico. {online}. Disponível na Internet via [www.url:<http://www.pucsp.br/fecultura/textos/bio_ciencias/19_reproducao.html>](http://www.pucsp.br/fecultura/textos/bio_ciencias/19_reproducao.html) Acesso em 19 de novembro de 2018. Citado em 2015 maio 05

Mendes MC, Costa APP. Diagnóstico genético pré-implantacional: prevenção, tratamento de doenças genéticas e aspectos ético-legais. Ciências Médicas e Biológicas.2010; 12(3): 374-79

Brasil, Brasília. Lei nº 3.268, de 06 de janeiro de 2011. Considera que o avanço do conhecimento científico permite solucionar vários dos casos de reprodução humana; 2015; Seção I: 79

Diniz MH. O estado atual do biodireito. 8 ed. aum. e atual. São Paulo: Saraiva, 2011.

Haering B. Medicina e manipulação. São Paulo: Paulinas, 2007.

Lathi RB.; Behr B. Pregnancy after trophoctoderm biopsy of frozen– thawed blastocyst. Fertil. Steril.2009 New York; 91(5): 1938–40 .

Pompeu TN, Verzeletti FB. Diagnóstico Genético Pré-Implantacional e sua aplicação na reprodução assistida. Reprodução e Climatério 2015;30(2): 83-89.

Pizzato BR, Pacheco CMR, et al. Revisão das técnicas de biologia molecular aplicadas ao Diagnóstico Genético Pré- Implantacional e uma reflexão ética. Reprodução e Climatério 2017; 32(1): 7-14

Aquino AC, Martinhago ACN, Martinhago CD. Biópsia embrionária: qual a melhor escolha?. *Reprodução e Climatério* 2013; 28(3): 122-29

Oliveira TV, Freitas GC, Francisco LS. Diagnóstico Genético Pré-Implantacional e seu valor prognostico em tecnologia de reprodução assistida. *Femina* 2009; 37(12). 650-54.

Bertollo EMG, Castro R, et. al. O processo de aconselhamento genético. *Arq. Ciência Saúde* 2014; 20(1). 30-6

Magalhães JSB. A importância do Diagnóstico Genético Pré- Implantacional em embriões para fertilização In vitro. *Rev. de trabalhos acadêmicos da FAM* 2017; 2(1). 1-35

Telles NO. Diagnóstico Genético Pré –Implantacional: Aspectos técnicos e Considerações éticas. *Acta Medica Portuguesa* 2011; 24(6): 987-96

Rodrigues MT, Lopes PF. Diagnóstico Genetico Pré- Implantacional: Reflexão a luz da discriminação Genética. *Rev. Brasileira de direito e justiça* 2016; 10(35): 127-47

Prajante FM, Busso NE. O uso do Diagnóstico Genético Pré- Implantacional em pacientes com aborto de repetição: revisão do uso da técnica CGH. *Reprodução e Climatério* 2013; 28(1): 36-40

Oliveira AM, Carvalho BR, Almeida MN, et. al. Avaliação genética pré implantacional: uma visão geral. *Brasilia med* 2010; 47(4).

Rebouças MN, Oliveira FR, Amaral WN. Preimplantation genetic diagnosis. *Reprodução e climatério* 2017; 22: 60-62

Junior WP. Diagnóstico Pré-natal. *Clinica e Saúde coletiva* 2002; 7(1): 139-57

Silvestre M. Sex selection and assisted reproduction technologies. Lex medicinal 2012; 9(17): 157-63

Coelho BK. Diagnóstico Genético Pré- Implantacional. Rev. Uniplac 2018; 6(1): 1-10

Geraedts JPM. Genetic Diagnosis Preimplatation. Clinical Genetics 2009; 76(4):315-25