

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
SISTEMA UNIVERSIDADE ABERTA DO BRASIL
CURSO LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS EAD

Ezieli Zillmer

**A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ IMPLANTACIONAL (PGT)
PARA A REPRODUÇÃO HUMANA**

PATO BRANCO – PR
2021

Ezieli Zillmer

**A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ IMPLANTACIONAL (PGT)
PARA A REPRODUÇÃO HUMANA**

Projeto de monografia apresentado ao curso de
Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Santa Catarina - SC
Orientadora: Juliana Dal-Ri Lindenau

PATO BRANCO – PR
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Zillmer, Ezieli

A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ IMPLANTACIONAL
(PGT) PARA A REPRODUÇÃO HUMANA / Ezieli Zillmer ;
orientadora, Juliana Dal-Ri Lindenau , 2021.
27 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis,
2021.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Projeto de monografia
apresentado ao curso de Licenciatura em Ciências
Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina - SC
. 3. Na reprodução humana assistida existem procedimentos
que buscam aprimorar cada vez mais as técnicas visando
aumentar as chances de uma gestação com sucesso. Dentro do
tratamento de Fertilização in Vitro existe uma técnica
específica chamada biópsia embrionária para diagnóstico
genético pré-implantacional, onde os embriões são
analisados antes de serem inseridos no útero materno.. I.
Dal-Ri Lindenau , Juliana . II. Universidade Federal de
Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

Ezieli Zillmer

**A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ IMPLANTACIONAL (PGT)
PARA A REPRODUÇÃO HUMANA**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Licenciado em Ciências Biológicas” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Ciências Biológicas.

Florianópolis, 25 de junho de 2021.

Profa. Dr. Viviane Mara Woehl
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Profa. Juliana Dal-Ri Lindenau
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Msc. Fernanda Souza Peruzzato
Avaliadora
Programa de Pós- Graduação em Biologia Celular
e do Desenvolvimento (PPGBCD/UFSC)

Msc. Tiago Fernando Chaves
Avaliador
Programa de Pós- Graduação em Biologia Celular
e do Desenvolvimento (PPGBCD/UFSC)

Este trabalho é dedicado a mim, que sei dos meus desafios e lutas para concluir este curso, dedico também a minha filha Alice que me inspira a ser um indivíduo melhor e buscar evoluir a cada dia, aos meus pais Arnaldo e Edenir, que contribuem para esse processo de crescimento, aos meus colegas de classe, as minhas amigas e mentoras Lilian Parzianello e Martina Cordini que me incentivam e apoiam nessa busca de aprendizado e conhecimento, a todos os meus professores desta graduação que fizeram o possível para chegarmos até aqui, a todos esses e demais não citados que estiveram ao meu lado em todos os momentos dessa jornada, com carinho e compreensão por todas as fases vividas nesse percurso.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Arnaldo e Edenir, por todos os valores a mim ensinados, por estarem ao meu lado incentivando e apoiando.

A minha filha Alice, que é a minha inspiração e motivação para busca de conhecimentos e crescimento.

As minhas amigas e mentoras Lilian e Martina por terem acreditado em minha capacidade durante toda essa jornada, não medindo esforços para que eu chegasse até aqui, e sempre me incentivando a continuar.

A minhas amigas Jaqueline e Gisele, que nos momentos em que pensei em desistir, me motivaram e me incentivaram a continuar no percurso.

A minha professora e orientadora Juliana Dal-Ri Lindenau, por me aceitar e me orientar nesse projeto, disponibilizando tempo e atenção, sempre disposta a contribuir durante a execução desse trabalho.

GRATIDÃO!

RESUMO

Na reprodução humana assistida existem procedimentos que buscam aprimorar cada vez mais as técnicas visando aumentar as chances de uma gestação com sucesso. Dentro do tratamento de Fertilização *in Vitro* existe uma técnica específica chamada biópsia embrionária para diagnóstico genético pré-implantacional, onde os embriões são analisados antes de serem inseridos no útero materno. Este procedimento também recebe o nome de Diagnóstico Pré-Implantacional (PGT) e o objetivo desta técnica é diagnosticar nos embriões a existência de alguma doença genética ou alteração cromossômica antes de dar continuidade ao processo. O objetivo deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica sobre este assunto de modo a divulgar sobre esta técnica, e qual sua importância dentro da reprodução humana assistida. Considerando a ampla utilização da técnica e sua crescente importância na área da reprodução assistida, é essencial fundamentar conhecimentos sobre o tema. Os resultados deste estudo comprovaram a importância e os benefícios do uso do Diagnóstico Genético Pré-Implantacional para a identificação de determinadas alterações que tornam inviável a vida fetal. Pois ele é significativamente importante para o aumento das taxas de sucesso na concepção de embriões transferidos decorrente do tratamento da reprodução assistida. Contudo, apesar das vantagens e benefícios apresentados durante esta revisão de literatura, sugere-se que para melhor aplicabilidade das técnicas são necessários mais estudos e pesquisas com uma melhor abordagem para cada caso, e, partindo de um aconselhamento genético, ter condições de avaliar qual o melhor procedimento a ser feito.

Palavras-chave: Reprodução Humana Assistida; Diagnóstico Genético Pré-Implantacional; Alterações cromossômicas; Fertilização *in vitro*.

ABSTRACT

In assisted human reproduction, there are procedures that seek to improve techniques more and more in order to increase the chances of a successful pregnancy. Within the treatment of In Vitro Fertilization there is a specific technique called embryonic biopsy for pre-implantation genetic diagnosis, where the embryos are analyzed before being inserted into the maternal uterus. This procedure is also called Pre-Implantation Diagnosis (PGT) and the purpose of this technique is to diagnose in embryos the existence of any genetic disease or chromosomal alteration before continuing the process. The objective of this work is to carry out a wide bibliographic review on this subject in order to divulge about this technique, and what is its importance within assisted human reproduction. Considering the wide use of the technique and its growing importance in the area of assisted reproduction, it is essential to substantiate knowledge on the subject. The results of this study proved the importance and benefits of using the Pre-Implantation Genetic Diagnosis to identify certain changes that make fetal life unfeasible. Because it is significantly important for increasing the success rates in the conception of transferred embryos resulting from the treatment of assisted reproduction. However, despite the advantages and benefits presented during this literature review, it is suggested that for better applicability of the techniques, more studies and research are needed with a better approach for each case, and, starting from genetic counseling, be able to assess which the best procedure to be done.

Keywords: Assisted Human Reproduction; Pre-implantation genetic diagnosis; Chromosomal changes; In vitro fertilization.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA -Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CFM -Conselho Federal de Medicina
RHA – Reprodução Humana Assistida
RA – Reprodução Assistida
PGT -Diagnóstico Genético Pré Implantacional
FIV -Fertilização *In Vitro*
ICSI – Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides
SBRA -Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida
SISEMBRIO -Sistema Nacional de Produção de Embriões
DGPI - Diagnóstico Genético Pré-implantacional
DMD – Distrofia Muscular Duchenne
IMA – Idade Materna Avançada
PCR – Proteína C-Reactiva
NGS – Sequenciamento de Nova Geração
a-CGH – Microarray-based comparativa genomic hybridization
FIHS – Avaliação Genética do Espermatozóide

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 FERTILIZAÇÃO <i>IN VITRO</i>	13
1.2 DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRE-IMPLANTACIONAL	14
2 JUSTIFICATIVA	16
3 OBJETIVOS	16
3.1 Objetivo Geral	16
3.2 Objetivos Específicos	17
4 METODOLOGIA	17
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	17
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
7 REFERÊNCIAS	25

1 INTRODUÇÃO

Os avanços nas ciências médicas são extraordinários, e a área de reprodução humana assistida tem constantemente evoluído (SOUZA; ALVES, 2016). Isso se deve principalmente ao fato de a infertilidade estar aumentando no mundo, e a busca por técnicas que possam auxiliar na realização de uma gestação saudável só vem crescendo (ORTIZ et al., 2019). A infertilidade é vista pela maior parte dos autores como um impedimento que um sujeito enfrenta em se reproduzir, sem o uso de métodos contraceptivos, considerando-se um casal em idade fértil, que mantenha relações sexuais regulares e frequentes e, ainda assim, depois de um prazo de 12 a 18 meses não conseguem gerar um filho. Trata-se de um acontecimento universal que vai além de questões culturais ou sócio econômicas e que atinge cerca de 8 a 15% da população mundial (SILVERBERG et al., 2015).

Segundo dados apresentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa (2018) o número de pessoas que recorrem a um especialista em reprodução humana tem aumentado nos últimos anos. Segundo levantamento da agência, as clínicas de reprodução assistida realizaram no ano de 2018 aproximadamente 43.098 ciclos de fertilização *in vitro*, um aumento de 18.7% em relação ao ano anterior (BRASIL, 2018).

Destaca-se que apesar de parecer ser um ato muito simples, a reprodução humana pelo modo natural pode se tornar uma grande dificuldade ou até um desafio para alguns casais. Essa dificuldade tem sido superada através do desenvolvimento de pesquisas, de novas tecnologias e com o avanço da ciência, permitindo que muitos desses casais consigam realizar o sonho de gerar uma prole.

O desenvolvimento embrionário inicia após a fertilização do gameta feminino pelo gameta masculino. Esta é uma fase crítica para o desencadeamento de condições genéticas de cunho cromossômico, uma vez que há uma intensa proliferação celular no início do período embrionário. Cada vez que a célula recebe sinalização para se dividir, o material genético do indivíduo precisa se condensar rapidamente para que o processo de segregação ocorra de forma eficiente e cada célula filha receba a quantidade adequada de material genético. Neste contexto, podem ocorrer erros durante este processo que desencadeiam um desbalanceamento na quantidade de material genético ou na estrutura do material genético, o que denominamos de alterações cromossômicas.

A grande maioria das alterações cromossômicas que são desencadeadas durante este processo são altamente deletérias e, conseqüentemente, incompatíveis com a vida. Portanto, a maioria dos embriões que apresentam estas alterações são perdidos durante o processo de embriogênese, levando a altas taxas de abortos espontâneos. Dentre as alterações que permitem que a gestação evolua, existem aquelas que são capazes de causar problemas no desenvolvimento

levando a fenótipos de síndrome cromossômica. Pouquíssimas síndromes cromossômicas são compatíveis com a vida e, dentre elas, a mais prevalente é a síndrome de Down que se trata de uma trissomia do cromossomo 21, ou seja, o indivíduo possui, na maioria dos casos, 3 cópias deste cromossomo ao invés das 2 cópias que são normalmente observadas (CORRÊA; STROPARO, 2015).

A maior parte dos pacientes aneuplóides apresenta trissomia ou menos frequente monossomia. Quando ocorre o erro na meiose II os gametas anormais contêm duas cópias de um cromossomo parental e nenhuma cópia do outro, ou não tem um cromossomo. (CORRÊA; STROPARO, 2015).

Além das possíveis alterações cromossômicas citadas, temos que considerar o *background* genético dos progenitores que possui uma probabilidade de ser transmitido para o embrião. Neste contexto, se um dos genitores for portador de alguma alteração genética que desencadeia uma condição patológica, o embrião pode também ser portador dessa mesma mutação e apresentar o mesmo fenótipo. Como exemplos de condições onde isto se aplica, temos a anemia falciforme e a fibrose cística (MARIN; RICARDO; SGAMBATTI, 2013). Cabe ressaltar que muitas vezes os pais podem não apresentar o fenótipo da doença, mas serem portadores de alelos que desencadeariam a mesma, e transmitir essas variantes a sua prole que passa a ser afetada. Este é o caso de condições relacionadas com mutações autossômicas recessivas e as síndromes de imprinting genômico.

A determinação sobre o fenótipo afetado e não afetado se dá através da combinação genotípica que o embrião apresenta, portanto, os alelos que são transmitidos pelos dois progenitores precisam atuar juntos para sabermos como será o fenótipo do embrião. Consequentemente, o conhecimento sobre o padrão de herança dessas alterações genéticas (isto é, se a mutação é dominante ou recessiva) é essencial para conseguirmos determinar o risco de termos um embrião afetado por essas condições.

Atualmente a técnica de detecção embrionária é definida como teste genético pré-implantacional (PGT). Essa técnica permite a identificação de possíveis doenças genéticas no embrião antes da sua transferência para a cavidade do útero.

O Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (PGT) é um procedimento de biópsia embrionária, que possibilita aos casais a oportunidade de investigar alterações cromossômicas antes da implantação do embrião, através da extração de células germinativas que são submetidas a um método de análise (BIAZOTTI et al., 2015). Neste sentido, considerando o explanado acima em relação a importância das alterações cromossômicas para o sucesso gestacional, esta técnica torna-se, em muitas situações, essencial para que os casais consigam realizar o sonho da reprodução humana.

1.1 FERTILIZAÇÃO *IN VITRO*

Ao longo dos anos, o número de bebês gerados em clínicas de Reprodução Humana Assistida (RHA) aumentou consideravelmente. No Brasil, de acordo com 13º relatório do Sistema Nacional de Produção de Embriões (SisEmbrio) em 2019 foram realizados 44.663 ciclos de Fertilização *in vitro* (FIV), representando um crescimento de mais de 800 ciclos em relação ao ano de 2018 (ANVISA, 2020)

A Fertilização *in vitro* – FIV, é uma das técnicas mais recomendadas no tratamento de infertilidade de casais, uma vez que problemas relacionados à infertilidade masculina e feminina acabam impossibilitando alguns casais de gerarem filhos, levando à procura de auxílio das técnicas em reprodução humana assistida (FISCHER, 2013).

A FIV consiste no estímulo à produção ovariana da mulher, para que haja mais oócitos em comparação aqueles que são produzidos durante um ciclo natural. Em seguida é realizada a captação dos óvulos através de punção guiada por ultrassom transvaginal e esses óvulos são fertilizados pelos espermatozoides em laboratório. Portanto, a fecundação do óvulo pelo espermatozoide é realizada manualmente em laboratório, formando o zigoto, que pode ser transferido ao útero da paciente, objetivando o sucesso da implantação embrionária e que a gestação evolua adequadamente. Além da dificuldade em se reproduzir de forma natural, há casais que ainda enfrentam condições genéticas que podem ser transmitidas para seus descendentes, e muitos casos hoje de anomalias cromossômicas podem ser detectados pelas técnicas de biópsia embrionária (TRINDADE, 2020).

Para auxiliar na prevenção de falhas no tratamento de reprodução humana assistida, a técnica de biópsia embrionária é utilizada para investigação e estudo cromossômico e/ou genético do embrião proveniente de uma Fertilização *in vitro*. Trata-se de um exame em que se observa qualquer mudança ou comportamento incomum das células humanas, técnica essa conhecida como PGT (Diagnóstico genético pré-implantacional). Atualmente o estudo genético embrionário é definido como teste genético pré-implantacional (PGT). Essa técnica permite a identificação de possíveis doenças genéticas no embrião antes da sua transferência para a cavidade do útero, pois ao observar as células é possível estudar os cromossomos presentes e avaliar se existe alguma alteração capaz de gerar falhas no tratamento, aborto espontâneo ou prevenir desenvolvimento e nascimento de bebês com problemas oriundos de alterações genéticas (ORÍÁ; XIMENEZ, 2004; AQUINO; MARTINHAGO, 2015).

1.2 DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRE-IMPLANTACIONAL

O Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (PGT), 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 nas células embrionárias antes do embrião ser transferido para o útero materno. Como são retiradas apenas algumas células do embrião este não sofre prejuízos e segue seu desenvolvimento normalmente (GARDNER; SUTHERLAND; SHAFER, 2012).

O Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (PGT) se destaca por ser um método de biópsia embrionária que permite aos casais a possibilidade de investigar alterações cromossômicas em processos de RHA, antes da implantação do embrião, através da extração de células que são submetidas a um método de análise (ARAÚJO; CARDOSO, 2020). Este procedimento é indicado pela sua eficiência na seleção de embriões, com um maior potencial de implantação e aumento nas taxas de crianças nascidas vivas e saudáveis (GARDNER; SUTHERLAND; SHAFER, 2012).

Este procedimento (DPGI) é sugerido aos casais com mais de 35 anos, que tenham em seu histórico sucessivos abortos espontâneos, além de serem portadores ou já terem filhos que tenham algum tipo de anomalia cromossômica (ARAÚJO; CARDOSO, 2020). Pais portadores de rearranjos cromossômicos balanceados, também conhecidos como translocações equilibradas, normalmente têm histórico de abortos repetidos e um ou mais diagnósticos pré-natais de cariótipos alterados. Nesse caso, o PGD é altamente recomendado (TELES, 2011).

Diante disso, para o diagnóstico e prevenção das diversas alterações cromossômicas que podem acontecer em seres humanos, existem algumas alternativas para obtenção de células para realização da biópsia embrionária pré-implantacional (SEPÚLVEDA; PORTELLA, 2012). Sendo que a biópsia do blastômero é a mais usada pelos profissionais da saúde. Realizada no terceiro dia de desenvolvimento do embrião, fase em que já existem entre seis a oito células. Mesmo com a retirada de uma célula para análise, o embrião se desenvolve regularmente e mantém sua evolução de forma saudável graças aos seus blastômeros, que nessa etapa são todos totipotentes (ARAÚJO; CARDOSO, 2020).

O DGPI na atualidade divide-se em duas subcategorias que evidenciam objetivos e protocolos diversos. O DPGI para doenças monogênicas (PGT-M ou PGD), cuja finalidade é a detecção de mutações genéticas, e a Screening Genético Pré-Implantacional (PGT-A ou PGS) que detecta alterações cromossômicas no cariótipo. Contudo, para que essas avaliações sejam possíveis é preciso que se faça a biópsia embrionária, diferenciando de acordo com a escolha do método de tratamento (PALMOROLA et al., 2019).

As biópsias embrionárias se destacam pela sua relevância para os processos uma vez que, a partir delas, pode-se fazer a análise do material genético (CIMADOMO et al., 2016), sendo três as formas de realização, diferenciando-se entre eles na quantidade de dias e células disponíveis para cada método de retirada celular embrionária. Porém, só é aceitável retirar células embrionárias com o cumprimento das técnicas de reprodução assistida (CIMADOMO et al., 2016).

O diagnóstico genético pré-implantacional possibilita que se identifiquem certas alterações que inviabilizam a vida fetal. Ele é importante para o aumento das taxas de sucesso na concepção dos embriões transferidos decorrente do tratamento de reprodução assistida (CANTAHEDA, 2020). Estudos realizado por Pompeu e Verzeletti (2015) indicam que atualmente não há efeitos deletérios sobre os embriões que sofreram biópsia. No Brasil o PGT é visto como uma ferramenta no auxílio da reprodução humana assistida e apresenta questões éticas ainda em discussão.

Em relato de caso de diagnóstico genético pré-implantação revelou-se que dois embriões herdaram a mutação materna no gene *DMD* que desencadeia a distrofia muscular de Duchenne, um embrião tinha uma alteração cromossômica que desencadeava síndrome de Down e cinco embriões eram normais. O *DMD* é uma mutação pontual no gene, localizado no cromossomo X, enquanto a trissomia do cromossomo 21 (Síndrome de Down) resulta de alterações numéricas, portanto, essas condições exigem o uso de técnicas diferentes para detecção. Um blastocisto foi transferido e resultou em gravidez bem sucedida. Os outros embriões continuaram vitrificados. Ao final, os autores concluíram que a análise embrionária utilizando técnicas associadas mostrou-se segura para a seleção de embriões em casos de doenças ligadas ao X, como a distrofia muscular de Duchenne, e para casos de Síndrome de Down (BIANCO et al., 2017).

1.3 DOENÇAS GENÉTICAS/MUTAÇÕES DE ORIGEM CROMOSSOMICA

As origens do termo doença genética remontam ao final do século XIX e início do XX, em que a doença comum entre familiares era vista como uma “predisposição familiar”, essa explicação foi alterada para a visão de que essas doenças tem causas específicas, tendo a genética fornecido pistas para os padrões de transmissão da doença (LOWY, 2018). Com a Síndrome de Down, a partir de 1959, a genética das patologias congênitas começou a ser explicada pelos cientistas através de anomalia cromossômica e, após, houve o desenvolvimento de testes para se diagnosticar outras patologias hereditárias (LOWY, 2018).

Os usos científicos e a aplicação prática dos estudos dos cromossomos revolucionaram a genética humana, mas também a medicina. Os médicos passaram a observar que a genética clínica é

tão importante para o entendimento da patologia humana quanto a anatomia e a fisiologia. A descrição das implicações clínicas da presença de um número anormal de cromossomos fez com que os cientistas passassem a distinguir as doenças congênitas determinadas como "genéticas", uma vez que eram causadas por alterações no material genético do óvulo fertilizado, e presentes em todas as células do corpo e aquelas definidas como "hereditárias" porque foram transmitidas por um ou ambos os pais (HOGAN, 2016).

2 JUSTIFICATIVA

O diagnóstico genético pré implantacional congrega distintas técnicas para a análise de prováveis alterações cromossômicas em embriões *in vitro*, selecionando somente aqueles geneticamente normais para serem transferidos. Por ser uma técnica considerada menos invasiva do que outras existentes têm sido utilizada como ferramenta na terapia gênica.

Por isso, justifica-se a realização deste tipo de abordagem e busca-se com estas técnicas saber se existe alguma alteração genética ou cromossômica e, desta forma, evitar uma gestação de risco e o desenvolvimento de um feto com anomalias genéticas, cromossômicas ou congênitas. É de interesse consolidar os conhecimentos sobre este tema, visto sua grande complexidade para a sociedade em geral, principalmente levando-se em conta as crescentes taxas de infertilidade relatadas anteriormente. Portanto, trata-se de uma questão biológica relevante da saúde pública.

Para tanto, foram conduzidas pesquisas em fontes bibliográficas que contenham informações sobre a técnica e questões éticas relacionadas ao PGD, onde se enfatiza a relevância do procedimento para diagnóstico de alterações genéticas e mutações cromossômicas por meio de biópsia embrionária. Pretende-se com este estudo contribuir com elementos novos, que possam lançar luz e trazer esclarecimentos sobre a questão aqui apresentada.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Evidenciar a importância do diagnóstico das mutações genética e cromossômica para a reprodução humana através do procedimento de PGD-Biópsia Embrionária através de uma revisão bibliográfica.

3.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos do trabalho foram:

- a) Apresentar dados históricos sobre reprodução humana e a técnica de Fertilização *in Vitro*;
- b) Explanar sobre a técnica utilizada para Diagnostico Genético Pré-Implantacional;
- c) Relatar a importância e os benefícios do uso desta técnica dentro da reprodução humana assistida na detecção de doenças genéticas/alterações cromossômicas.

4 METODOLOGIA

A metodologia do presente trabalho foi baseada em uma revisão bibliográfica tendo como principais fontes artigos, dissertações, teses, livros, diretrizes dos conselhos de classe, como o CRM (Conselho Regional de e Medicina), e a legislação vigente sobre o tema abordado e outras documentações eletrônicas vinculadas às bases de dados como SciELO (*Scientific Eletronic Library Online*), Google Acadêmico, OMIM – (*Online Mendelian Inheritance in Man*) usando as seguintes palavras-chave: Diagnóstico Genético; Alteração cromossômica, Biopsia embrionária; Pré-Implantacional; FIV – Fertilização *in vitro*.

Foi apresentado sobre o tema as técnicas atualmente disponíveis de Diagnóstico Genético Pré-Implantacional, bem como suas finalidades e indicações.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Através da utilização das palavras-chaves selecionadas nas diferentes fontes consultadas, foram obtidos inicialmente para este estudo 29 artigos. Após uma breve leitura dos mesmos, excluiu-se aqueles que eram somente resumos, ou não tivessem objetivo semelhantes ao deste estudo, excluiu-se 18 artigos, reduzindo a quantidade para 11 artigos, que estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Artigos selecionados para o estudo

n.	AUTOR	TITULO DO ARTIGO	OBJETIVO DO ARTIGO	ANO
1	Araújo e Cardoso	A importância do procedimento de PGT-Biópsia embrionária para diagnóstico de mutações de origem cromossômica	Relatar a pertinência do PGT para investigação de alterações cromossômicas	2018
2	Cardin e Guerra	Do diagnóstico genético pré-implantacional para a seleção de embriões com fins terapêuticos:	Analisar o diagnóstico genético pré-implantacional sob a ótica do bebê-medicamento nascido,	2019

		uma análise do bebê-medicamento	e verificar se os seus direitos da personalidade são respeitados.	
3	Luo et al	Teste genético pré-implantacional para uma família com síndrome de usher por meio de sequenciamento direcionado e análise de haplótipos	Validar a aplicabilidade do sequenciamento de captura direcionada no desenvolvimento de PGT-M personalidade: ensaio clínico	2019
4	SATIRAPOD et al	Utilidade clínica dos métodos combinados de teste genético pré-implantação em casais com risco de transmissão de beta talassemia / hemoglobina E doença: uma revisão retrospectiva de um único centro	Apresentar o resultado clínico do uso de PGT-M e PGT-A combinados em casais com risco de transmissão da doença HbE / β thal. O estudo foi realizado de janeiro de 2016 a dezembro de 2017.	2019
5	PALMEROLA et al	Minimizando o mosaicismo: avaliando o impacto do método de fertilização na taxa de mosaicismo após o teste genético pré-implantação de sequenciamento de última geração (NGS) para aneuploidia (PGT-A)	Avaliar as taxas de euploide, aneuploide e mosaico em amostras de biópsia trofotoderme de embriões em FIV versus ciclos ICSI PGT-A.	2019
6	SCHAEFER et al	Embriões derivados de doadores ou ovócitos de pacientes não são diferentes para os resultados de fertilização in vitro quando a PGT permite a seleção de embriões euplóides: um estudo retrospectivo	Examinar a taxa de aneuploidia e os resultados clínicos de FIV de embriões derivados de doadores ou oócitos de pacientes.	2020
7	Aline Cantenhede	O diagnóstico genético pré-implantacional e as técnicas de reprodução humana assistida	Demonstrar a importância do DGPI para o sucesso das técnicas de reprodução assistida,	2020
8	Lopez-Rioja et al	Estudo genético pré-implantacional para aneuploidias: resultados da transição entre diferentes tecnologias	Relatar os resultados obtidos da análise do estudo genético pré-implantacional para aneuploidias em dois centros de reprodução humana assistida no México em um período de três anos, utilizando duas técnicas moleculares diferentes.	2018
9	Eskew e Jungheim,	Uma história de desenvolvimentos para melhorar a fertilização in vitro	Descrever as melhorias no laboratório de técnicas e avanços sobre a fisiologia reprodutiva	2017
10	Rodrigues et al	Genética na reprodução humana	Analisar o papel da genética na reprodução humana, revisando	2020

			as principais causas genéticas da infertilidade e o uso de teste genético pré-implantação no Brasil.	
11	Capalbo et al	Implementando PGD / PGD-A em clínicas de fertilização in vitro: considerações para a melhor abordagem e gestão laboratorial	Analisar a importância do diagnóstico genético pré-implantação para doenças monogênicas (PGD) e para o teste de aneuploidia (PGD-A)	2016

Fonte: dados da coleta, 2021.

Dentre os artigos mencionados na tabela acima, percebemos que a maioria deles trata de questões envolvendo a técnica e suas aplicabilidades. Dentre esses, temos um grupo de trabalhos focados em revisar princípios e aplicações das técnicas de PGT, onde poderíamos incluir os estudos 7 a 11, por exemplo. Nestes trabalhos percebemos a preocupação em demonstrar a importância e as vantagens da utilização da técnica de forma adequada. Já um outro grupo dentro desta temática seria composto pelos trabalhos 1, 3 a 6, por exemplo, onde percebemos análises mais pontuais focadas em pontos específicos da utilização da técnica. Somente o artigo 2 (Cardin e Guerra, 2019) trata de forma mais direcionada das questões éticas envolvidas no processo.

Com os trabalhos selecionados, percebemos que inicialmente, apresenta-se os dados históricos sobre a reprodução humana e a técnica de Fertilização in Vitro. Com o avanço tecnológico e a modernização da sociedade, as técnicas de reprodução assistida (RA) para o tratamento de subfertilidade e infertilidade como, por exemplo, as técnicas de fertilização in vitro (FIV) e a injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) se tornam mais requeridas e procuradas. Tal avanço permitiu dar início às investigações sobre PGT e, conseqüentemente, esses estudos trouxeram a possibilidade de diagnóstico precoce pré-natal, em 1990, com a primeira criança nascida após essa nova metodologia (LOPES-RIOJA et al., 2018).

Com o aprimoramento das técnicas de fertilização *in vitro* (FIV) e os estudos do desenvolvimento do embrião foi possível a sua aplicabilidade em humanos. Os avanços nessa área foram consequência de dificuldades no tratamento de infertilidade associada a dificuldade de adoção, entre os anos de 1960 a 1978 (ESKEW; JUNGHEIM, 2017).

Na sequência, apresentam-se estudos sobre a técnica utilizada para o Diagnóstico Genético Pré-Implantacional. Iniciando-se com os estudos de Palmerola et al (2019) que tiveram o objetivo de avaliar as taxas de euploide, aneuploide e mosaico em amostras de biópsia trofotoderme de embriões em FIV versus ciclos ICSI PGT-A, os autores observaram que o PGT se divide em duas subcategorias que evidenciam objetivos e protocolos diferentes. A primeira categoria é o PGT para

doenças monogênicas (PGT-M ou PGD), cuja finalidade está na detecção de mutações genéticas. A segunda categoria conhecida por Screening Genético Pré-Implantacional (PGT-A ou PGS) detecta alterações cromossômicas no cariótipo. Para que essas avaliações sejam possíveis, é preciso fazer biópsias embrionárias, que se diferenciam de acordo com a escolha metodológica do tratamento (PALMEROLA et al., 2019).

O PGT se destaca por ser um método molecular que usa a tecnologia NGS (*Next Generation Sequencing*) ou também pode ser chamada de sequenciamento de nova geração para analisar simultaneamente o sequenciamento de milhares de pequenos fragmentos de DNA. São três os tipos principais de PGT: PGT-A (aneuploidias); PGT-M (doenças monogênicas); PGT-SR (para rearranjos estruturais). O PGT-M tem a função de analisar os genes responsáveis por doenças hereditárias, enquanto o PGT-A e o PGT-SR analisam as anormalidades cromossômicas.

O PGT-M é o diagnóstico genético pré-implantacional de embriões realizado através de FIV (Fertilização in vitro). Técnica essa que analisa o DNA de cada embrião, embriões livres da mutação genética pesquisada podem ser previamente escolhidos para serem transferidos ao útero da mulher, precavendo assim a transmissão de uma doença presente na família (RODRIGUES et al., 2020).

O DNA das amostras é extraído e o exame é realizado através de estudo de ligação gênica, que se baseia no princípio de que o marcador (sequência conhecida do DNA) está na mesma região cromossômica do gene associado à doença, ou seja, o gene mutado e os marcadores polimórficos estudados segregam em conjunto na meiose.

Assim, através deste procedimento, os autores identificaram as possibilidades de alterações genéticas e cromossômicas em embriões ainda em divisão, antes mesmo que ocorra sua transferência e sem causar danos ao desenvolvimento embrionário. Dessa maneira, trata-se de técnica de diagnóstico pré-natal menos invasiva do que às técnicas de diagnóstico convencionais como, por exemplo, a amniocentese e cordocentese que apresentam um risco associado ao desenvolvimento do embrião (LUO et al., 2019).

A técnica PGT-M também pode ser usada para a seleção de embriões para transferência que possuam características específicas, como um tipo complexo de antígeno leucocitário humano compatível com um irmão que tenha uma doença cujo tratamento efetivo seja o transplante de células-tronco. Esta técnica é mais indicada em casos de: famílias com doenças hereditárias; indicação respaldada em resultados de teste de compatibilidade genética (identifica o risco de transmissão de doença hereditária) (LUO et al., 2019).

O PGT se destaca por ser a única forma de evitar a transmissão de distúrbios genéticos. A técnica pode, inclusive, ser usada por qualquer pessoa com suspeita ou histórico familiar, ainda que

não tenha problemas de fertilidade. Contudo, é preciso ser submetido a todas as etapas da FIV. Destaca-se que, no Brasil, a utilização desta abordagem requer aconselhamento genético com um profissional capacitado para identificação dos riscos de recorrência de condições genéticas que segregam na família. Portanto, o histórico familiar é essencial para que seja permitida a aplicação da técnica e não é possível realizar seleção de embriões para doenças que não segregam na família. Isso é particularmente importante do ponto de vista ético, uma vez que existe um amplo debate na comunidade sobre o limite de fenótipos e características selecionáveis através dessas técnicas. Considerando que, do ponto de vista metodológico, não parecem existir limitações para a realização dessas seleções de características, cabe à sociedade realizar um amplo debate ético para estabelecer o que será ou não permitido.

Em estudo para validar a aplicabilidade do sequenciamento de captura direcionada no desenvolvimento de PGT-M personalidade, através de um ensaio clínico baseado nas técnicas de biologia molecular e engenharia genética, foi observado que o DGPI pode ser usado durante os procedimentos de reprodução assistida com o objetivo de selecionar os embriões que não apresentam as doenças genéticas em questão (LUO et al., 2019).

Assim sendo, destacam Luo et al que:

O PGT-M também possibilita a identificação de distúrbios relacionados ao cromossomo X, que podem resultar de genes dominantes ou recessivos, incluindo a distrofia muscular de Duchenne, que provoca perda muscular, a hemofilia, caracterizada por problemas de coagulação sanguínea, e a síndrome do cromossomo X frágil, uma doença genética que causa deficiência intelectual e distúrbios cognitivos (LUO et al., 2019).

Buscando apresentar o resultado clínico do uso de PGT-M e PGT-A combinados em casais com risco de transmissão da doença HbE / β tal, os autores Satirapod et al., (2019) realizaram um estudo de janeiro de 2016 a dezembro de 2017 e puderam observar que o DGPI pode ser indicado em duas situações: (I) em casos onde se encontra alto risco de hereditariedade da alteração genética à prole e (II) em casos de rastreio de aneuploidias intencionando o aumento de gestações bem sucedidas para casais que escolhem fazer uso de tratamentos de FIV e ISCI. Isso é especialmente importante para aqueles que apresentam aborto recorrente (AR), falha repetida de implantação (FRI) e idade materna avançada (IMA).

A metodologia de DGPI iniciou-se a partir da biópsia de blastocistos de coelho com o intuito de determinação do sexo desses animais, bem como da agregação com as técnicas de FIV e ICSI, permitindo o tratamento de doenças de caráter genético. Com isso, no ano de 1990, foi observado o primeiro processo bem-sucedido do diagnóstico molecular que visou evitar o nascimento de criança com adrenoleucodistrofia, uma doença recessiva ligada ao cromossomo X, utilizando a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase - PCR na amplificação gênica. Posteriormente, o diagnóstico foi

implementado no tratamento de outras síndromes, como a anemia de Fanconi, mielodisplasia e beta-talassemia e em clínicas de reprodução, já que a técnica também é eficiente para evitar abortos (RODRIGUES et al., 2020).

Com o objetivo de relatar a pertinência do PGD para investigação de alterações cromossômicas, Araújo e Cardoso (2018) observaram que o Diagnóstico Genético Pré-Implantacional (PGD) é um procedimento de biópsia embrionária que possibilita a esses casais uma oportunidade de investigação de alterações cromossômicas em processos de RHA, antes da implantação do embrião, através da extração de células que são submetidas a um método de análise (ARAUJO; CARDOSO, 2018).

Com o avanço da biotecnologia, as técnicas de reprodução humana assistida se tornaram ainda mais eficazes, possibilitando a qualquer pessoa concretizar o seu projeto parental quando apresentasse esterilidade ou tivesse uma orientação sexual que não permitisse a reprodução de forma natural (CARDIN; GUERRA, 2019, p.18).

Atualmente, o diagnóstico genético pré-implantacional permite aos casais, na tentativa de encontrar uma cura para a doença de um filho já nascido, que se submetam à técnica de reprodução humana assistida, em especial a fertilização in vitro, para dar origem a um embrião que não apresente a doença genética e, ao mesmo tempo, seja compatível com o filho enfermo, a fim de possibilitar o tratamento da moléstia, seja por transplante de medula óssea ou por utilização das células do cordão umbilical (CARDIN; GUERRA, 2019).

Estudos de Schaeferet et al (2020) puderam identificar que, no processo de divisão celular, os cromossomos presentes no núcleo celular ficam mais individualmente perceptíveis, permitindo assim o estudo de suas particularidades e patologias. A ciência que permite o estudo dessas características cromossômicas é denominada de citogenética. A nível de conhecimento, atualmente a citogenética é dividida em Clássica (como a cariotipagem) e molecular como FISH e Microarray cromossômico, já as técnicas de NGS são denominadas citogenômicas.

Para Schaeferet et al (2020) o estudo citogenético é realizado em vários âmbitos, como na citogenética tumoral, na detecção de anormalidades cromossômicas em pacientes que já apresentaram alterações clínicas, como também na análise pré-natal e no diagnóstico de abortos recorrentes e de infertilidade.

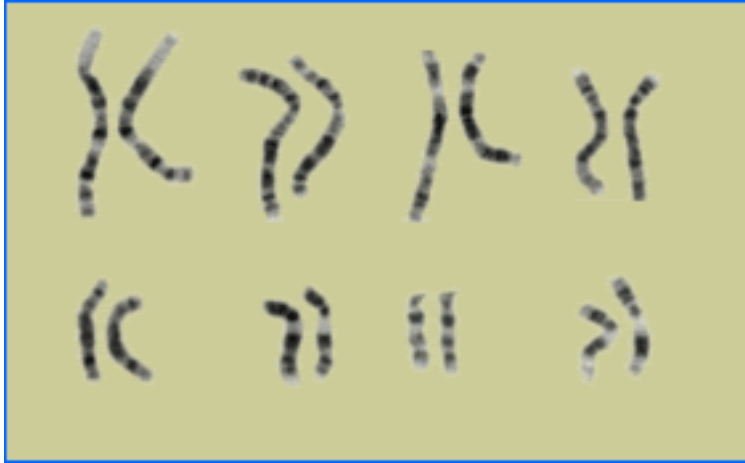


Figura 1: padrão de bandas (regiões claras e escuras) que caracterizam os cromossomos humanos e permitem individualizar de modo inequívoco cada par de cromossomos

Fonte: Thompson; Thompson, 2015, p.9

As técnicas de bandeamento cromossômico "expandiram" os horizontes da citogenética, e o primeiro uso do bandeamento (Figura 1) deu-se no pareamento cromossômico. Essas técnicas têm possibilitado compreender melhor as alterações cromossômicas que se constituem em cada genótipo (GUERRA, 1988). O bandeamento cromossômico possibilita, suprimir algumas dúvidas em relação ao tamanho de alguns cromossomos: a Síndrome de Down é realmente uma trissomia do cromossomo 21 (e não do 22); a trissomia do grupo D é a presença de três cromossomos 13. Também é possível identificar com segurança as alterações numéricas ligadas à principais síndromes cromossômicas, o bandeamento também ajuda a identificar as regiões alteradas em casos de modificações cromossômicas estruturais (GUERRA, 1998).

Uma das principais aplicações do bandeamento cromossômico é a identificação de cromossomopatias, que são definidas como quaisquer síndromes causadas por anomalias cromossômicas. Como a informação genética está contida nos cromossomos é de se esperar que os zigotos que apresentam anomalias cromossômicas (aberrações ou mutações cromossômicas) mostrem, na maioria das vezes, desenvolvimento alterado, visto que as aberrações cromossômicas devem provocar desorganização daquela informação, pelo fato de que trissomias levam ao um aumento do número de genes e conseqüentemente a superdosagem, alguns genes são sensíveis a essa alteração de dosagem, além de quebras cromossômicas, inserções nas translocações pode levar a interrupção de genes. A estimativa do percentual de concepções com aberrações cromossômicas é de, no mínimo, 10% (GUERRA, 1988, p. 26).

Nem todas as aberrações cromossômicas numéricas são compatíveis com a sobrevivência ou a continuidade reprodutiva das células somáticas por elas afetadas. O estudo sistemático das cromossomopatias revelou que no caso das aberrações autossômicas, todas as alterações numéricas e estruturais, não importa qual o autossomo afetado, estão fortemente associadas a estruturas

microscópicas (que podem ser visíveis/detectadas pelo cariótipo, as submicroscópicas (variações de número de cópias, que consistem em duplicação e deleção de segmentos nos cromossomos), não necessariamente leva a alterações comportamentais (LEÃO, 2019).

Os sinais mais frequentes são: comprometimento cognitivo, peso corporal baixo ao nascer, atraso de desenvolvimento físico, tônus muscular alterado e diminuição dos reflexos, como pode se notar na Figura 2.

Nome da Síndrome	Genótipo	Causa	Características principais
Síndrome de Down	47, XX, +21 ou 47, XY, +21	Trissomia do cromossomo 21	- 1: 650 a 1.000 nascimentos - Olhos com aspecto oblíquo - Retardo mental
Síndrome de Edwards	47, XX, +18 ou 47, XY, +18	Trissomia do cromossomo 18	- 1: 3.000 nascimentos - Convexidade plantar
Síndrome de Patau	47, XX, +13 ou 47, XY, +13	Trissomia do cromossomo 13	- 3: 10.000 nascimentos - Microcefalia e microftalmia - Fissura lábio-palatal bilateral
Síndrome do Miado-de-Gato	46, XX, 5p- ou 46, XY, 5p-	Monossomia do cromossomo 5	- 1: 50.000 nascimentos - choro característico

Figura 2: Síndromes e suas principais características.

Fonte: Leão, 2019.

Para o objetivo específico de relatar a importância e os benefícios do uso desta técnica dentro da reprodução humana assistida na detecção de doenças genéticas/alterações cromossômicas, destaca-se o estudo de Aline Canenhede (2020) que identificou que as técnicas de DGPI possibilitam um diagnóstico e prevenção precoce, tanto de falhas genéticas como cromossômicas, a partir da seleção embrionária, cuja aplicabilidade varia de acordo com seu objetivo de tratamento. A biópsia embrionária obtida para os procedimentos de fertilização in vitro e injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI), possibilita a aplicação das técnicas moleculares de detecção que abrangem o tratamento de PGT, exemplificadas pelas técnicas de PCR, FISH a-CGH, a-SNP e NGS. Mesmo apresentando alguns obstáculos, como o mosaicismo, as técnicas de bioinformática proporcionam suporte para enfrentá-los. Assim, é possível identificar que o diagnóstico pré-implantacional apresenta êxito em sua maioria e conseqüentemente faz com que a taxa de gravidez bem sucedidas aumente, uma vez que abortos espontâneos podem ocorrer por síndromes genéticas (CANTENHEDE, 2020).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o objetivo geral de evidenciar a importância do diagnóstico das mutações de origem genética e cromossômica para a reprodução humana através do procedimento de PGD-Biópsia Embrionária, através de uma revisão bibliográfica, este estudo pode concluir que os avanços tecnológicos nas técnicas de biotecnologia e de reprodução humana assistida tornaram possível que se faça um planejamento e concepção do embrião manipulado laboratorialmente. As técnicas de biologia molecular, que fazem parte do DGPI, propiciam a transferência selecionada de embriões livres de certo tipo de anomalia, que vão desde patologias cromossômicas e numéricas até compatibilidade para transplante medular, bem como tratamentos de fertilidade.

Assim sendo, comprova-se a importância e os benefícios do uso do Diagnóstico Genético Pré-Implantacional para a identificação de determinadas alterações que tornam inviável a vida fetal, pois ele é significativamente importante para o aumento das taxas de sucesso na concepção de embriões transferidos decorrente do tratamento da reprodução assistida.

Diante disso, acredita-se ter atingido o objetivo principal deste estudo ao identificar que as técnicas de diagnóstico genético pre-implantacional, estão cada vez mais adaptados às rotinas laboratoriais e conseqüentemente relacionadas ao sucesso dos tratamentos. Contudo, apesar das vantagens e benefícios apresentados durante esta revisão de literatura, sugere-se que para melhor aplicabilidade das técnicas são necessários mais estudos e pesquisas com uma melhor abordagem para cada caso, e, partindo de um aconselhamento genético, ter condições de avaliar qual o melhor procedimento a ser feito.

7 REFERÊNCIAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Relatório sobre produção nacional de embriões. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/divulgado-relatorio-sobre-producao-nacional-de-embrioes>. Acesso em: 23 fev. 2021.

AQUINO, Aleister Crowley de.; MARTINHAGO, Ana Carolina.; MARTINHAGO, Ciro Dresh. Biópsia embrionária: qual a melhor escolha? *Reprodução e Climatério*, v. 28, n.3, p.122-129, 2013.

ARAÚJO, Nyszanne Dias.; CARDOSO, Belgath Fernandes. A importância do procedimento de PGD-Biópsia embrionária para diagnóstico de mutações de origem cromossômica. **Repositório Digital Univag**. v.2, n.3, p.1-8, 2020.

BIANCO, Bianca.; CHRISTOFOLINI, Denise Maria; CONCEIÇÃO, Gabriel Seixas; BARBOSA, Caio Parente. Preimplantation genetic diagnosis associated to Duchenne muscular dystrophy. **Einsten**. V. 15, n.4, p.21-30, 2017.

BLAZOTTI, Maria Cristina; PINTO JUNIOR, Walter; ALBUQUERQUE, Maria Cecilia Romano.; FUJIHARA, Litsuko; REIGOTA, Renata; BERTUZZO, Carmem. Diagnóstico genético pré-implantacional na fibrose cística: relato de caso. *Revista Einsten*. V. 1, n.13, p.110-113, 2015.

BRASIL, Agência de Vigilância Sanitária – ANVISA atualiza diretrizes para procedimentos de reprodução humana assistida durante a pandemia. 2020. Disponível em: <https://sbra.com.br/noticias/anvisa-atualiza-diretrizes-para-procedimentos-de-reproducao-assistida-durante-a-pandemia/>. Acesso em: 23 fev. 2021.

CANTANHEDE, Aline Januzzi, O Diagnóstico Genético Pré-Implantacional E As Técnicas De Reprodução Humana Assistida. 2020. Disponível em: <file:///G:/Meus%20Documentos/TRABALHOS%2020152016/B/BIOLOGIA/EZIELI/Aline%20Cantanhede.pdf>. Acesso em: 23 fev. 2021.

CAPALBO, A. et al. Implementing PGD/PGD-A in IVF clinics: considerations for the best laboratory approach and management. **Journal of assisted reproduction and genetics**, Nova Iorque, v. 33, n. 10, p. 1279 – 1286, out. 2016.

CARDIN, V. S. G.; GUERRA, M. G. R. M. Do diagnóstico genético pré-implantacional para a seleção de embriões com fins terapêuticos: uma análise do bebê-medicamento. **RFD Revista da Faculdade de Direito da UERJ**, Rio de Janeiro, v. 2019, n. 35, p. 60–77, jul.2019.

CIMADOMO, D. et al. The Impact of Biopsy on Human Embryo Developmental Potential During Preimplantation Genetic Diagnosis. *BioMed research international*, Estados Unidos, v. 2016, jan. 2016.

CORRÊA, Rubiana Aparecida; STROPARO, Elenice. Síndrome de Dows: Uma revisão. **Revista Biociências, Biotecnologia e Saúde**. v.4, n. 13, p. 1-12, 2015.

ESKEW, A. M., JUNGHEIM, E. S. A History of Developments to Improve in Vitro Fertilization. **Journal of the Missouri State Medical Association**, San Luis, v. 114, n. 3, p. 156 – 159, mai.-jun. 2017.

FISCHER, Karla Ferreira de Camargo. Reprodução humana assistida e a atuação dos conselhos de medicina na perspectiva civil-constitucional. Dissertação mestrado – UNIBRASIL, Curitiba: UniBrasil, 2013. 162p.

GARDNER, R.J.M.; SUTHERLAND, G.R.; SHAFFER, L.G. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 4 ed. Oxford University Press, New York, 2012.

GUERRA, M. Heterocromatina e bandamento cromossômico. In: GUERRA, M. Introdução à Citogenética Geral. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988.

HOGAN AA. *Life histories of genetic diseases* Baltimore: Johns Hopkins University Press; 2016.

LOPEZ-RIOJA, MJ et al. Estudio genético preimplantación para aneuploidias: resultados de la transición entre diferentes tecnologías. **Ginecología y obstetricia de México**, México, v. 86, n. 2, p. 96-107, fev. 2018.

LEÃO, André Pereira. Citogenética e Bandeamento Cromossômico. 2019. Disponível em: [http://arquivo.ufv.br/dbg/resumos2008b/Resumo%20Andre.htm#:~:text=Bandas%20Q%3A%20os%20cromossomos%20s%C3%A3o,bandas%20Q%20\(de%20quinacrina\)](http://arquivo.ufv.br/dbg/resumos2008b/Resumo%20Andre.htm#:~:text=Bandas%20Q%3A%20os%20cromossomos%20s%C3%A3o,bandas%20Q%20(de%20quinacrina).). Acesso em: 31 mai 2021.

LOWY, Ilana. How diseases became genetc. **Ciência e Saúde coletiva**, v.24, n.10, p.26, 2019.

LUO, H. et al. Preimplantation genetic testing for a Family with usher syndrome through targeted sequencing and haplotype analysis. **BMC Medical Genomics**, Inglaterra, v. 12, n. 157, p. 1-8, 2019.

MARIN, José Sanches; RICARDO, Maria Paula; SGAMBATTI, Marilia Simon (org). Abordagem domiciliar de situações clínicas comuns materno-infantis: Anemia Falciforme e Fibrose Cística. São Luís, 2013.

ORIÁ, Monica Oliveira Batista.; XIMENES, Lorena Barbosa. Casais inférteis diante da fertilização in vitro: o significado de vivenciar essa decisão. **Acta Paul Enferm**. v.17, n.3, p.278-285, 2004.

ORTIZ, Juan.; brum, Mauricio.; Nakamura, Pedro; FONTANIVE, Stéfani. O que você precisa saber sobre reprodução assistida. **Revista Saúde Família Medicina**. v. 1, n, 4, p.1-10, 2019.

PALMEROLA, K. L. et al. Minimizing mosaicism: assessing the impact of fertilization method on rate of mosaicism after next-generation sequencing (NGS) preimplantation genetic 34 testing for aneuploidy (PGT-A). *Journal of assisted reproduction and genetics*, Netherlands, v. 36, n. 01, p. 153 -157, jan. 2019.

POMPEU, Tainá; VERZELETTI, Franciele. Diagnóstico genético pré-implantacional e sua aplicação na reprodução humana assistida . **Reprodução e Climatério**. v. 30, n.2, p.83-89, 2015.

RODRIGUES, V. O., et al. Genetics in human reproduction. **JBRA assisted reproduction**, Brasília, v. 0, n.0, p. 1 -12, jan. 2020.

ROSENBLATT, David e WATKINS David. Acidúria metilmalónica insensível à vitamina B12, mut 0. – **Disponível** https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=PT&data_id=1263&Disease_Disease_Search_diseaseType=ORPHA&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=27&Grupo%20de%20doen%20relacionadas=Deficiencia-de-metilmalonil-CoA-mutase&title=Deficiencia-de-metilmalonil-CoA-mutase&search=Disease_Search_Simple **Acesso em 01/07/2020.**

SATIRAPOD, C., et al. Clinical utility of combined preimplantation genetic testing methods in couples at risk of passing on beta thalassemia/hemoglobin E disease: A retrospective review from a single center. **PLoS ONE**, São Francisco, v, 14, n. 11, p. 1 – 15,

SCHAEFER, E. et al. Embryos derived from donor or patient oocytes are not diferent for in vitro fertilization outcomes when PGT allows euploid embryo selection: a retrospective study. **Clinical and Translational Medicine**, v. 9, n. 14, s.p. feb. 2020.

SILVERBER K., MELETICHE D., ROSARIO G. D. An employer experience with infertility coverage: a case study. *Fertil Steril.* v.92, n.6, p.2103-2105, 2015.

SOUZA, Karla Keila Pereira.; ALVES, Oslania de Fátima. As principais técnicas de reprodução humana assistida. **Saúde e Ciência em Ação.** v., 2, n. 1. p.24-35, 2016.

TELES, N.O. Diagnóstico genético pré-implantação: aspectos técnicos e considerações éticas. **Acta Med Port.** v.1, n.24, p.987-998, 2011.

THOMPSON & THOMPSON. *Genética Médica.* São Paulo: Atlas, 2015.

TRINDADE, Vanessa. Fatores de risco associados à gravidez ectópica na fertilização in vitro: estudo de caso, controle. Dissertação de Mestrado. 140, p. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul Escola de Medicina. 2020.