



CENTRO DE GENÉTICA DA REPRODUÇÃO

PROF. ALBERTO BARROS

7ª Edição (2020)
3.000 exemplares
Design: Garra Publicidade S.A.



Av. do Bessa, 240 · 1º Dto Frente
4100-012 Porto
Tel 226 007 517
geral@cgrabarro.pt
secretariado@cgrabarro.pt

Tabela geral de preços em
www.cgrabarro.pt

*Primeira Clínica, na área
da Procriação Medicamente Assistida,
certificada em Portugal (2006)*



ÍNDICE

Apresentação	5
Introdução	7
Fecundação In Vivo	10
O estudo do casal infértil	14
Impacto psicológico da infertilidade	17
Orientação e acompanhamento da terapêutica	18
Alternativas terapêuticas	19
Indução da ovulação	19
Inseminação Artificial Intrauterina	20
Inseminação com espermatozóides de dador	21
Fertilização In Vitro: indicações	21
Microinjecção Intracitoplasmática: indicações	22
Azoospermia	22
Biopsia testicular	22
Lavagem dos espermatozóides (VIH, hepatite B e C)	25
Fertilização In Vitro: metodologia	25
Microinjecção Intracitoplasmática: metodologia	25
Eclosão assistida (assisted hatching)	30
Transferência embrionária	30
Diagnóstico de gravidez	31
Criopreservação de embriões	32
Time-Lapse (EmbryoScope)	36
Doação de espermatozóides, ovócitos e embriões	37
Beneficiários das técnicas de PMA	40
Teste Genético Pré-Implantação	41
Comentário final	45



Alberto Barros - especialista em Genética Médica pela Ordem dos Médicos, Professor Catedrático e Director do Serviço de Genética da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto -, Fundador e Director do Centro de Genética da Reprodução, foi pioneiro em Portugal da Inseminação Artificial Intrauterina, com preparação in vitro dos espermatozóides (Maio de 1985), da criopreservação do esperma em azoto líquido (Outubro de 1985), da Inseminação Artificial Intrauterina com espermatozóides de dador (Outubro de 1985) e da fertilização in vitro com Microinjecção Intracitoplasmática (Junho de 1994).

Director e responsável pela equipa que obteve as primeiras gravidezes mundiais em duas situações: imobilidade total dos espermatozóides (através da microinjecção intracitoplasmática, 1996) e paraplegia com ausência de ejaculação devido a traumatismo da espinal-medula com arma de fogo (microinjecção intracitoplasmática após colheita do esperma por electroejaculação endorectal, 1997).

Director e responsável pela equipa que, em Portugal, alcançou a primeira gravidez com espermatozóides obtidos por aspiração ao nível dos epidídimos (1994), com espermatozóides e espermátídeos obtidos directamente do testículo (1996 e 1997, respectivamente), introduziu o Diagnóstico Genético Pré-Implantação (1998) e a lavagem e preparação dos espermatozóides nos casos de homens portadores do vírus da imunodeficiência humana (VIH positivos), hepatite B ou hepatite C (1999).

Membro do Grupo de Trabalho para a Regulamentação da Lei sobre Procriação Medicamente Assistida (Dezembro de 2006).

Presidente da Comissão de Regulamentação da Lei nº 17/2016, de 20 de Junho (Procriação Medicamente Assistida).

Presidente da Comissão de Regulamentação da Lei nº 25/2016, de 22 de Agosto (Gestação de Substituição).

Membro do Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida (CNPMA), designado pelos Ministérios da Saúde e da Ciência: I Mandato (Maio de 2007 a Dezembro de 2012), II Mandato (Dezembro de 2012 a Fevereiro de 2018), III Mandato (desde Fevereiro de 2018).



INTRODUÇÃO

A incapacidade reprodutiva de um casal, contrariando o seu “instinto procriativo” e impossibilitando a sua continuidade biológica, tem sido uma perspectiva, muitas vezes concretizada, que tem acompanhado todas as gerações desde os primórdios da História. Ao longo desta, se a fertilidade sempre foi fundamental para a sobrevivência das populações e, por isso, socialmente aceite e encorajada, a infertilidade era, pelo contrário, considerada como uma doença vergonhosa, até mesmo uma maldição dos deuses, que era necessário conjurar com rituais religiosos e mágicos, sendo a mulher quem, em regra, era inculpada e muitas vezes desprezada, odiada e maltratada pela circunstância de não ter filhos.

A infertilidade conjugal, definível como a ausência de gravidez após um ano de actividade sexual regular sem qualquer prática contraceptiva, é uma realidade crescente, envolvendo cerca de 15% dos casais em idade procriativa.

Do ponto de vista médico, a infertilidade é uma situação única, na qual cada membro do casal integra uma “unidade infértil”, e é esta unidade que deve ser estudada e tratada. Na realidade, os factores de causa masculina e feminina distribuem-se em partes semelhantes, do que resulta que o diagnóstico de uma eventual causa da infertilidade num dos membros do casal não deve excluir o estudo pormenorizado do outro.

O estudo do casal infértil tem como objectivos fundamentais identificar estes factores de infertilidade, estabelecer um prognóstico e definir a metodologia terapêutica mais adequada, devendo os casais ser informados de que, apesar dos enormes avanços científicos e técnicos, não é possível diagnosticar a causa em cerca de 10% dos casos, permanecendo um longo e árduo caminho para que os múltiplos factores que podem resultar em infertilidade sejam integralmente conhecidos, compreendidos e vencidos.

O espectacular avanço das ciências médicas tem permitido que muito se conheça sobre o complexo processo da reprodução, embora a esperança, o entusiasmo e o aplauso despertados por esta evolução sejam muitas vezes seguidos de uma grande decepção e tristeza, envolvendo doentes e médicos, perante o insucesso da terapêutica realizada, mesmo após a aplicação de toda a panóplia tecnológica.

Todavia, é indiscutível que existe uma capacidade de intervenção progressivamente maior, que veio permitir criar legítimas expectativas de gravidez em muitos casais que, anteriormente, só teriam uma solução reprodutiva no domínio do “milagre biológico”.

A noção inequívoca de que a excelência desta intervenção deve ser uma preocupação constante tem sido materializada pelo investimento no equipamento, investigação e qualificação dos colaboradores que integram o Centro de Genética da Reprodução (CGR), o que permitiu o pioneirismo em Portugal de algumas das técnicas mais desenvolvidas e tem contribuído para a publicação frequente de trabalhos de investigação em revistas científicas internacionais.

O objectivo deste pequeno guia é fazer um percurso simples, objectivo e rigoroso, sobre alguns aspectos de maior relevo da reprodução humana e das respectivas técnicas de procriação medicamente assistida (PMA), mas pedindo aos beneficiários destas técnicas que nunca se esqueçam que a sua situação concreta pode distinguir-se significativamente da abordagem genérica aqui desenvolvida e que esta abordagem reflecte uma posição pessoal, e de grupo, o que significa que outras metodologias podem ser igualmente correctas.



FECUNDAÇÃO IN VIVO

A fecundação é o processo pelo qual o espermatozóide e o ovócito se unem, possibilitando a formação de um ovo (zigoto) e de um embrião. Esta união ocorre nas trompas de Falópio, assim como as primeiras divisões celulares, chegando o embrião ao útero cerca de 5 dias após a fecundação para a respectiva implantação (nidação). Esta capacidade do embrião penetrar no endométrio ocorrerá por volta do 7º dia do desenvolvimento embrionário.

Entre muitos outros factores, para que a fecundação e a gravidez aconteçam é necessário que:

- Em cada mês, um dos ovários desenvolva um folículo (uma “bolinha” de líquido que vai crescendo e que, ao atingir cerca de 17 mm de diâmetro, conterá um ovócito maduro) e ocorra a ovulação (rotura do folículo e passagem do ovócito para a trompa).
- A produção de espermatozóides pelos testículos seja normal ou próxima dos valores normais.

É interessantíssima a constatação da enorme diferença relativamente à produção de gametas entre os dois sexos: para que a capacidade reprodutiva seja normal, para a mulher é suficiente que um dos ovários produza um ovócito maduro por mês, enquanto que para o homem é necessário que os testículos produzam milhões de espermatozóides... por dia.

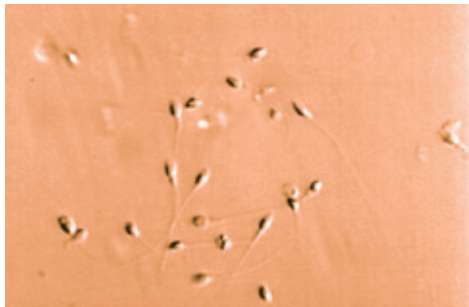
Entre os vários parâmetros a avaliar no estudo do esperma continuam a ser preponderantes o número, a morfologia e a motilidade dos espermatozóides. Os valores mínimos de referência são: 15 milhões de espermatozóides por ml, 4% de morfologia normal e 25% de motilidade progressiva rápida.



OVÓCITO ENVOLVIDO POR CÉLULAS FOLICULARES



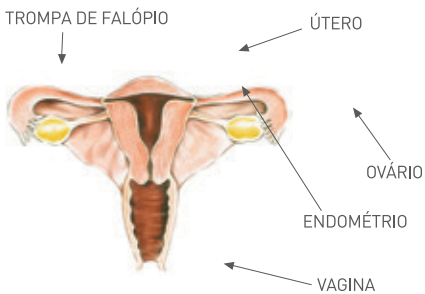
OVÓCITO: 1º GLÓBULO POLAR (A). ZONA PELÚCIDA (B).



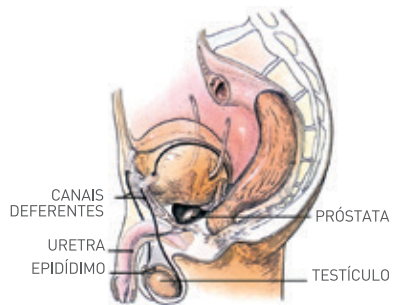
ESPERMATOZÓIDES

Na altura do nascimento, cada ovário poderá possuir um milhão de folículos primordiais, contendo ovócitos imaturos, mas, a partir da puberdade e até ao fim da vida reprodutiva (menopausa), apenas 400-500 ovócitos atingirão a sua maturidade ovulatória. O homem nasce com células estaminais germinativas nos testículos e começa a produzir espermatozóides a partir da puberdade. Esta produção mantém-se durante toda a vida devido à presença das células estaminais, muito embora com uma tendência para a diminuição da concentração, morfologia normal e motilidade dos espermatozóides a partir da 5ª- 6ª década da vida.

- A relação sexual aconteça em "período fértil".
- As trompas estejam permeáveis à passagem dos espermatozóides e também funcionalmente normais para a captação do ovócito e para "transportarem" o embrião para a cavidade uterina.
- O ovócito e o espermatozóide sejam estrutural e funcionalmente normais de modo a possibilitar a fecundação e a evolução embrionária (a maioria dos embriões terá anomalias cromossômicas pelo que, em regra, a selecção natural inviabiliza o seu desenvolvimento).
- O endométrio esteja receptivo à implantação do embrião.

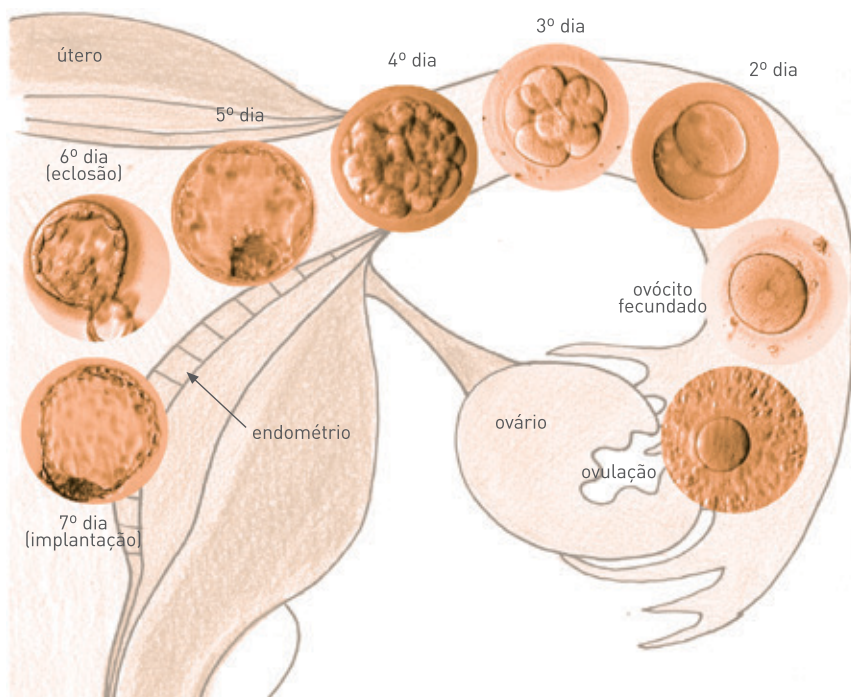


APARELHO GENITAL FEMININO



APARELHO GENITAL MASCULINO

A riqueza e a complexidade dos mecanismos reprodutivos são tais que, mesmo nos casais em que tudo está aparentemente bem, em cada mês, a probabilidade de uma mulher até aos 30 anos alcançar uma gravidez de forma natural ronda os 25%. Esta probabilidade vai diminuindo à medida que a idade da mulher avança, não ultrapassando 10% aos 40 anos e 1% aos 45 anos.



EVOLUÇÃO DO EMBRIÃO AO LONGO DA TROMPA ATÉ À IMPLANTAÇÃO

Estes valores médios evidenciam a importância da “idade reprodutiva” da mulher, contrariando a ideia de que a “juventude” que acompanha cada vez mais o avanço da “idade cronológica” também esteja presente com o avançar da “idade reprodutiva”.

No essencial, a “idade reprodutiva” da mulher corresponde à “idade ovocitária”. Isto porque, de forma acentuadamente progressiva (sobretudo a partir dos 38-40 anos), os ovócitos terão anomalias cromossômicas de número (aneuploidias), que, no caso de fecundação, darão origem a embriões anormais. Na grande maioria das situações, por mecanismos de selecção natural, estes embriões anormais sofrem uma paragem de desenvolvimento, que poderá ser imperceptível (por ser muito precoce) ou manifestar-se clinicamente como abortamento espontâneo.

O ESTUDO DO CASAL INFÉRTIL

Os factores de infertilidade, isto é, tudo aquilo que dá origem ou contribui para a diminuição ou ausência da capacidade reprodutiva, são muito diversos e com uma incidência que varia de acordo com os diferentes indivíduos e populações. Todavia, de uma forma global, poderemos apontar como mais significativos (numa sequência arbitrária): ausência de ovulação; obstrução das trompas; endometriose (presença de focos do epitélio que reveste a cavidade uterina (endométrio) fora da sua localização normal, como nos ovários, trompas, parede intestinal, ...); alterações do número, morfologia ou motilidade dos espermatozóides; patologia endócrina (aumento da prolactina ou de androgénios, doenças da tiróide, ...); factores imunológicos; causas genéticas; hábitos alcoólicos ou tabágicos; estupefacientes; radiações ionizantes; doenças víricas e venéreas; ...

Devido à frequência e consequências do seu uso, é importante assinalar que é generalizadamente entendido que o deixar de fumar deve fazer parte do tratamento da infertilidade: o fumo do tabaco contém centenas de substâncias, incluindo a nicotina, monóxido de carbono e mutagénicos, existindo evidências muito fortes de que estas substâncias afectam negativamente todos os elementos da fertilidade, incluindo o desenvolvimento folicular e a ovulação, a produção e a qualidade estrutural dos ovócitos e dos espermatozóides, a fertilização e o desenvolvimento embrionário e fetal (é de realçar que o consumo de tabaco durante a gravidez é um importante factor de risco de malformações congénitas).

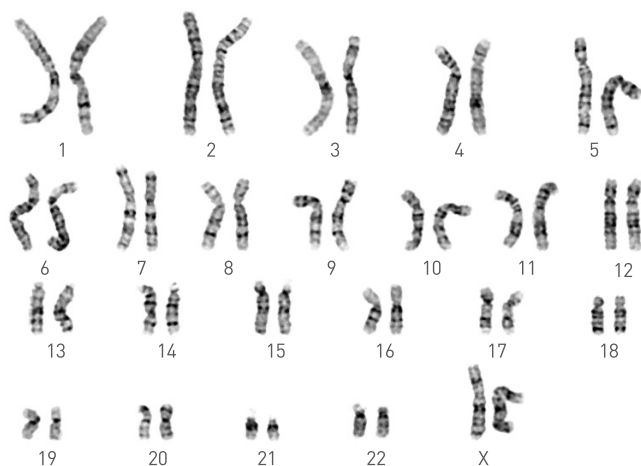
Por outro lado, alguns estudos indicam que a menopausa ocorre, em média, 1 a 4 anos mais cedo nas mulheres fumadoras, em comparação com as não fumadoras, e que a grávida fumadora pode pôr em risco a futura fertilidade do seu filho/a.

Na avaliação da infertilidade é fundamental obedecer ao conceito de que os dois membros do casal devem ser estudados em simultâneo. As análises e os exames a realizar dependerão de cada situação, devendo o médico definir criteriosamente os que são necessários, uns porque constituirão a base fundamental do estudo e outros em função do caso em concreto. São exemplos, a avaliação da função ovárica através dos doseamentos hormonais, o cariótipo (estudo cromossómico), os marcadores víricos da hepatite B, C e VIH, a pesquisa de anticorpos anti-HTLV I/II, a serologia da

toxoplasmose, rubéola e sífilis, a avaliação dos órgãos pélvicos através da ecografia transvaginal, a histerosalpingografia (introdução de um produto de contraste para observar a cavidade uterina e a permeabilidade das trompas) e/ou a histeroscopia (endoscopia da cavidade uterina) e o espermograma (análise do número, morfologia e motilidade dos espermatozóides, para além de outros elementos de carácter funcional e a pesquisa de leucócitos - para o despiste de uma eventual inflamação ou infecção).

Para além do cariótipo de linfócitos de alta resolução, os exames genéticos que devem ser criteriosamente considerados no estudo da causa de uma infertilidade ou a realizar antes da procriação medicamente assistida são, fundamentalmente, o estudo molecular do cromossoma Y, o estudo molecular da fibrose cística, o estudo da fragmentação do ADN dos espermatozóides e o estudo cromossómico dos espermatozóides por FISH (Fluorescent In Situ Hybridization).

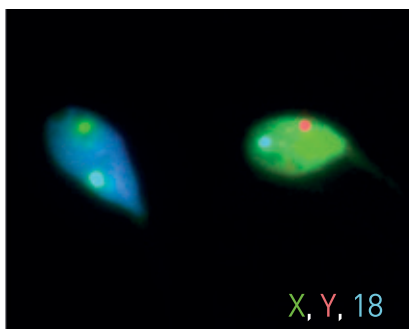
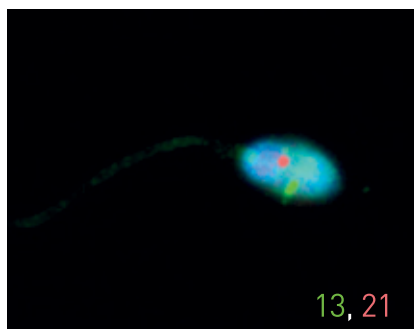
Antes de iniciar um ciclo de procriação medicamente assistida está indicado realizar o cariótipo aos dois membros do casal, bem como o estudo molecular do cromossoma Y (nos casos de diminuição grave do número de espermatozóides ou de azoospermia secretora) ou da fibrose cística (na azoospermia obstrutiva, quando excluídas as causas traumáticas, infecciosas, iatrogénicas, ...), com o objectivo de identificar uma eventual infertilidade de causa genética para o consequente aconselhamento genético.



CARIÓTIPO NORMAL (SEXO FEMININO): 46 CROMOSSOMAS
(cromossoma: "veículo" transportador da informação genética)

O estudo cromossómico dos espermatozóides por FISH e o estudo da fragmentação do ADN dos espermatozóides são outros exames genéticos que podem ser realizados antes da procriação medicamente assistida, não só pelo seu potencial contributo para o esclarecimento da causa da infertilidade como pelos argumentos que podem proporcionar para, respectivamente, a decisão de realizar o estudo genético pré-implantação ou para fazer a colheita de espermatozóides por biopsia testicular (pela expectativa de, em alguns casos, os espermatozóides obtidos directamente dos testículos apresentarem uma percentagem de fragmentação do ADN inferior à dos espermatozóides do ejaculado).

O conhecimento das situações de origem genética - génica e cromossómica - que produzem infertilidade e a capacidade de as interpretar correctamente são de importância indiscutível para uma prática médica correcta. Isto porque, ao contrário das outras inúmeras causas de infertilidade resultantes da acção nefasta de agentes biológicos, químicos ou físicos e cujo combate, em regra, terá uma tradução positiva em termos individuais e de espécie, a infertilidade de causa genética poderá constituir um mecanismo biológico automático de eliminação de genes ou cromossomas anómalos pelo que a hipótese do seu combate deve ser exaustivamente analisada e ponderada.



ESPERMATOZÓIDES COM OS CROMOSSOMAS 13, 18, 21, X E Y MARCADOS PELA TÉCNICA DE FISH
(Fluorescent In Situ Hybridization)

IMPACTO PSICOLÓGICO DA INFERTILIDADE

A infertilidade pode despoletar reacções emocionais e sintomatologia psicossomática variável, como cefaleias, insónias, irritabilidade, dificuldades de concentração, problemas de sono, fadiga, sensação de tristeza e “de vazio”, perda ou excesso de apetite e perda de interesse ou de prazer nas relações sexuais.

O desejo de ser mãe/pai é um projeto que faz parte da maioria das pessoas em idade reprodutiva. O confronto com as dificuldades em alcançar uma gravidez, completamente inesperadas, traz consigo uma carga emocional habitualmente caracterizada por sentimentos de choque, negação, inadequação e desesperança. Neste contexto, a procriação medicamente assistida pode ter um papel crucial. Durante a fase de tratamentos, a mulher tende a expressar mais frequentemente os sentimentos negativos face ao processo, enquanto o homem tende a expressar menos, com vista a dar suporte à sua companheira. Homens e mulheres vivenciam a situação de infertilidade de forma distinta. Dada a exigência física e emocional dos tratamentos, podem surgir conflitos na comunicação pelo que é muito importante que os dois membros do casal sejam sempre incluídos em todas as fases do tratamento. A espera do resultado do teste de gravidez é também pautada por grande ansiedade, dúvidas e incertezas. Desta forma, é importante que o casal mantenha as suas rotinas e desenvolva actividades em conjunto com vista ao seu bem-estar. Quando se realiza um novo tratamento depois do insucesso, esta fase pode ter uma carga emocional negativa mais intensa. No entanto, se estão a realizar um novo tratamento, é de ter esperança e acreditar que este pode trazer o bem mais desejado.

Por vezes, durante o diagnóstico, tratamento e pós-tratamento (tanto nos casos de sucesso como de insucesso), podem ocorrer algumas situações que merecem avaliação e atenção clínica. Se, em algum momento, sentir um aumento de ansiedade, tristeza profunda, mudanças de humor rápidas e difíceis de lidar ou que provocam dificuldades nas relações com os outros, aumento de conflitos com o parceiro (a), ou qualquer outra questão, não hesite em pedir aconselhamento. O Centro de Genética da Reprodução pretende oferecer o melhor cuidado a todos os pacientes. Toda a equipa está disponível para responder a questões e dúvidas acerca do processo e a psicóloga está especialmente direccionada para trabalhar consigo estas dificuldades e oferecer aconselhamento e suporte.

ORIENTAÇÃO E ACOMPANHAMENTO DA TERAPÊUTICA

A decisão e a orientação do tratamento resultam da análise e discussão em equipa dos dados clínicos e laboratoriais, sendo o consequente acompanhamento dos pacientes também um trabalho de equipa.

A inevitabilidade do trabalho em equipa resulta da multidisciplinaridade de competências e funções e de não poder haver uma previsão rigorosa dos dias em que irão decorrer os vários procedimentos. Assim, a exigência de uma absoluta disponibilidade total incide sobre o grupo, o que significa que todos os actos médicos (monitorização ecográfica da resposta ovárica, colheita de ovócitos, transferência embrionária, ...) podem ser realizados por qualquer um dos elementos da equipa médica.

Esta complementaridade decorre naturalmente porque há um conhecimento pleno e integrado das decisões por parte de todos os clínicos e embriologistas do Centro de Genética da Reprodução.

ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS

Após a correcta avaliação clínica e laboratorial de um casal – e considerando também aspectos tão importantes como a idade da mulher, o tempo de infertilidade e os antecedentes pessoais e familiares –, havendo uma perspectiva minimamente consistente de sucesso através de uma metodologia mais simples, mais fisiológica e menos intervencionista, deverá ser esta a eleita para uma primeira abordagem terapêutica.

A forma mais simples de intervenção terapêutica é a **Indução da Ovulação**, em que a doente é submetida a uma estimulação hormonal suave dos ovários, nomeadamente com comprimidos (citrato de clomifeno ou letrozol) ou com a hormona folículo-estimulante (FSH), através de injeções subcutâneas (são de aprendizagem fácil, de tal modo que, frequentemente, a respectiva aplicação é feita pela própria senhora). A resposta dos ovários a esta estimulação hormonal deve ser avaliada, nomeadamente por ecografia (monitorização ecográfica), de modo a ajustar a dosagem do medicamento e a definir o dia em que irá ocorrer a ovulação, o que permitirá esclarecer as pessoas relativamente ao período mais indicado para terem relações sexuais.

O número de ciclos em que é correcto proceder a este método é variável, dependendo da resposta ovárica obtida e dos muitos factores que envolvem a infertilidade do casal, podendo ser tão correcto fazer apenas uma estimulação, como ir até às seis, sendo o limite definido individualmente, em cada caso concreto.

Se a indução da ovulação não permitir alcançar a gravidez, ou se o estudo realizado ao casal não legitimar a tentativa de resolver o problema da forma mais simples, estará indicado o recurso à Procriação Medicamente Assistida: inseminação artificial intrauterina, fertilização in vitro ou fertilização in vitro com microinjecção intracitoplasmática.

A escolha da técnica a realizar tem também em conta os princípios gerais já enunciados, o que significa que, sempre que a probabilidade de sucesso seja minimamente consistente, a inseminação intrauterina será o primeiro patamar a percorrer. As técnicas mais intervencionistas – a fertilização in vitro e a microinjecção intracitoplasmática – deverão situar-se no limite da intervenção médica: apenas quando os métodos mais simples não resolveram

o problema ou se a sua aplicação é a única atitude medicamente correcta face à gravidade dos factores de infertilidade presentes.

Um breve olhar histórico conduz-nos a 1770 (Londres), quando John Hunter realizou a primeira inseminação artificial intraconjugal, e a 1884 (Filadélfia), altura em que Pancoast iniciou a prática da inseminação artificial com esperma de dador. Estes métodos, de carácter rudimentar porque consistiram apenas na manipulação do esperma total, sem qualquer preparação dos espermatozóides, deram origem à metodologia contemporânea em que é realizada a lavagem e a capacitação dos espermatozóides, com a sua posterior introdução na cavidade uterina - **Inseminação Artificial Intrauterina**.

A inseminação intrauterina intraconjugal estará indicada em situações como malformações do pénis, impotência, vaginismo, volume de esperma muito reduzido, alterações moderadas do número, morfologia e motilidade dos espermatozóides, formação de anticorpos anti-espermatozóides, muco cervical hostil e infertilidade de causa desconhecida.

A perspectiva de sucesso da inseminação intrauterina é de 10-15% por ciclo, probabilidade que não constitui mais do que um valor de referência já que é inevitavelmente influenciada pela individualidade de cada situação de infertilidade. A taxa de gravidez gemelar é inferior a 10%.

O limite máximo de tratamentos a realizar deverá também ser definido individualmente, rondando os 3-4 ciclos, mas sendo correcto alargar para 6, nos casos de melhor prognóstico. A frequência destes ciclos poderá ser mensal ou de dois em dois meses.

A definição do dia em que se deve realizar a inseminação intrauterina resulta da mesma metodologia referida para a estimulação da ovulação, nomeadamente a monitorização ecográfica. No dia indicado, o marido deverá fazer uma colheita de esperma para, após a respectiva preparação, os espermatozóides serem colocados na cavidade uterina. Esta introdução é realizada com uma sonda (catéter) fina, tem uma curta duração e é indolor, não requerendo qualquer sedação.

As senhoras permanecem deitadas cerca de meia hora. Em seguida, podem regressar à sua actividade normal, com a orientação terapêutica adequada à situação clínica. Após cerca de 2 semanas, o teste de gravidez deverá ser realizado, na urina ou através do doseamento sanguíneo da β hCG.

A inseminação artificial com espermatozóides de dador tem actualmente indicações muito mais restritas do que até meados da década de 90, uma vez que um enorme número de situações que conduziam à sua aplicação, como a azoospermia (ausência de espermatozóides no ejaculado) de causa obstrutiva, muitas das azoospermias secretoras (em que a ausência de espermatozóides no esperma não tem como causa uma obstrução à sua passagem mas uma anomalia, congénita ou adquirida, que atinge os testículos e inviabiliza a sua formação) e as anomalias graves ou muito graves do número, morfologia e motilidade dos espermatozóides têm, desde então, uma consistente via de solução através da microinjecção intracitoplasmática.

As indicações actuais da inseminação artificial com espermatozóides de dador são, fundamentalmente, as azoospermias secretoras (quando a biopsia testicular múltipla não permitiu encontrar espermatozóides ou espermátides - células que, após diferenciação, dão origem aos espermatozóides), as doenças genéticas (para as quais não é possível fazer teste genético pré-implantação ou diagnóstico pré-natal) e as situações de azoospermia consequentes ao tratamento cirúrgico, citostático ou com radiações ionizantes de neoplasias malignas (em que não foi realizada previamente criopreservação dos espermatozóides em azoto líquido).

O recurso à procriação medicamente assistida com espermatozóides de dador está também naturalmente indicado nos casos de mulheres sem parceiro e de casais de mulheres.

A grande motivação para a realização da **Fertilização In Vitro (FIV)** foi ultrapassar a impossibilidade de engravidar devido à obstrução ou à ausência bilateral das trompas.

A prática da FIV estendeu-se rapidamente a outras indicações de carácter ginecológico, como a endometriose, a insuficiência ovárica prematura (vulgarmente designada de “menopausa precoce”, em que a única solução médica para a resolução da infertilidade é a doação de ovócitos) e as situações em que a infertilidade era causada por alterações moderadas do número, morfologia ou motilidade dos espermatozóides.

Todavia, esta técnica não demonstrou capacidade para resolver os numerosíssimos casos em que estes factores masculinos assumiam uma gravidade significativa.

Neste contexto de incapacidade surgiu a fertilização in vitro com **Microinjecção Intracitoplasmática (ICSI** - Intracytoplasmic Sperm Injection - injeção, sob controlo microscópico, de um único espermatozóide no interior do ovócito).

A microinjecção intracitoplasmática tem proporcionado a resolução de muitas situações de:

- Anomalias graves ou muito graves do número, morfologia ou motilidade dos espermatozoides.
- Fertilização in vitro anterior com uma taxa de fecundação nula ou baixa.
- Anomalias da zona pelúcida (revestimento do ovócito).

- **Azoospermia obstrutiva**

É importante referir que, apesar do estudo clínico, genético, hormonal e imagiológico constituírem elementos de grande relevo na avaliação global da azoospermia, em regra, a biopsia testicular continua a ser indispensável.

A biopsia testicular é realizada com anestesia local, sendo, em regra, bem tolerada. Em caso de hipersensibilidade do doente é possível recorrer a uma sedação (a qual é necessária muito raramente).

Nos casos de azoospermia obstrutiva, devido à menor invasividade, a técnica de eleição para a colheita de espermatozoides é a biopsia testicular aspirativa (TESA: Testicular Sperm Aspiration), em que a biopsia é realizada através da aspiração com uma agulha.

- **Azoospermia secretora**

Os doentes com azoospermia secretora, identificada por biopsia testicular diagnóstica prévia, podem ser submetidos a TESE (Testicular Sperm Extraction), em que vários fragmentos de tecido, de 2-4 mm, são colhidos em zonas diferentes do testículo (muitas vezes, esta biopsia testicular múltipla é bilateral) e imediatamente observados ao microscópio, com o objectivo de encontrar um ou mais focos de espermatozoides ou espermátides.

São muitas as situações em que, após uma primeira biopsia testicular de diagnóstico, em que a retirada de 2 ou 3 fragmentos de testículo

não permitiu encontrar qualquer espermatozóide ou espermátide, a realização posterior de uma biópsia testicular com a colheita de múltiplos pequenos fragmentos (o número é variável, nomeadamente em função do volume testicular) pode permitir a obtenção de espermatozoides ou espermátides. A frequente não-coincidência entre os resultados destas duas biópsias tem como justificação o facto de a massa testicular não ser invariavelmente homogênea no seu conteúdo, podendo a maioria do tecido testicular ser um “deserto” relativamente às células germinativas mas, em algumas zonas, existirem focos de produção destas células.

O conhecimento rigoroso desta realidade e a persistência, imprescindível para uma pesquisa que pode durar muitas horas, têm permitido encontrar espermatozoides em casos anteriormente declarados como “impossíveis”, como é exemplo a síndrome de Klinefelter (cariótipo 47,XXY), em que, apesar da azoospermia estar quase sempre presente, esta pesquisa tem sucesso em cerca de 45% dos casos.



MICROINJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA



LABORATÓRIO DE PROCREIAÇÃO MEDICAMENTE ASSISTIDA

Todavia, mesmo com todo este potencial, a azoospermia secretora está associada a um risco significativo de não se encontrarem espermatozóides ou espermátídeos na biopsia testicular múltipla, pelo que os casais são esclarecidos sobre a alternativa da inseminação artificial ou da fertilização in vitro com espermatozóides de dador.

- Ejaculação retrógrada.

Na ejaculação retrógrada, o esperma não se exterioriza através da uretra mas reflui para a bexiga.

Nestes casos, os espermatozóides são obtidos a partir da urina (através da micção após masturbação) ou por biopsia testicular aspirativa (TESA).

- Anejaculação

A ausência de ejaculação pode ser de causa psicogénica ou por lesão da medula (caso dos paraplégicos) ou dos nervos periféricos pélvicos, em consequência de uma cirurgia oncológica ou de doenças neurodegenerativas e neurovasculares (ex: polineuropatia amiloidótica familiar e diabetes).

A lesão medular é causa de infertilidade masculina por originar problemas de erecção e, principalmente, de ejaculação (mais de 90% dos indivíduos com lesões medulares (TXI-LII) não têm ejaculação, anterógrada ou retrógrada).

A colheita dos espermatozóides pode ser realizada por estimulação eléctrica da ejaculação, através de uma sonda endorectal. Porém, em regra, a qualidade dos espermatozóides obtidos com estimulação eléctrica endorectal é baixa, com alterações graves ou muito graves do número, morfologia ou motilidade dos espermatozóides, devido à própria electroejaculação ou à doença subjacente.

Assim, actualmente, pela perspectiva de obtenção de espermatozóides com maior poder fecundante e que proporcionem uma melhor qualidade embrionária (nomeadamente pela menor fragmentação do ADN), nos casos de anejaculação, tal como nas situações de ejaculação retrógrada, a biopsia testicular aspirativa (TESA) é o método de eleição para a recolha de espermatozóides para a realização da microinjecção intracitoplasmática.

- Portadores do vírus da imunodeficiência humana (VIH positivos) ou portadores do vírus da hepatite B ou C.

A microinjecção intracitoplasmática é realizada com os espermatozóides previamente criopreservados em azoto líquido, após a respectiva "lavagem" e preparação, e só após a confirmação da não-deteção dos vírus por estudos de biologia molecular.

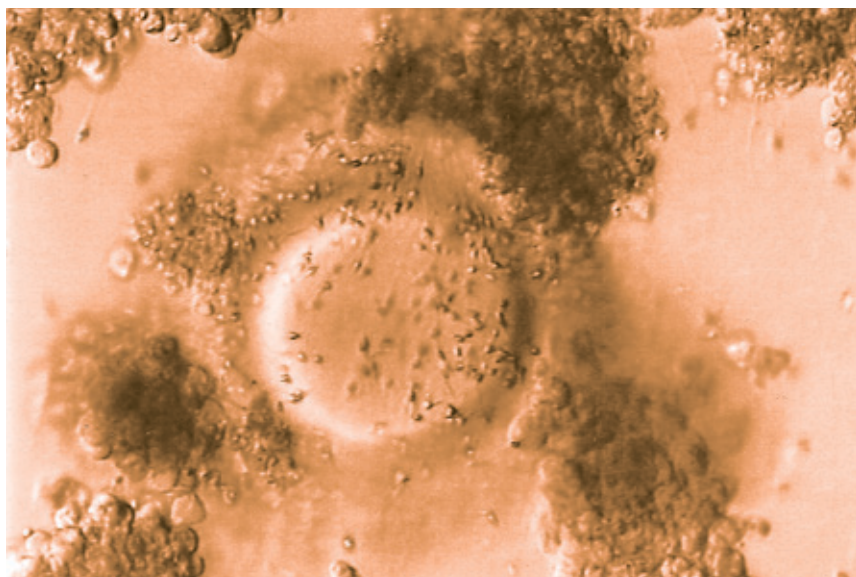
Para a realização da fertilização in vitro, com ou sem microinjecção intracitoplasmática, é necessária uma estimulação ovárica mais intensa do que para a inseminação artificial, também com injecções subcutâneas, com monitorização ecográfica e doseamentos hormonais, que têm como objectivo ajustar as doses dos medicamentos, evitar efeitos secundários (nomeadamente, a síndrome de hiperestimulação ovárica, resultante da resposta excessiva dos ovários) e definir o dia mais aconselhado para a colheita dos ovócitos (designada de punção folicular).

A punção folicular é antecedida, cerca de 36-37 horas, por uma injecção (de gonadotrofina coriónica humana ou agonista da GnRh) para a maturação ovocitária. O conteúdo folicular é aspirado, sob controlo ecográfico (ecografia transvaginal), procedendo-se imediatamente à identificação microscópica dos ovócitos (o número de ovócitos poderá não corresponder ao número

de folículos aspirados, podendo até não haver qualquer ovócito) e à sua caracterização, nomeadamente a sua maturidade e integridade. A punção é realizada com sedação, de modo a ser totalmente indolor (esta sedação exige um jejum de 6 horas), permanecendo a doente deitada cerca de 2 horas.

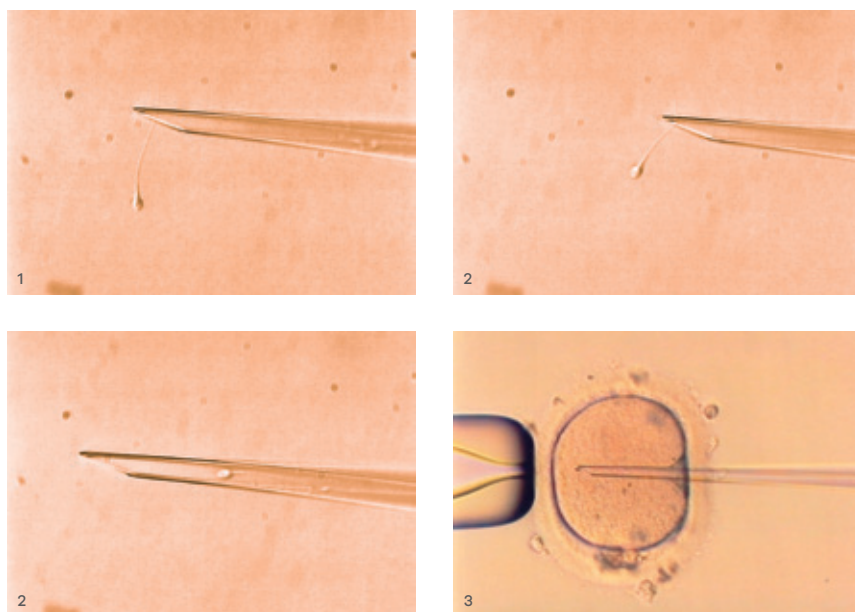
Após a identificação da existência de ovócitos, o marido faz a colheita do esperma, por masturbação, sendo aconselhável que tenha ocorrido uma ejaculação (por masturbação) 1 a 2 dias antes. Na base da sugestão deste período de abstinência está a expectativa de, pelo facto de estarem menos tempo “armazenados” nas glândulas acessórias (vesículas seminais, próstata e glândulas bulbo-uretrais), os espermatozóides obtidos no dia da punção apresentem uma melhor qualidade estrutural (por exemplo, uma menor fragmentação do seu ADN).

Durante o ciclo de PMA, os casais serão esclarecidos sobre as limitações à sua actividade sexual, nomeadamente para prevenir uma gravidez gemelar espontânea, por mais improvável que esta seja.



FIV: OVÓCITO RODEADO DE ESPERMATOZÓIDES
Vídeo disponível em www.cgrabarros.pt

É importante salientar que o constrangimento resultante da necessidade de colheita do esperma por masturbação e a ansiedade inerente ao decurso do ciclo terapêutico podem ter como consequência uma dificuldade adicional e, por vezes, até a impossibilidade da colheita do esperma. Deste modo, para evitar a situação angustiante de não ter espermatozóides para a respectiva tentativa de fecundação dos ovócitos obtidos, os doentes são esclarecidos da possibilidade de criopreservação dos espermatozóides em azoto líquido, antes do início do ciclo. Esta medida profilática, a decidir pelo casal, permite tranquilizar os doentes mais susceptíveis pois sentem a segurança do recurso aos espermatozóides congelados no caso de não conseguirem fazer a colheita do esperma no dia da punção.



ICSI: IMOBILIZAÇÃO (1), ASPIRAÇÃO (2) E INJEÇÃO DE UM ESPERMATOZÓIDE NO CITOPLASMA DO OVÓCITO (3)

Vídeo disponível em www.cgrabarros.pt

De facto, o potencial fecundante dos espermatozóides congelados, mesmo obtidos directamente dos testículos, faz com que a sua criopreservação, em azoto líquido (196°C negativos), seja uma prática possível para uma eventual utilização posterior. No entanto, é de realçar que esta criopreservação só é

realizável se a quantidade/qualidade dos espermatozóides obtidos o permitir. Em função da circunstância concreta de cada caso, cerca de 4-6 horas após a colheita dos ovócitos procede-se à fertilização *in vitro* (em que à volta de cada ovócito são colocados cerca de 50.000 espermatozóides com motilidade progressiva rápida) ou à microinjecção intracitoplasmática (em que um espermatozóide é injectado no interior de cada ovócito).

Esta é a diferença essencial entre estes dois métodos, decorrendo os restantes procedimentos, clínicos e laboratoriais, de forma semelhante.

Tradicionalmente, decorridas cerca de 16-18 horas, todos os ovócitos são observados com o objectivo de identificar a respectiva fecundação. No CGR, após a microinjecção intracitoplasmática, a existência do sistema time-lapse permite a observação de todo o período de incubação através da obtenção sequencial de imagens. Em média, 70-75% dos ovócitos fecundam, os quais, na sua esmagadora maioria, chegam a embrião. O número de ovócitos, a taxa de fecundação e o número e a qualidade dos embriões obtidos são significativamente variáveis, consequência óbvia da situação única de cada caso.



OVÓCITO FECUNDADO (2 NÚCLEOS: DO OVÓCITO E DO ESPERMATOZÓIDE)

A cultura dos ovócitos, espermatozóides e embriões realiza-se em incubadoras programadas para manter uma temperatura estável de 37°C e uma atmosfera de 5% de oxigénio, 6% de dióxido de carbono e 89% de azoto.

Em geral, a transferência embrionária para a cavidade uterina é realizada 2 a 5 dias após a colheita dos ovócitos, estando a decisão do dia da transferência dependente, nomeadamente, do número e qualidade dos ovócitos obtidos e do número, dinâmica de desenvolvimento e integridade estrutural dos embriões em evolução.

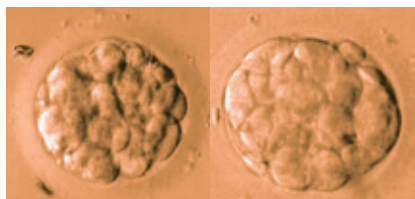
A linha de orientação do Centro de Genética da Reprodução é, sempre que os factores anteriormente citados o permitam, fazer a cultura prolongada dos embriões - para uma melhor caracterização e identificação dos que terão uma maior probabilidade de implantação - e a consequente transferência ao 5º dia do desenvolvimento (na fase de blastocisto).



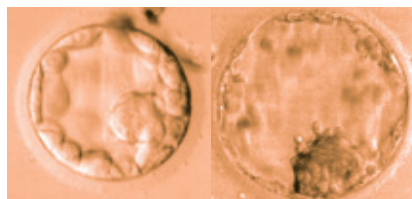
EMBRIÕES NO 2º DIA DE DESENVOLVIMENTO



EMBRIÕES NO 3º DIA DE DESENVOLVIMENTO



MÓRULAS (4º DIA DE DESENVOLVIMENTO)



BLASTOCITOS (5º DIA DE DESENVOLVIMENTO)

Vídeo do desenvolvimento embrionário disponível em www.cgrabarros.pt

Todavia, esta orientação não tem um carácter obrigatório. Por exemplo, se no 2º dia do desenvolvimento embrionário existirem apenas 1-2 embriões com viabilidade, será correcto fazer a transferência intrauterina nesse dia (tal como o será, em circunstâncias menos frequentes, a transferência ao 6º dia). Em alguns casos, como mulheres com idade igual ou superior a 38 anos, mínimo de duas transferências sem sucesso e aumento da densidade da zona pelúcida, antes da transferência embrionária pode realizar-se a **eclosão assistida (assisted hatching)**, que consiste na abertura de um pequeno orifício no "invólucro" de cada embrião (zona pelúcida), através de raios laser, com o objectivo de facilitar a exteriorização do embrião e a sua implantação uterina (vídeo disponível em www.cgrabarros.pt).

A transferência é um procedimento breve e indolor, pelo que não é necessária qualquer sedação. Os embriões são colocados no interior do útero através de uma sonda, sob controlo ecográfico (para este efeito, é útil a bexiga estar cheia).



SONDA DE TRANSFERÊNCIA EMBRIONÁRIA

Após a confirmação de que não há qualquer embrião retido na sonda, as senhoras levantam-se (o Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine recomenda levantar as pacientes imediatamente após a transferência) e devem urinar (a pressão da bexiga cheia sobre o útero poderá estimular as contracções uterinas), podendo, seguidamente, regressar a casa. É importante esclarecer que os embriões não caem para o exterior porque a cavidade uterina é virtual, ou seja, as paredes do útero tocam-se, não deixando sair os embriões.

A orientação terapêutica para os dias/semanas seguintes é adequada a cada situação clínica e tem como objectivo, nomeadamente, manter um bom ambiente uterino, isto é, uma boa receptividade do endométrio à implantação embrionária.

Apesar da ausência de argumentos científicos sólidos, aconselha-se que, nos dias seguintes, as senhoras mantenham uma actividade física moderada.

Na esmagadora maioria das situações, a gravidez gemelar é dizigótica, o que significa que os gémeos resultam da implantação de mais do que um dos embriões transferidos para o útero (estes gémeos podem ser tão diferentes como irmãos nascidos com anos de intervalo, sendo popularmente designados de gémeos “falsos”). Em 1-2% das gravidezes resultantes de FIV/ICSI, os gémeos podem resultar da divisão em dois de um mesmo embrião, quase sempre nos primeiros 5 dias de desenvolvimento: são os designados gémeos monozigóticos, vulgarmente conhecidos como “verdadeiros” pela sua aparência idêntica.



CRIOPRESERVAÇÃO DE GÂMETAS E EMBRIÕES

Cerca de 12 dias após a transferência, deve ser realizado um teste de gravidez (doseamento sanguíneo da β hCG) e o respectivo resultado comunicado ao CGR. Nesta altura, independentemente do resultado, será marcada uma ecografia pélvica de controlo, ovárico e uterino. No caso de diagnóstico de gravidez bioquímica (β hCG igual ou superior a 20), o objectivo principal é a identificação ecográfica de embrião na cavidade uterina (gravidez clínica).

O número de embriões a transferir é influenciado por variáveis como a idade da mulher, a gravidade do factor masculino, a qualidade estrutural e a dinâmica de desenvolvimento dos embriões. A ideia base e fundamental é estabelecer o maior paralelismo possível entre a maior taxa de sucesso e o menor risco de gravidez gemelar, sem colocar significativamente em causa o sucesso do tratamento.

De acordo com a preocupação de diminuir a probabilidade de gravidez gemelar, e, assim, melhorar o prognóstico da gravidez, o Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida (CNPMA) estabeleceu que “o número de

embriões a transferir para o útero deve ser de um ou dois, devendo privilegiar-se a transferência de apenas um embrião nas mulheres até aos 35 anos e nos casos de doação de ovócitos”.

A transferência de um único embrião está também indicada quando o teste genético pré-implantação revela o número normal de cromossomas, pela esperada maior probabilidade de implantação.

As taxas de gravidez das técnicas de PMA constituem valores de referência, que permitem situar as pessoas numa determinada probabilidade de sucesso, a qual será, inevitavelmente, influenciada pela qualidade do trabalho clínico e laboratorial do respectivo Centro mas também pela individualidade dos factores presentes em caso caso (ex: idade da mulher, quantidade e qualidade dos ovócitos e espermatozóides, ...).

De acordo com os resultados obtidos no CGR, nas mulheres até aos 35 anos, a probabilidade de gravidez clínica por transferência é, aproximadamente, de 60% para a FIV e 50% para a ICSI, sendo a frequência de gravidez gemelar de cerca de 15%.

A maior probabilidade de sucesso com a FIV, apesar de ser uma técnica menos avançada do que a ICSI, justifica-se com o facto de a FIV se aplicar nas situações em que não há alterações graves dos espermatozóides, pelo que será de esperar uma maior qualidade e consequente maior capacidade de implantação e de evolução dos embriões.

A definição do prognóstico de alcançar uma gravidez pode situar-se na referida probabilidade de êxito por cada ciclo mas também pode considerar-se uma taxa cumulativa de sucesso, isto é, a probabilidade de gravidez após 4-5 tratamentos (que poderá incluir a transferência de embriões criopreservados), a qual, pelos motivos já suficientemente assinalados, pode atingir valores variáveis, incluindo uma perspectiva superior a 80%.

De acordo com a boa prática médica e com a legislação portuguesa (Lei nº 32/2006, de 26 de Julho), os embriões não transferidos para a cavidade uterina, e cuja caracterização morfológica traduza viabilidade, devem ser criopreservados (em azoto líquido, a 196°C negativos).

A vantagem deste procedimento é permitir uma nova tentativa de gravidez de um modo muito menos intervencionista. Todavia, é de referir que, com a

metodologia aplicada no CGR, em que se privilegia a estimulação ovárica moderada e a cultura prolongada dos embriões para uma selecção “natural” do desenvolvimento embrionário, na maioria das situações não se identificam embriões com qualidade suficiente para criopreservar.

Esta avaliação criteriosa é importante já que mesmo embriões com critérios de viabilidade podem degenerar no decurso do processo de congelação e descongelação, pelo que não seria legítimo congelar embriões com sinais de inviabilidade, criando nos casais uma expectativa inconsistente.

Apesar de cerca de 90-95% dos tratamentos de fertilização in vitro, com ou sem microinjecção intracitoplasmática, permitirem a transferência de embriões, há ciclos em que a punção de vários folículos, com dimensões suficientes para a correspondente existência de ovócitos, não proporciona a recolha de qualquer ovócito (as ecografias não permitem visualizar os ovócitos, pois estes são de tamanho microscópico).

É também importante assinalar que o ciclo pode ser cancelado na fase de estimulação, devido a uma má resposta dos ovários à terapêutica, e que há ciclos em que não se obtém qualquer embrião com viabilidade para a respectiva transferência.

Nos ciclos de teste genético pré-implantação, após a biopsia da trofoectoderme, todos os blastocistos são criopreservados devido ao tempo necessário para realizar o estudo genético e a eventual identificação de embriões geneticamente transferíveis.

Por outro lado, a transferência embrionária é cancelada, com a congelação de todos os embriões que apresentem características morfológicas de viabilidade, quando há condições desfavoráveis do endométrio ou um risco elevado da síndrome de hiperestimulação ovárica.

O número limite de tratamentos que é possível fazer é uma pergunta recorrentemente feita pelos pacientes. A resposta imediata deverá ser a de que o limite é estabelecido pela análise, o mais objectiva possível, dos vários parâmetros, clínicos e laboratoriais, decorrentes de cada tratamento (resposta ovárica, número e qualidade de ovócitos e espermatozóides, caracterização embrionária, ...).

A grande variabilidade das situações faz com que possa ser correcto realizar cinco ou mais tratamentos ou fazer dois e não ser aceitável continuar. Há situações em que, apesar da pressão exercida pelo casal no sentido de

prosseguir, resultante da sua grande ansiedade e até angústia, o médico deve explicar-lhes que é preciso “saber parar”, desde que a análise da situação resulte na conclusão de que a probabilidade de vir a ter sucesso não é minimamente consistente.

A intervenção terapêutica da microinjecção intracitoplasmática assume um relevo inquestionável, por constituir a concretização do que esteve, até há pouco tempo, no domínio da utopia. Todavia, a sua indicação deve ser muito criteriosamente definida, evitando que a sua fantástica capacidade de resolver situações gravíssimas condicione uma tendência precipitada e imprudente à sua prática generalizada.

A nível mundial, realizam-se anualmente mais de 2 milhões de ciclos de fertilização in vitro, com ou sem microinjecção intracitoplasmática, sendo o número total de nascimentos superior a 8 milhões (na Dinamarca, as crianças nascidas em consequência destas técnicas já constituem cerca de 10% do número global de recém-nascidos; em Portugal, em 2017, foram 3,2%).

A ideia geral é que, no fundamental, as gestações resultantes das técnicas de PMA estão sujeitas a complicações semelhantes às observadas na população geral. Todavia, uma incidência ligeiramente aumentada de malformações congénitas nos recém-nascidos resultantes destas técnicas não pode ser excluída. Assim, e mesmo com múltiplos estudos a revelar que o desenvolvimento psico-motor destas crianças é também semelhante ao observado na população geral, é importante continuar a avaliação, imediata, a médio e a longo prazo, das crianças nascidas.

Os riscos para a mulher são muito raros e, em regra, de gravidade reduzida, nomeadamente os associados à colheita dos ovócitos (como hemorragia ou infecção), assim como não há evidência de que a estimulação ovárica aumente o risco de menopausa precoce ou de cancro do ovário, mama ou útero.

A frequência dos abortamentos espontâneos é semelhante à observada na população geral (cerca de 15% das gestações diagnosticadas), existindo também o risco de 2% de ocorrer uma gravidez ectópica (gestação fora da cavidade uterina, quase sempre na trompa).

Por precaução, a gravidez deve ser considerada de alto risco, não apenas por ter sido alcançada com alta tecnologia mas também atendendo à infertilidade

subjacente, pelo que a monitorização fetal assumirá um maior relevo, nomeadamente através do diagnóstico pré-natal, genético e ecográfico.

Após o diagnóstico de gravidez, a regra do CGR é reenviar as senhoras para o respectivo médico assistente para ser este a orientar toda a gestação.

Os casais levam dois modelos de relatório médico, a devolver ao Centro de Genética da Reprodução, que obedecem aos parâmetros definidos pelo Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida: um, a preencher pelo médico assistente, descrevendo as condições da gravidez e do parto e as características do recém-nascido; outro, a ser devolvido depois de preenchido pelo pediatra ou médico de família assistente no final do primeiro ano de vida da criança.

Solicita-se também que informem o Centro de Genética da Reprodução sobre qualquer elemento relevante, a curto, médio ou longo prazo, relativo ao desenvolvimento físico e psico-motor da criança.

Para além dos modelos de relatório médico atrás referidos, a legislação portuguesa exige que os beneficiários das técnicas de PMA prestem o consentimento para a sua realização, sendo válidos apenas os consentimentos informados aprovados pelo CNPMA (documentos disponíveis em www.cnpma.org.pt).

TIME-LAPSE (EmbryoScope)

A preocupação permanente em melhorar as taxas de sucesso conduz também à constante atenção a todas as variáveis que possam influenciar positivamente a qualidade dos espermatozóides, ovócitos e embriões.

Neste sentido, o Centro de Genética da Reprodução iniciou, em 2005, a cultura in vitro dos gametas e embriões num ambiente muito mais próximo do existente in vivo nas trompas e útero, isto é, uma atmosfera proporcionada pela utilização de azoto (N_2) em que a concentração de oxigénio é apenas de 5% (5% O_2 , 89% N_2 , 6% CO_2), muito inferior à concentração de O_2 existente na atmosfera resultante da tradicional mistura de ar (que contém cerca de 21% de O_2) e 5% de CO_2 .

A sequência natural desta exigência de optimização foi a aquisição de incubadoras de última geração, incluindo duas incubadoras EmbryoScope, o que veio permitir acrescentar a esta atmosfera fisiológica de 5% de oxigénio a cultura dos gametas e embriões num espaço (volume) muitíssimo menor do que o existente nas incubadoras tradicionais, do que resulta uma estabilidade muitíssimo maior da temperatura e da concentração dos gases referidos.

As incubadoras EmbryoScope acrescentam a mais-valia do sistema time-lapse, em que a conjugação da incubadora, de um microscópio e de uma máquina fotográfica incorporada permite a obtenção de múltiplas imagens de todos os embriões presentes na incubadora, sem necessidade de retirar as placas de cultura. A partir destas imagens, o sistema cria um vídeo contínuo do desenvolvimento dos embriões, desde a fecundação até à transferência para o útero (vídeo disponível em www.cgrabarros.pt).

A nossa óbvia expectativa é que todos estes recursos, pela melhoria da qualidade dos embriões e da cada vez mais fundamentada avaliação e interpretação da sua morfologia e dinâmica de desenvolvimento, conduzam ao aumento significativo da probabilidade de gravidez.



DOAÇÃO DE ESPERMATOZÓIDES, OVÓCITOS E EMBRIÕES

Apesar de todos os avanços científicos e técnicos, há situações de infertilidade que não podem ser solucionadas com os gametas (espermatozóides ou ovócitos) do casal. Nestes casos, para além da adopção, o casal pode recorrer à inseminação artificial ou fertilização in vitro com espermatozóides de dador ou à fertilização in vitro com ovócitos de dadora, consoante o problema se centre na ausência de produção ou na má qualidade de espermatozóides ou ovócitos, respectivamente.

No Centro de Genética da Reprodução é possível a realização destas técnicas desde que as indicações para as mesmas cumpram as exigências legais e da arte médica e exista um dador compatível (etnia, grupos sanguíneos ABO/Rh, altura, cor da pele, cor dos olhos e cor do cabelo).

É importante esclarecer que as características de um indivíduo não resultam da "média aritmética" das características "presentes" no ovócito e no espermatozóide, isto é, o resultado final não é esperável como quando se "misturam tintas".

A famosa frase "Eu sou eu e a minha circunstância, e se não a salvo a ela, não me salvo a mim", do filósofo espanhol José Ortega Y Gasset (1883-1955), pode também ser útil fora do seu contexto original para o entendimento correcto do que constitui a nossa "herança genética": a maior parte das características humanas, normais ou patológicas, resulta de interações entre um ou mais genes (gene: porção da cadeia de ADN que transmite a "informação genética") e um ou mais factores ambientais (de natureza física ou química, biológicos, nutricionais, sociais, comportamentais, ambiente intra-uterino, localização geográfica,...). Isto é, a maior parte das características humanas resulta da interacção entre o "eu" (genes) e a "circunstância" (ambiente).

Assim, o efeito modificador do ambiente na acção dos genes contraria a ideia do determinismo genético. O conceito de que nós somos os nossos genes ignora, erradamente, a influência do ambiente.

Um dos aspectos mais surpreendentes da conclusão do "Projecto do Genoma Humano" (genoma: todo o ADN de um organismo), que proporcionou a

completa sequência do ADN humano, em 2003, é que os seres humanos não têm muito mais genes do que organismos simples, como a mosca (por exemplo, teremos um número de genes semelhante ao *Caenorhabditis elegans*, um animal vermiforme com cerca de um milímetro de comprimento), o que consolida a ideia de que a diferenciação do ser humano não é o resultado da existência de mais genes mas consequência da complexidade dos mecanismos de controlo da sua actividade e da forma como interactivam. Por outro lado, a semelhança da sequência do ADN entre os seres humanos é superior a 99,9%, o que permite a alguns autores afirmar que a análise do genoma confirma o que muitos biólogos têm mantido ao longo de muitos anos – que a raça é um conceito social e não biológico. A “raça” seria definida por menos de 0,01% dos genes...

Os factores ambientais podem actuar também de uma forma epigenética, o que significa que podem modificar a expressão dos genes e, consequentemente, as características de um indivíduo, sem qualquer alteração da estrutura do ADN. Estas variações de causa epigenética acontecem porque, apesar das “palavras” de determinada informação genética serem as mesmas, a forma como é realizada a sua “leitura” (a expressão génica) pode alterar significativamente a “construção” de muitas das nossas características.

O conhecimento de que, em ambientes distintos, a mesma constituição genética pode resultar em características muito diferentes assume um carácter de relevo nas gestações que resultam da doação de gametas e de embriões.

De facto, para além da privilegiada comunicação permanente entre a mãe e o feto ao longo de toda a gestação, nomeadamente através da circulação materno-fetal, são muito importantes outras formas de comunicação (pela presença, voz, toque, ...), também extensivas ao pai. O provérbio “parir é dor, criar é amor” assumirá uma abrangência de maior plenitude ao considerar toda a influência, pré e pós-natal, que a mãe e o pai terão no desenvolvimento do seu filho.

Estas considerações não pretendem retirar importância ao “eu” mas clarificar tão rigorosamente quanto possível a notável influência da tão plural “circunstância” no resultado do “todo” que constitui a pessoa.

A selecção dos dadores envolve critérios claramente definidos, nomeadamente a ausência de história pessoal e familiar de doenças hereditárias, a ausência de história pessoal de doenças infecciosas transmissíveis, a normalidade dos testes de rastreio obrigatórios e os limites de idade (não é aceitável um dador de espermatozóides com mais de 44 anos nem uma dadora de ovócitos com idade superior a 34 anos). É também realizada uma consulta com psicóloga, com vista à elaboração da história pessoal e familiar de doença mental assim como ao esclarecimento e discussão dos procedimentos, das questões legais e das implicações psicossociais da doação.

É importante referir a dificuldade em recrutar dadores, pelo que há um apelo permanente ao espírito de dádiva altruísta. As normas legais portuguesas definem que a doação de gâmetas é voluntária, de carácter benévolo e não remunerada (embora os dadores possam receber uma compensação estritamente limitada ao reembolso das despesas efectuadas ou dos prejuízos directa e imediatamente resultantes da dádiva).

A procriação medicamente assistida com doação de ovócitos pode ser realizada com ovócitos frescos ou com ovócitos criopreservados por vitrificação, sendo observados resultados semelhantes quanto às taxas de gravidez (cerca de 60%) e normalidade das crianças nascidas.

BENEFICIÁRIOS DAS TÉCNICAS DE PMA

Por Deliberação do Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida, só são elegíveis para beneficiar de técnicas de PMA as mulheres que, no momento da concretização da técnica em causa, tenham uma idade que não ultrapasse os 49 anos e 365 dias (ou 366 se essa idade for completada em ano bissexto).

A Lei nº 17/2016, de 20 de Junho, veio alargar o âmbito dos beneficiários das técnicas de PMA, garantindo o acesso de todos os casais e de todas as mulheres à PMA, independentemente do seu estado civil, orientação sexual e diagnóstico de infertilidade.

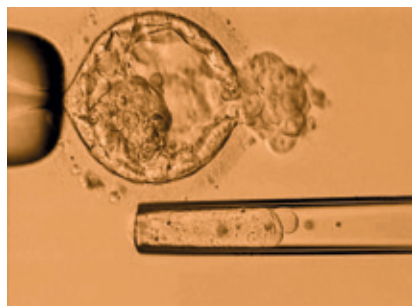
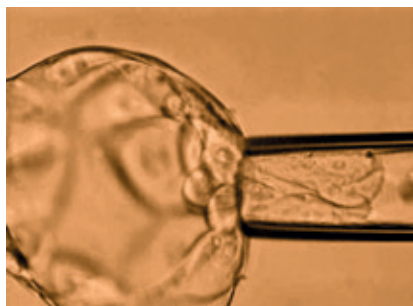
A regulamentação da Lei nº 17/2016 determina que, independentemente dos beneficiários serem casal de sexo diferente, casal de mulheres ou mulheres sem parceiro ou parceira, a decisão de realizar uma avaliação psicológica prévia à aplicação das técnicas de PMA, por psiquiatra ou psicólogo clínico, cabe ao director do Centro de PMA, não podendo esta avaliação ser realizada sem o consentimento prévio dos beneficiários

Os potenciais beneficiários das técnicas de PMA, sobretudo das técnicas que envolvem a doação de espermatozóides, ovócitos ou embriões, devem também entender esta consulta prévia de psicologia como uma oportunidade para reflectir acerca das implicações psicológicas, emocionais, familiares e sociais da doação, contribuindo desta forma para uma tomada de decisão mais estruturada e consistente e para uma melhor preparação da parentalidade.

TESTE GENÉTICO PRÉ-IMPLANTAÇÃO

A microinjecção intracitoplasmática é a técnica de eleição para a obtenção de embriões quando a finalidade é a realização do diagnóstico genético pré-implantação, método muito precoce de diagnóstico pré-natal quando existe um risco elevado de transmissão de uma doença genética grave à descendência: génica (ex: polineuropatia amiloidótica familiar (PAF) ou “doença dos pézinhos”) ou cromossómica (ex: trissomia 21 ou “mongolismo”).

Apesar da biópsia ao 3º dia, com remoção de uma ou duas células, continuar a ser realizada, a biópsia do embrião em blastocisto (de que resultará uma amostra de 5-10 células da camada celular externa, designada trofoectoderme, a partir da qual se formará a placenta) tornou-se progressivamente a técnica de eleição, não só pela maior resistência dos embriões à biópsia como pela maior solidez no diagnóstico da patologia genética.

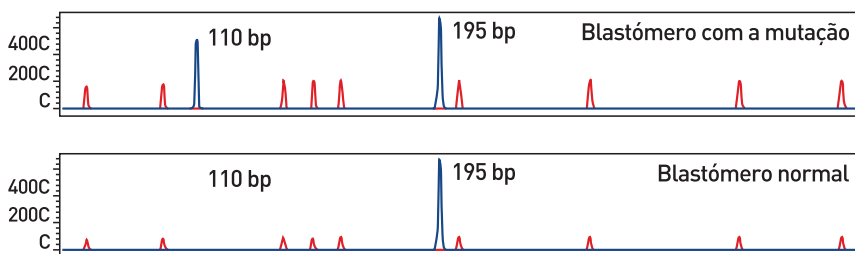


BIÓPSIA DE EMBRIÃO EM BLASTOCISTO
Vídeo disponível em www.cgrabarros.pt

No âmbito do diagnóstico genético pré-implantação existe o estudo de aneuploidias pré-implantação cujo objectivo fundamental é a detecção de anomalias cromossómicas de número (aneuploidias) no embrião. Estas anomalias cromossómicas, sobretudo as trissomias (situação em que se verifica a existência de um cromossoma em excesso), podem ser responsáveis pelo nascimento de uma criança com malformações e são uma causa muito frequente de abortamentos espontâneos e de insucesso das técnicas de PMA, sobretudo em mulheres de idade reprodutiva avançada.

A evolução das técnicas de biologia molecular e a necessidade de a nomenclatura traduzir mais rigorosamente a informação obtida no estudo embrionário pré-implantação levou a comunidade científica a substituir as designações de diagnóstico genético pré-implantação e de rastreio de aneuploidias pré-implantação pela designação mais abrangente de teste genético pré-implantação (PGT), seguido de abreviatura da alteração pesquisada: aneuploidias (PGT-A - Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy), doenças monogénicas (PGT-M - Preimplantation Genetic Testing for Monogenic diseases) e anomalias cromossómicas estruturais (PGT-SR - Preimplantation Genetic Testing for chromosomal Structural Rearrangements).

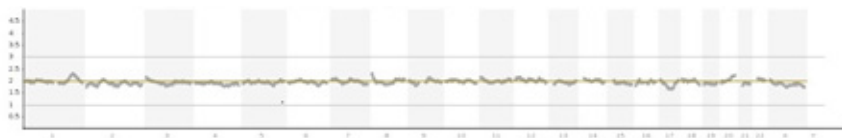
TESTE GENÉTICO PRÉ-IMPLANTAÇÃO (PGT-M) DA PAF POR PCR DE FLUORESCÊNCIA



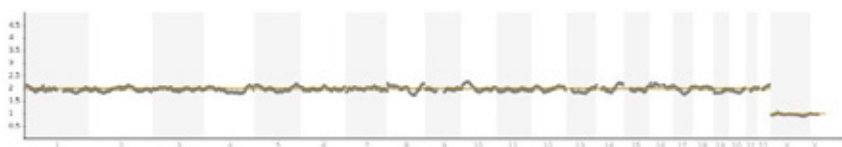
O estudo de todos os cromossomas, nomeadamente pela Next-Generation Sequencing (NGS), tem proporcionado um crescendo de expectativa na utilidade do estudo genético pré-implantação nos casos de abortamentos de repetição, insucessos repetidos de implantação e de idade materna avançada. Neste contexto, o Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida deliberou que o teste genético pré-implantação de alterações cromossómicas de número (aneuploidias) não carece da sua autorização prévia desde que a técnica utilizada permita o estudo de todos os cromossomas e se verifique pelo menos uma das condições seguintes:

1. Idade feminina avançada (igual ou superior a 39 anos).
2. Insucessos repetidos de implantação embrionária após FIV/ICSI (três ou mais transferências).
3. Abortamentos clínicos de repetição (dois ou mais) de causa desconhecida.
4. Gestação anterior com anomalia cromossómica de número ou anomalia estrutural desequilibrada.
5. Realização de biopsia embrionária já autorizada para PGT-M.

PERFIL NGS DE CÉLULAS DA TROFOECTODERME COM CONSTITUIÇÃO CROMOSSÓMICA NORMAL

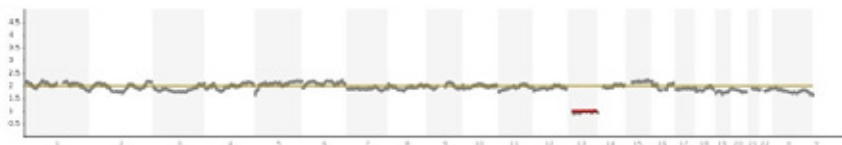


Embrão feminino

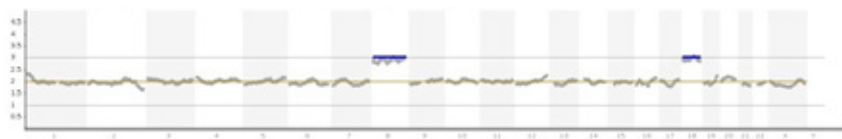


Embrão masculino

PERFIL NGS DE CÉLULAS DA TROFOECTODERME COM ANOMALIAS CROMOSSÓMICAS DE NÚMERO



Monossomia do cromossoma 13



Trissomia dos cromossomas 8 e 18

A principal limitação do PGT reside no número reduzido de células que podem ser retiradas do embrião pelo que o rigor diagnóstico não pode ser igual ao permitido pelo diagnóstico pré-natal (amniocentese ou biopsia das vilosidades coriônicas). Por este motivo, embora a sensibilidade diagnóstica do PGT atinja cerca de 98-99%, a opinião generalizada é de que o aconselhamento genético deve incluir o esclarecimento sobre a indicação de confirmação por diagnóstico pré-natal.

A exclusão dos embriões em que são diagnosticadas anomalias génicas ou cromossómicas levará a um número menor (ou mesmo à ausência) de embriões disponíveis para a transferência uterina. Todavia, após cada transferência, haverá um aumento significativo da probabilidade de gravidez evolutiva, que poderá atingir cerca de 50-60%, já que não serão transferidos embriões com anomalias cromossómicas.

Apesar do estudo a nível embrionário provocar uma inevitável discussão sobre a sua realização, é previsível a prática crescente do teste genético pré-implantação, por evitar uma futura interrupção de gravidez e por prevenir a transmissão de doenças genéticas graves e o seu impacto em gerações futuras.

Os riscos inevitáveis que todos os avanços científicos e técnicos comportam de desvios perversos não devem constituir a imagem mais forte que chega à sociedade. Esta terá a responsabilidade de não se deixar envolver por posições ético-filosóficas excessivas que, prevalecendo, poderão resultar na indignidade de não fazermos o que será possível para diminuir a doença, não no sentido negativo da manipulação perseguindo a eugenia mas com a nobreza de quem tem como obrigação fazer com que as próximas gerações possam ter menos doenças genéticas graves.

COMENTÁRIO FINAL

A infertilidade é reconhecida cada vez mais generalizadamente como uma forma de doença - não uma doença que mata ou incapacita mas que pode angustiar corrosivamente -, assumindo também rápida e progressivamente uma grande importância social e não apenas individual, atendendo à diminuição dramática da taxa de natalidade.

O número de 2,1 crianças nascidas por mulher é considerado o nível mínimo de substituição de gerações o que, claramente, não acontece em Portugal desde os anos 80. De facto, no nosso país, o índice sintético de fecundidade (número médio de crianças vivas nascidas por mulher em idade fértil) diminuiu de forma preocupante nas últimas décadas - 3,20 (1960); 3,00 (1970); 2,25 (1980); 1,57 (1990); 1,55 (2000); 1,39 (2010); 1,41 (2018).

A propagação cada vez mais galopante da informação, tendo uma utilidade clara, não deixa de conter os riscos inerentes às mensagens demagógicas e perigosas, em que os avanços científicos e técnicos podem surgir como panaceias, induzindo uma falsa tranquilidade. Um exemplo recente destes perigos é que ao esclarecimento rigoroso e preocupado de salientar a importância da idade da mulher como um elemento essencial no prognóstico do sucesso reprodutivo, sejam apresentadas “soluções”, como a congelação dos ovócitos, que podem induzir a mulher a adiar tranquila mas perigosamente a sua gravidez.

A exaltação à competência rigorosa dos profissionais, não só nos actos que praticam mas também na informação que divulgam, e às medidas profiláticas decorrentes dos comportamentos da população (ex: práticas de vida saudável e a mulher iniciar a tentativa de gravidez antes dos 30 anos), justifica-se pela possibilidade real de não acrescentar factores de insucesso aos muitos de ordem biológica já inevitavelmente existentes, muitas vezes de combate infrutífero.

Finalmente, a equipa do Centro de Genética da Reprodução expressa o seu agradecimento a todos os que depositam a sua esperança na competência, rigor e dedicação de todos os membros da equipa. O sucesso será sempre o grande objectivo, pela partilha da emoção da alegria com os pacientes e pelo legítimo desejo de prestígio de toda uma estrutura profissional que, quotidianamente, luta para vencer “inimigos biológicos”, muitas vezes poderosos e tantas vezes desconhecidos.

OVÓCITO... ESPERMATOZÓIDE...

A enorme diferença no tamanho e no aparecimento habitualmente solitário (ovócito) e em multidão imensa (espermatozóide) - traduzindo a sua cobardia ou timidez para que de tantos apenas um alcance a ligação desejada. Individualmente portadores de um conteúdo complexo e intraduzível no imediato. O objectivo de transmitir a memória individual mas também da espécie. Elementos que não têm tempo de aprender mas que ambicionam ser o transmissor desta memória, da inteligência e do conhecimento, origem do início mas também do ciclo início-fim, proporcionando a alegria mas também o sofrimento, podendo provocar o efémero mas também sendo veículo potencial de eternização...

Alberto Barros