



*Professor C. Calhaz Jorge
Presidente da SPMR*

Mensagem do Presidente

Este é o primeiro número de um tipo de publicação que se espera vir a ter regularidade semestral. Trata-se de mais um esforço da actual direcção da SPMR no sentido de dinamizar a interacção com os seus associados e tendo sempre em conta o objectivo final da Sociedade de contributo para a actualização de todos na área da Medicina da Reprodução. A versão agora iniciada, com recurso às metodologias técnicas actualmente disponíveis, pretende também conferir ao *site* uma dinâmica que, pese embora os esforços desenvolvidos pelo seu responsável, nunca foi conseguida.

Este primeiro número incluirá textos técnicos de elevado nível resumindo e discutindo de modo integrado artigos relevantes, recentemente publicados, um na área clínica outro na área da embriologia clínica. Estou certo de que a sua leitura será extremamente útil e não posso deixar de realçar e agradecer o esforço efectuado pelos respectivos autores. Continuará a direcção da Sociedade a efectuar convites para novos números deste *Jornal electrónico* mas espero que os agora apresentados constituam também um bom incentivo para que outros associados nos enviem artigos que considerem adequado difundir. Realço, no entanto, que não se pretende transformar este *Jornal* numa nova alternativa para publicar artigos científicos originais. Tão somente partilhar informação seleccionada e comentada.

Para que este tipo de iniciativa possa ter êxito muito dependerá da participação activa de todos os associados aos quais faço um apelo no sentido de proporem todas as alternativas e sugestões que considerarem úteis à manutenção e melhoria do padrão actual.

Aguardo pelas vossas opiniões.

Com cumprimentos cordiais

Carlos Calhaz Jorge

ARTIGO COMENTADO

ESHRE Task Force on Ethics and Law 17: Life style related factors and access to medically-assisted reproduction. *Hum Reprod* 2010; 25: 578-583

Daniela Sobral

HPP, Lisboa

Na Human Reproduction de Março de 2010 foi publicado um artigo da autoria da “ESHRE Task Force on Ethics and Law”(1), sobre os factores relacionados com o estilo de vida e o acesso à Procriação Medicamente Assistida (PMA). Os autores defendem que o estilo de vida é cada vez mais reconhecido como factor determinante do prognóstico na PMA e fazem um resumo das evidências existentes sobre o impacto de três factores relacionados com o estilo de vida (obesidade, tabagismo e consumo de álcool) tanto na reprodução natural como na assistida, discutindo as suas implicações na PMA. A questão central é se os tratamentos de fertilidade em doentes obesos, fumadores ou alcoólicos devem estar condicionados a alterações prévias desses estilos de vida.

Obesidade – Os autores defendem que nos casais afectados por problemas de fertilidade relacionados com a obesidade, a perda de peso pode aumentar a hipótese de uma gravidez natural assim como melhorar os resultados FIV e o prognóstico da gravidez. De acordo com o grupo a obesidade parece ter um efeito negativo tanto na função ovárica como na uterina. As mulheres obesas necessitam de doses mais elevadas de gonadotrofinas nos tratamentos de RMA, a taxa de gravidez é reduzida em 30%, e a taxa de abortos sofre um aumento de 30%. Estas mulheres correm um maior risco de complicações na gravidez e periparto como pré-eclampsia, diabetes gestacional, alterações hipertensivas, doenças tromboembólicas, parto prétermo, macrosomia e aumento das taxas de cesariana. Os filhos de mulheres obesas têm um maior risco de anomalias congénitas como defeitos do tubo neural (aumento de 80%) e anomalias cardiovasculares (aumento de 30%), de serem obesas, de terem complicações ao nascimento e de morte perinatal. Existe alguma evidência que a obesidade materna pode levar a aumento da síndrome metabólico com hipertensão, dislipidémia e intolerância à glicose - “fetal programming hypothesis” – condições fetais que podem predispor a doenças no adulto. Os efeitos da obesidade na infertilidade masculina têm sido menos estudados mas é claro que a obesidade leva a níveis mais baixos de testosterona e a outras anomalias endócrinas, a temperatura escrotal mais elevada e a taxas mais elevadas de disfunção erétil.

Tabaco - O tabaco está associado a compromisso reprodutivo que é dependente da dose. Isto é verdade tanto para as fumadoras activas como para as passivas. O risco de infertilidade pode ser o dobro nas mulheres fumadoras. Vários estudos concluíram que as mulheres fumadoras necessitam de mais tempo para engravidarem, têm menor probabilidade de engravidarem espontaneamente, um maior risco de aborto no 1º trimestre e de outras complicações na gravidez e chegam à menopausa mais cedo. Nos homens fumadores a qualidade do esperma e a sua concentração estão muitas vezes diminuídas, parece também haver danificação do DNA. Estima-se que a maioria dos efeitos reprodutivos do tabaco pode ser revertida após 1 ano de cessação tabágica.

Existem fortes evidências que o tabaco tem um efeito negativo nos resultados da FIV. As mulheres fumadoras necessitam do dobro dos ciclos para conseguirem uma gravidez, sendo este efeito negativo mais marcado nas mulheres mais velhas. O efeito do tabaco no resultado da FIV é comparável ao de um aumento de 10 anos na idade da mulher. O número de anos de tabagismo também tem a sua influência.

Álcool – parece, embora não seja consensual, que o álcool diminui o potencial reprodutivo tanto no homem como na mulher, de um modo dependente da dose, mas que pode acontecer com doses muito baixas como 1 bebida /semana. Os escassos dados sugerem que o consumo de álcool

previamente à punção afecta a colheita de ovócitos, diminui as taxas de gravidez e aumenta as taxas de aborto. O alcoolismo masculino leva a mais abortos espontâneos e a menores taxas de nascimentos vivos. Os efeitos são dependentes e consideravelmente maiores quando o consumo é perto da FIV. Estão descritos efeitos adversos no desenvolvimento embrionário e fetal durante todos os estádios da gravidez. É controverso se existe um nível seguro de bebida durante a gravidez.

O aumento do risco é maior que o esperado com a soma dos factores em separado. Existe um efeito sinérgico altamente significativo e que requer maiores estudos.

Os médicos que trabalham nesta área têm uma dupla responsabilidade para com o casal e a futura criança. Deve ser recusado o tratamento se se considerar que existe um elevado risco para a futura criança. As características dos doentes relacionadas com os estilos de vida como a obesidade, o tabagismo ou o consumo de álcool diferem da idade da mulher uma vez que o impacto na reprodução natural ou assistida pode em princípio ser evitada ou mitigada com alterações do estilo de vida.

Os autores colocam a questão de se se deve deixar ao casal a decisão de avançar para um tratamento com menor taxa de sucesso devido a hábitos que não querem abandonar e se a sua escolha deve ser respeitada. Como profissionais os médicos não podem esquecer que contam com melhores resultados através de alterações dos estilos de vida.

Os interesses da sociedade devem ser respeitados quando a PMA é financiada pelo estado e também no que diz respeito às complicações maternas e neonatais incluindo os possíveis efeitos negativos na saúde a longo termo.

Os autores colocam a questão de se é justo requerer alterações do estilo de vida previamente a tratamento enquanto os casais que engravidam espontaneamente o podem fazer mantendo os seus maus hábitos.

Os autores concluem que condicionar o acesso a PMA a alterações dos estilos de vida só se justifica em casos em que existam evidências suficientes de que, sem essas alterações, as técnicas de PMA levam a elevado risco de perigo para a criança ou o tratamento fique desproporcional em termos de custo – eficácia ou riscos obstétricos. Na maioria dos casos as evidências disponíveis baseiam-se em dados observacionais o que torna difícil justificar a instituição de limites firmes.

Apesar de a obesidade, o tabaco e o alcoolismo ligeiro a moderado poderem todos afectar negativamente as hipóteses da futura criança ter uma vida normal, nenhuma destas condições demonstrou ter elevado risco de dano sério, condição indispensável para recusar o tratamento com vista ao bem-estar da criança.

No que diz respeito a hábitos alcoólicos acima de moderados, o elevado risco de dano para a futura criança está claramente estabelecido e assim a reprodução assistida não deve ser facultada a mulheres que não querem ou não conseguem minimizar o seu consumo de álcool. Nas mulheres alcoólicas com registo crónico de consumos pesados esta pode ser uma contra-indicação adicional dado o impacto psicossocial de ser criado por pais alcoólicos.

Com base na generalização dos achados de que (para mulheres por volta dos 20 anos) o efeito negativo de tabaco no sucesso FIV é comparável ao aumento de 10 anos de idade, há quem defenda que se baixe o limite de idade para 30 a 34 anos nas grandes fumadoras. Isto na presunção de que com essa idade as taxas de sucesso são tão baixas como numa mulher não fumadora de 40 anos.

É discutido como se faria o controlo, fácil no caso da obesidade mais complexo nos outros casos.

Os médicos de fertilidade devem avisar os seus pacientes de que a diminuição de peso e do número de cigarros pode ter importantes efeitos benéficos em termos de reprodução e devem apoiá-los no sentido de obter esses objectivos.

Em relação ao álcool as doentes devem ser avisadas de que, dados os conhecidos perigos do álcool na gravidez, é melhor errar para o lado da segurança e assim é preferível a abstinência. Tendo em vista os riscos para a futura criança, os médicos de fertilidade devem recusar

tratamento a mulheres que bebam mais que o moderado e que não queiram diminuir o consumo de álcool.

Em relação à obesidade e ao tabagismo são necessários mais dados de modo a estabelecer se a PMA deve ser condicional a alteração prévia dos estilos de vida (e se sim, onde deve ser o limite). No entanto os dados existentes parecem sugerir que tratar mulheres com obesidade grave ou mórbida requer uma justificação especial.

Uma vez que, com base em evidência existente, o efeito positivo da perda de peso e da cessação tabágica pode ser assumido razoavelmente, os médicos de fertilidade devem insistir para que se faça um esforço sério para conseguir esses resultados antes de se avançar para tratamento. No entanto, como isto implica um atraso de tempo tal não deve ser exigido a mulheres que estão perto do fim do seu período fértil.

Quando os médicos de fertilidade tornam a realização de tratamentos de procriação assistida condicional a alterações do estilo de vida devem ajudar os casais na obtenção desses objectivos.

São necessários mais dados científicos sobre os efeitos reprodutivos da obesidade, tabaco e álcool e de outros factores relacionados com estilos de vida. Os médicos de fertilidade têm a responsabilidade de contribuir para mais investigação científica nesta área.

Este é um assunto actual e muito controverso. Alguns autores com S. Pandey (2) são de opinião que utilizar o IMC como critério de exclusão para a PMA pode ser estigmatizante e levar a injustiça e tensão social. São de opinião que a perda de tempo e a baixa taxa de sucesso dos programas de perda de peso vão pôr em risco a hipóteses de gravidez destas mulheres. Outros autores como Koning (3) defendem que as mulheres obesas têm uma probabilidade reduzida de ter sucesso nos tratamentos de fertilidade e que as gravidezes são mais complicadas e com maiores custos.

Bibliografia

- 1) ESHRE Task Force on Ethics and Law 17: Life style related factors and access to medically-assisted reproduction. *Hum Reprod* 2010; 25: 578-583.
- 2) S. Pandey, A. Maheshwari, and S. Bhattacharya Should access to fertility treatment be determined by female body mass index? *Hum Reprod* 2010; 25: 815 - 820.
- 3) A.M.H. Koning, W.K.H. Kuchenbecker, H. Groen, A. Hoek, J.A. Land, K.S. Khan, and B.W.J. Mol Economic consequences of overweight and obesity in infertility: a framework for evaluating the costs and outcomes of fertility care. *Hum Reprod Update* 2010; 16: 246-254.

EDITORIAL POR CONVITE

Biópsia embrionária com remoção de 1 ou 2 células?

Sara Pimentel e Carlos E. Plancha

Cemeare, Lisboa

O Diagnóstico Genético Pré-Implantatório (DGPI) é uma técnica utilizada para análise genética e cromossómica dos embriões anteriormente à sua transferência para o útero. Com esta técnica, embriões portadores de alterações genéticas são detectados antes de ocorrer implantação, evitando-se a gravidez e a conseqüente necessidade de realização de um aborto terapêutico devido a existência de doença genética no feto.

Na maior parte dos centros onde esta técnica é aplicada, é efectuada uma biópsia embrionária com remoção de 1 ou 2 blastómeros, seguida da transferência selectiva dos embriões não afectados pela alteração genética avaliada.

Em 2004, foram apresentadas pelo grupo responsável pelo DGPI da Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia (ESHRE PGD Consortium) as *Guidelines* que procuram estandardizar os procedimentos associados a este tipo de tratamento tornando-o o mais eficaz possível. Embora nesse documento sejam elaboradas recomendações relativas ao tipo de células a biopsar, e até às técnicas de remoção das mesmas, não há recomendações relativamente ao número de células biopsadas. Desta forma, a decisão de remover um ou dois blastómeros tem permanecido uma questão de intenso debate.

A decisão entre remover 1 ou 2 células deve ser resultado do balanço entre a garantia de obtenção de um diagnóstico preciso do embrião biopsado, e a optimização da probabilidade de gravidez, devendo-se para tal salvaguardar a capacidade de implantação do embrião. Se por um lado a remoção de 2 células permite ultrapassar limitações das técnicas de FISH e PCR utilizadas no DGPI, aumentando o grau de confiança do diagnóstico, o risco de danos no embrião é mais elevado. Por outro lado, os avanços técnicos na realização das análises genéticas vieram trazer mais segurança aos seus resultados, permitindo a remoção de apenas 1 célula, um procedimento menos invasivo para o embrião.

Estudos recentes (Gossens et al, 2008) demonstraram que a remoção de 2 células diminuía a probabilidade de formação de blastocistos, porém, quando avaliados os resultados clínicos das transferências nas duas situações, não foram observadas diferenças. Torna-se assim importante tentar perceber se a diminuição da qualidade dos embriões e da sua capacidade de implantação se reflecte em diferenças significativas na obtenção de gravidez e no nascimento de bebés. De forma a avaliar o verdadeiro impacto que a biópsia de 1 ou 2 células tem sobre o desenvolvimento do embrião e a sua capacidade de implantação, em Setembro de 2009, foi publicado na *Human Reproduction* (De Vos et al, 2009) um novo trabalho do mesmo grupo, que comparava os resultados clínicos obtidos de SETs (Single Embryo Transfers) de blastocistos ao dia 5, provenientes de embriões de 8 células (dia 3) em que foi realizada biópsia de 1 ou 2 blastómeros. Os resultados dos dois grupos biopsados foram ainda comparados com um grupo controlo (transferências de blastocisto único ao dia 5, sem realização de biópsia embrionária), que permitiu avaliar o impacto da biópsia sobre o embrião, independentemente do número de células removidas.

O primeiro aspecto relevante a referir está relacionado com a distribuição do teste genético utilizado e indicação para biópsia consoante os grupos. Na população estudada, o grupo correspondente à remoção de 1 único blastómero (grupo I) incluía na sua maioria casos de PGS (com utilização da técnica de FISH). O segundo grupo incluía na sua maioria casos de DGPI (com utilização das técnicas de PCR e FISH), com necessidade de obtenção de um diagnóstico mais inequívoco. A variação na distribuição dos dois grupos reflectiu-se no número de embriões transferíveis (sem anomalia), significativamente superior no grupo I em relação ao grupo II, onde a aplicação do DGPI é mais exigente. Um tratamento estatístico adequado permitiu que não houvesse enviesamento dos valores pela variabilidade na distribuição, permitindo uma validação adequada dos resultados obtidos para os dois grupos.

A avaliação dos resultados foi feita em quatro etapas diferentes. Numa primeira etapa foram comparadas as características gerais dos ciclos nos dois grupos, não se tendo observado diferenças significativas entre os dois grupos de biópsia, nomeadamente no que se refere à idade da mulher, número de oócitos obtidos, número de oócitos inseminados, número de fertilizados correctamente e número de embriões com 8 células obtidos ao dia 3. No que se refere à técnica de biópsia, o número de embriões biopsados foi semelhante nos dois grupos, verificando-se que apenas existia diferença no número de embriões transferíveis, situação já acima mencionada. Numa segunda etapa, foram comparados os resultados referentes à qualidade dos embriões no Dia 3, nomeadamente quanto ao grau de fragmentação e ao número de blastómeros, sendo que não foram observadas diferenças entre os dois grupos. Contudo, no que se refere ao estadio de desenvolvimento, no grupo III (controlo) foi observado um número significativamente superior de embriões com 8 células e significativamente inferior de embriões com um número baixo de células (<5 células), diferenças porém não relacionadas com a biópsia.

Após biópsia, foi analisado o desenvolvimento até ao dia 5 dos embriões de 8 células biopsados, com formação de blastocistos. Não foram observadas diferenças significativas entre os dois grupos no que se refere à taxa de formação de blastocistos. De salientar porém, que no grupo II, a formação de blastocistos foi significativamente inferior à observada no grupo controlo, situação que não acontece no grupo I. Aparentemente, com a remoção de uma única célula, obtêm-se os mesmos resultados que nos casos sem biópsia, pelo que os efeitos adversos sobre o embrião e a sua capacidade implantatária poderão ser minimizados nessas condições. Finalmente, foram avaliados os resultados clínicos resultantes das transferências de blastocistos nos três grupos, nomeadamente, taxas de gravidez e nados vivos. De Vos e colaboradores concluíram que é a este nível que o número de células biopsadas parece revelar uma influência mais decisiva. Ou seja, o número de células biopsadas parece ter influência sobre a capacidade do embrião para originar gravidez e nascimentos.

Assim, verificou-se uma taxa de gravidez significativamente superior no grupo I (com remoção de 1 célula) comparativamente ao grupo II (com remoção de 2 células), o mesmo acontecendo com a taxa de nados vivos. Com base nos resultados obtidos os autores puderam concluir que os embriões que perdem 2 células têm um potencial de implantação 40% inferior aos embriões com perda de 1 única célula. Interessante também é a aproximação dos resultados do grupo I aos obtidos com o grupo controlo, que vem contrariar a hipótese de que a micromanipulação da zona pelúcida ou do próprio embrião durante a biópsia influenciaria o seu desenvolvimento. Igualmente interessante é o resultado que se refere à taxa de bebés nascidos, em que no grupo II parece haver maior ocorrência de abortos, quando comparado com o grupo I ou com o grupo controlo. Embora o autor não apresente explicação para esta diferença, este resultado suscita uma discussão estimulante.

Outro aspecto importante presente no artigo foi a avaliação do tipo de transferência realizado nos dois grupos. Temos situações em que no momento da transferência, existe um único blastocisto transferível, tornando-a não electiva, e estas foram mais comuns no grupo II, dada a exclusão de um maior número de embriões nestas indicações. Nos casos em que estão disponíveis mais do que um blastocisto transferível, a opção pela transferência ser electiva poderá também depender da qualidade embrionária após biópsia. O facto de, nestes casos, serem realizadas mais transferências electivas no grupo I pode indicar um melhor desenvolvimento dos embriões após biópsia de 1 única célula. Esta vantagem associada aos blastocistos ao dia 5 provenientes desses embriões parece reflectir-se em resultados clínicos mais eficazes, com mais altas taxas de nados vivos.

Em conclusão, os resultados apresentados neste estudo indicam que a biópsia de 2 células tem um impacto negativo e significativo sobre os resultados clínicos obtidos. Estudos anteriores apontaram para que a remoção de 2 células possa diminuir a potencialidade do embrião, enquanto que a biópsia de 1 única célula poderia diminuir a eficácia da técnica de diagnóstico molecular (Goossens et al, 2008). Desta forma, a recomendação para biópsia de 1 única célula deve ser feita de forma cautelosa e restringir-se a situações em que a técnica assegure um diagnóstico preciso, uma situação possível graças aos avanços a nível das técnicas aplicadas. Tendo em conta a carga física, emocional e financeira dos casais que realizam um ciclo de DGPI, os vários passos da técnica devem ser o mais eficiente possível de forma a garantir a maior probabilidade de gravidez

associada a menor risco de erro no diagnóstico. A decisão entre remover 1 ou 2 células deve continuar a ser baseada em vários factores, nomeadamente a indicação para biópsia embrionária, o número de células e qualidade dos embriões na altura da realização da biópsia, e o grau de exigência da técnica de diagnóstico utilizada.

Bibliografia

De Vos A, Staessen C, De Rycke, Verpoest W, Haentjens P, Devroey P, Liebaers I, De Velde V. Impact of cleavage-stage embryo biopsy in view of PGD on human blastocyst implantation: a prospective cohort of single embryo transfers. *Hum Reprod* 2009, **24**:2988-2996

Thornhill AR, deDie-Smulders CE, Geraedts JP, Harper JC, Harton GL, Lavery SA, Moutou C, Robinson MD, Schmutzler AG, Scriven PN et al. ESHRE PGD Consortium 'Best practice guidelines for clinical preimplantation genetic diagnosis (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS)'. *Hum Reprod* 2005; **20**:35-48.

Goossens V, De Rycke M, De Vos A, Staessen C, Michiels A, Verpoest W, Van Steirteghem A, Bertrand C, Liebaers I, Devroey P et al. Diagnostic efficiency, embryonic development and clinical outcome after the biopsy of one or two blastomeres for preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod* 2008; **23**:481-492.