

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



“Bebé-medicamento”: situações que o podem justificar e aspetos éticos

Ana Beatriz Rodrigues Pedro

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2020

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



**“Bebé-medicamento”: situações que o
podem justificar e aspetos éticos**

Ana Beatriz Rodrigues Pedro

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de
Farmácia**

**Orientador: Professora Auxiliar Isabel Bettencourt Moreira da
Silva**

2020

Resumo

“Bebé-medicamento” é a terminologia usada para descrever uma criança que nasce com o propósito de ser dador de células estaminais hematopoiéticas de um irmão gravemente doente, para o qual não existem alternativas terapêuticas. O “bebé-medicamento” recorre a tecnologias de reprodução assistida, nomeadamente, fertilização *in vitro* com diagnóstico genético pré-implantação associado, para determinação de compatibilidade de HLA e ausência de doença. O objetivo é gerar embriões viáveis para posterior implantação uterina e, caso seja bem-sucedido, consequente nascimento de uma criança não afetada HLA-compatível e fonte de células estaminais, provenientes do sangue do cordão umbilical e medula óssea, para transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas.

O primeiro caso ocorreu, no ano 2000, nos Estados Unidos da América, com o nascimento de Adam Nash para salvar a sua irmã que sofria de anemia de Fanconi. A partir deste ano, legislações de diferentes países foram alteradas, no que diz respeito ao tema da procriação medicamente assistida, porém, a prática do “bebé-medicamento” continua a ser ilegal em alguns países, nomeadamente na Europa, como a Suíça e Áustria.

Para além da anemia de Fanconi, existem mais casos de patologias, relatados na literatura, nos quais se recorreu ao “bebé-medicamento” como terapêutica. Assim, outras indicações possíveis são a beta-talassemia, a leucemia mieloide aguda e a leucemia linfoblástica aguda, sendo um caso desta última patologia que levou à autorização, por parte do Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida, do primeiro caso de “bebé-medicamento” em Portugal, em 2015.

Esta temática é controversa, originando discordâncias no que toca a questões éticas e morais. Uma questão que se coloca, é o desenvolvimento de um ser humano como um meio para atingir um fim, para além de todas as implicações envolvidas nos procedimentos de fertilização *in vitro* e no diagnóstico genético pré-implantação.

Palavras-chave: bebé-medicamento, leucemia linfoblástica aguda, anemia de Fanconi, diagnóstico genético pré-implantação, ética

Abstract

"Savior sibling" is the designation used to describe a child who is born to donate hematopoietic stem cells to a critically sick brother, for whom there are no therapeutic alternatives. The "savior sibling" uses assisted reproduction technologies, like *in vitro* fertilization with associated preimplantation genetic diagnosis, to determine HLA compatibility and absence of disease. The objective is to generate viable embryos for subsequent uterine implantation and, if successful, the consequent birth of an unaffected HLA-compatible child and source of stem cells, from umbilical cord blood and bone marrow, for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

The first case occurred, in 2000, in the United States, with the birth of Adam Nash to save his sister who suffered from Fanconi anemia. As of this year, the laws of different countries have been changed, about the subject of medically assisted reproduction. However, the practice of the "savior sibling" remains illegal in some countries, such as Switzerland and Austria.

In addition to Fanconi's anemia, there are more cases reported in the literature, in which "savior sibling" was used as therapy. Other possible indications are beta-thalassemia, acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia, the latter was the first authorized indication in Portugal, in 2015.

This subject is controversial, leading to disagreements regarding ethical and moral issues. One question that arises is the development of a human being as a means to an end, in addition to all the implications involved in *in vitro* fertilization procedures and preimplantation genetic diagnosis.

Keywords: savior sibling, acute lymphoblastic leukaemia, Fanconi anemia, preimplantation genetic diagnosis, ethics

Índice

1. Introdução	11
1.1 “Bebé-medicamento”: conceito	11
1.2 “Bebé-medicamento” no mundo e em Portugal	11
2. Objetivos	13
3. Materiais e Métodos	14
4. Situações que o podem justificar	15
4.1 Leucemia linfoblástica aguda (LLA)	15
4.1.1 Etiologia	15
4.1.2 Fisiopatologia	16
4.1.3 Sinais e sintomas	16
4.1.4 Diagnóstico e prognóstico	17
4.1.5 Terapêutica	17
4.2 Anemia de Fanconi	19
4.2.1 Etiologia	19
4.2.2 Fisiopatologia	19
4.2.3 Sinais e sintomas	20
4.2.4 Diagnóstico e prognóstico	21
4.2.5 Terapêutica	21
5. Procriação medicamente assistida	23
5.1 Tecnologias de reprodução assistida	23
5.1.1 Regulação negativa da hipófise	23
5.1.2 Estimulação ovárica controlada	23
5.1.3 Maturação folicular	24
5.1.4 Recuperação de gâmetas	24
5.1.5 Procedimentos de embriologia	24
5.2 Testes genéticos de pré-implantação	25
5.2.1 Indicações	25
5.2.2 Biópsia	26
5.2.3 Métodos	28
5.2.4 Limitações	31
5.2.5 Recomendações	32
5.2.6 Perspetivas futuras	32
6. Aspetos éticos	33
6.1 Bioética: Princípios de Beauchamp e Childress	33
6.2 Enquadramento legal	34
6.3 Questões morais	35
6.4 Questões éticas relativas aos procedimentos de FIV, DGPI e TACEH	36
7. Conclusões e perspetivas futuras	37
8. Referências bibliográficas	38

Índice de Figuras

Figura 1: Legalização do “bebé-medicamento” e DGPI na Europa	12
Figura 2: Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA).....	15
Figura 3: Via de reparação do DNA AF/BRCA	20
Figura 4: Ultrassom transvaginal	24
Figura 5: Injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ISCI)	24
Figura 6: Fundamento da Hibridização Fluorescente <i>in situ</i>	29
Figura 7: Hibridização Genómica Comparativa (aCGH)	30
Figura 8: Aplicações dos diferentes métodos dos testes genéticos de pré-implantação	31

Índice de Tabelas

Tabela 1: Protocolo de quimioterapia para LLA	18
Tabela 2: Terapêuticas alternativas para LLA	19
Tabela 3: Sintomas relacionados com pancitopenia na anemia de Fanconi	21
Tabela 4: Comparação entre as diferentes biópsias possíveis para fins de testes genéticos de pré-implantação	27

Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

aCGH - Hibridização Genômica Comparativa (*array Comparative Genomic Hybridization*)

AF - Anemia de Fanconi

BVC - Biópsia das Vilosidades Coriônicas

CEH - Células Estaminais Hematopoiéticas

CNPMA - Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida

CP - Corpo Polar

DEB - Diepoxibutano

DGPI - Diagnóstico Genético Pré-Implantação

EM - Estados-Membros

ESHG - Sociedade Europeia de Genética Humana (*European Society of Human Genetics*)

ESHRE - Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia (*European Society of Human Reproduction and Embryology*)

EUA - Estados Unidos da América

FISH - Hibridização Fluorescente *in situ* (*Fluorescent in situ Hybridization*)

FIV - Fertilização *in vitro*

FSH - Hormona Folículo-Estimulante

GnRH - Hormona Libertadora de Gonadotrofinas

hCG - Gonadotrofina Coriônica Humana

HLA - Antígeno Leucocitário Humano

ICMART - Comité Internacional de Monitorização de Tecnologia de Reprodução Assistida (*International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies*)

ICSI - Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoide (*Intracytoplasmic Sperm Injection*)

LLA - Leucemia Linfoblástica Aguda

LLA-B - Leucemia Linfoblástica Aguda de Células B

LLA-T - Leucemia Linfoblástica Aguda de Células T

LMA - Leucemia Mieloide Aguda

LH - Hormona Luteinizante

MMC - Mitomicina C

NGS - Sequenciamento de Próxima Geração (*Next-Generation Sequencing*)

OMS - Organização Mundial da Saúde

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction*)

qPCR - Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa (*Real-Time Polymerase Chain Reaction*)

RT-PCR - Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase (*Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*)

SNP - Polimorfismo de Nucleótido Único (*Single-Nucleotide Polymorphism*)

TACEH - Transplante Alogénico de Células Estaminais Hematopoiéticas

TCR - Recetor das Células T

TGPI - Triagem Genética Pré-Implantação

TRA - Tecnologias de Reprodução Assistida

EU - União Europeia (*European Union*)

1. Introdução

1.1 “Bebé-medicamento”: conceito

O termo “bebé-medicamento” descreve um bebé que foi criado através de fertilização *in vitro* (FIV), e de acordo com um diagnóstico genético pré-implantação (DGPI), a fim de atuar como dador para um irmão doente. Através deste procedimento, é possível determinar se o futuro bebé poderá fornecer células estaminais provenientes do sangue do cordão umbilical e medula óssea para uma criança, já nascida, com uma doença para a qual não existem terapêuticas alternativas eficazes. Todavia, para que o transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas (TACEH) seja realizado com sucesso, é necessário que tanto o dador, quanto o recetor, sejam HLA-compatíveis. [1][2][3]

Além de testar embriões para compatibilidade HLA, o DGPI também é utilizado para garantir que a criança gerada, com o fim de constituir o “bebé-medicamento”, esteja livre de doença. Desta forma, as principais vantagens do DGPI em relação aos testes pré-natais residem na possibilidade de evitar abortos recorrentes, a disponibilidade de um grande número de embriões e, conseqüentemente, uma maior probabilidade de encontrar um embrião HLA-compatível no menor período possível. [1][2][3]

A probabilidade de ter um irmão HLA-compatível não afetado é de apenas, aproximadamente, 19%. Para além de que, a probabilidade de um ciclo bem-sucedido depende da idade da mulher. Segundo os dados da Divisão de Saúde Reprodutiva e Promoção da Saúde referentes ao ano 2009, em média, as mulheres mais jovens (<35 anos) têm uma maior probabilidade (35%) de sucesso em cada ciclo em comparação com as mulheres com idade superior a 40 anos, nas quais a probabilidade de sucesso se resume a, sensivelmente, 10%. Estas estatísticas resultam na necessidade da maioria dos casais serem submetidos a vários ciclos de FIV, DGPI e tipagem HLA. Adicionalmente, mesmo após um ciclo de FIV e DGPI bem-sucedidos, o procedimento não garante um teste genético preciso, estando associada ao DGPI uma taxa de erro intrínseca de cerca 1–2%. [4]

A singularidade do “bebé-medicamento” reside no facto de que a vida de uma criança pode ser salva aquando da não existência de alternativa terapêutica. Contudo, requer uma avaliação do interesse superior não de uma, mas de duas crianças. Por um lado, temos um filho que necessita de assistência e cuja saúde, e talvez até a própria vida, depende do aparecimento de um dador compatível, ao passo que, por outro lado, temos um filho, ou ideia de futuro filho, cujo papel de dador é determinado antes da sua conceção ou nascimento. [1]

1.2 “Bebé-medicamento” no mundo e em Portugal

O primeiro caso descrito envolvendo um “bebé-medicamento” ocorreu nos Estados Unidos da América (EUA), no ano 2000, com o nascimento de Adam Nash, com o intuito de ser dador de células estaminais hematopoiéticas (CEH) para a sua irmã, Molly, que sofria de anemia de Fanconi. Neste caso, dos 30 embriões que resultaram das fertilizações *in vitro*, 24 não eram portadores de anemia de Fanconi; destes apenas cinco embriões eram HLA-compatíveis e deles, três foram transferidos para o útero, resultando, posteriormente, num único nado vivo. [1][3][5][6][7][8]

No que diz respeito ao continente europeu, dez países legalizaram o “bebé-medicamento”, cada um estabelecendo limitações e requisitos para a utilização do mesmo – Noruega, Bélgica, Espanha, Portugal, Suécia, Holanda, Dinamarca, Reino Unido, França e, mais recentemente, em 2011, a Alemanha. Desde 2006, muitos países europeus, inclusive Portugal, promulgaram ou modificaram leis sobre a procriação medicamente assistida e/ou

testes genéticos, tendo em consideração o conhecimento científico acumulado e o rápido desenvolvimento das tecnologias de reprodução assistida (TRA). Apesar da mudança geral para regimes mais permissivos, grandes diferenças ainda são observadas. Atualmente, o DGPI é proibido na Áustria e na Suíça e a jurisprudência e interpretação das leis afetam a prática deste procedimento em países como a Irlanda e Itália (Figura 1). [1][9][10][11]

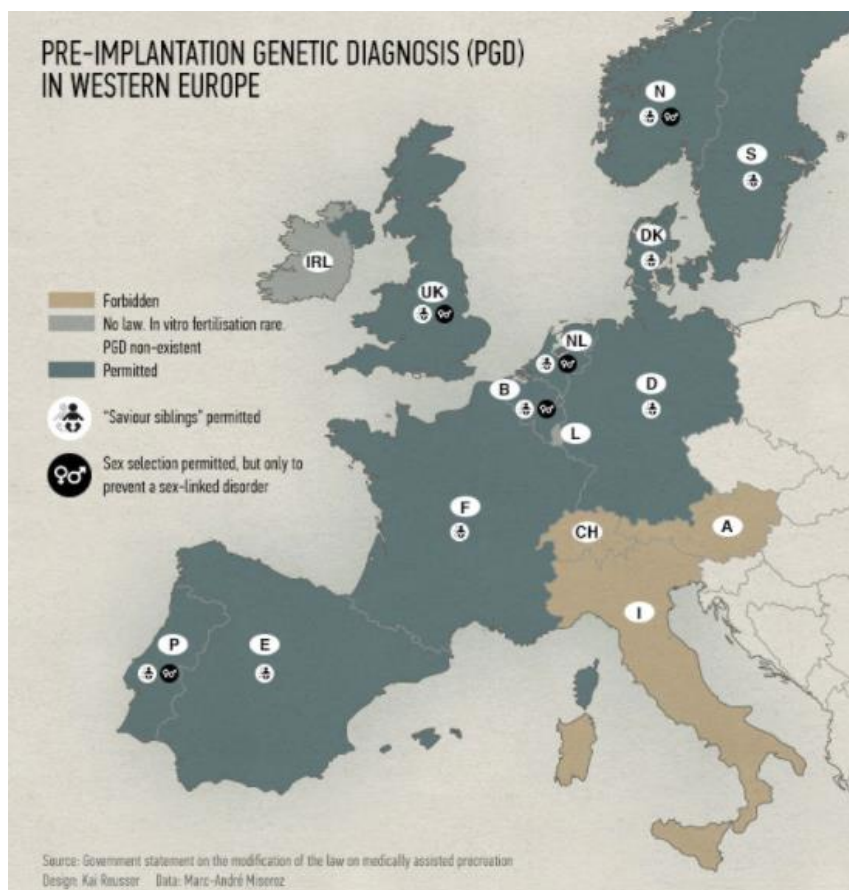


Figura 1: Legalização do “bebê-medicamento” e DGPI na Europa Ocidental. Retirado de [11].

Em Portugal, é permitida a aplicação de técnicas de DGPI com reconhecido valor científico no diagnóstico, tratamento ou prevenção de doenças genéticas graves, após apreciação do Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida (CNPMA). O “bebê-medicamento” foi autorizado, pela primeira vez no nosso país, pelo CNPMA, em 2015, na tentativa de encontrar um dador para uma menina, com cerca de 5 anos, com leucemia linfoblástica aguda (LLA). [1][5][6]

2. Objetivos

Esta monografia tem como principal objetivo aprofundar a temática respeitante ao “bebé-medicamento”, sendo evidenciados os procedimentos necessários para a sua obtenção. Esses procedimentos envolvem o diagnóstico genético pré-implantação e as tecnologias de reprodução assistida, para seleção e posterior transferência uterina de um embrião viável, o qual dará origem a um bebé HLA-compatível de um irmão doente.

Além dos assuntos supramencionados, esta monografia tem também como objetivo descrever duas patologias para as quais se justifica o recurso à terapêutica do “bebé-medicamento”. Essas patologias são a leucemia linfoblástica aguda e a anemia de Fanconi, que são caracterizadas segundo os seus mecanismos fisiopatológicos, sintomatologia e para as quais também são indicadas as terapêuticas atuais disponíveis, inclusive o “bebé-medicamento” como fonte de células estaminais hematopoiéticas.

Outro assunto abordado na presente monografia, são as questões éticas, morais e legais que surgem sobre esta temática controversa, na medida em que não existe um consenso universal relativamente ao desenvolvimento e utilização de uma criança, selecionada geneticamente, para salvar uma outra criança doente.

3. Materiais e Métodos

A pesquisa bibliográfica, executada para a redação da presente monografia, decorreu entre maio e outubro de 2020, tendo sido utilizados os motores de busca PubMed, Google Scholar, e B-on, para a consulta de livros digitais e artigos científicos fiáveis. Para tal, foram utilizados os seguintes termos gerais: *savior sibling*, *acute lymphoblastic leukaemia*, *Fanconi anemia*, *preimplantation genetic diagnosis*, *ethics*. Estes termos gerais foram também utilizados em associação com termos mais restritivos, tais como: *genetics*, *physiopathology*, *therapeutic strategies*, *stem cells*, *hematopoietic stem cell transplantation*, *medically assisted reproduction*, *assisted reproduction technology*, *in vitro fertilization*, *ethical challenges*, *moral issues*, *legal issues*.

A seleção dos artigos científicos baseou-se na credibilidade e relevância da informação presente, bem como na atualidade dos factos, tendo sido publicados por revistas científicas como *Nature*, *The Lancet*, *American Journal of Hematology*, *European Journal of Hematology*, *Journal of Clinical Oncology*, *Journal of Gynecology and Obstetrics*. Tanto os livros digitais como os artigos científicos consultados encontravam-se redigidos em inglês e foram publicados entre os anos 2003 e 2019. Além destes recursos, foram também consultados alguns sítios eletrónicos, nomeadamente *American Cancer Society*, jornal Público e Diário da República.

4. Situações que o podem justificar

Na literatura, estão descritos vários casos clínicos nos quais houve necessidade de recorrer ao “bebê-medicamento” com o objetivo de salvar crianças com determinadas doenças. Nomeadamente, anemia de Fanconi (AF), leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA) e beta-talassemia. Neste trabalho, focarei apenas duas – LLA e AF – uma vez que, a primeira autorização da utilização do “bebê-medicamento” em Portugal e o primeiro caso no mundo envolveram estas duas patologias, respetivamente.

4.1 Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA)

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma neoplasia maligna que atinge as células sanguíneas da série linfóide e que consiste no aumento da proliferação de células imaturas – os linfoblastos (Figura 2). [12] Pode ter origem na linhagem precursora das células B ou, menos comumente, na linhagem precursora das células T [13] e distingue-se de um linfoma, pela presença de, pelo menos, 20% de linfoblastos malignos na medula óssea. [14]

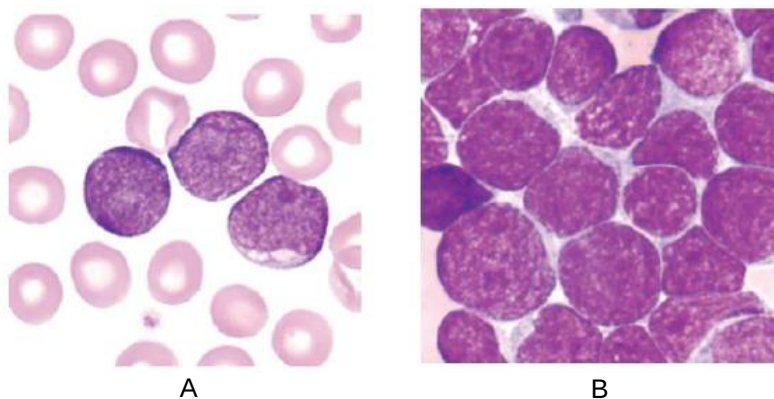


Figura 2: Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA). Retirado de [17].

A – Amostra de sangue periférico, onde é visível 3 linfoblastos

B – Aspirado de medula óssea, com elevado número de linfoblastos

É uma doença rara, constituindo cerca de 0,3% de todas as neoplasias e é mais frequente em crianças, sendo que 60% das LLA ocorrem antes dos 20 anos. [12][15] Em Portugal, a incidência é de aproximadamente 107 novos casos por ano. [12]

4.1.1 Etiologia

A etiologia da leucemia linfoblástica aguda (LLA) tem por base a exposição a fatores exógenos e endógenos *in utero* e no período pós-natal, tais como, radiação ionizante e não-ionizante, agentes patogénicos, inflamação e stress oxidativo. [15]

Apenas poucos casos (<5%) estão associados a predisposição genética [16], nos quais se incluem crianças com trissomia 21, que possuem um risco substancialmente aumentado (aproximadamente 40 vezes superior) de LLA em idade compreendida entre os 0 e 4 anos. [15]

4.1.2 Fisiopatologia

Embora ainda não esteja totalmente esclarecido, a LLA é caracterizada, essencialmente, por mutações cromossômicas estruturais, sendo na sua maioria translocações e por aneuploidias, como hiperdiploidia e hipodiploidia, sendo esta última menos frequente. Por sua vez, estas alterações irão determinar, de um modo geral, um aumento da proliferação de linfoblastos e uma diminuição da apoptose e da diferenciação celular. [13][15][16][17][18][19]

No entanto, muitas destas alterações, isoladamente, não induzem leucemia em modelos experimentais, e nenhuma mutação cromossômica grave é observada em muitos dos casos, sugerindo que alterações genéticas submicroscópicas adicionais contribuem para a leucemogénese, definem novos subtipos da doença e determinam a resposta ao tratamento. [15] Estas alterações incluem deleções e inserções de sequências de DNA que desencadeiam alterações dos fatores de transcrição linfóide (IKZF1, PAX5, EBF1), da regulação do ciclo celular e supressão de tumores (CDKN2A/CDKN2B, RB1), da regulação da apoptose, da regulação transcricional e coativação (ETV6, ERG) e alterações epigenéticas. [13][15][17]

Na doença das células B (LLA-B) verifica-se uma elevada ocorrência de hiperdiploidia com ganho não aleatório de pelo menos cinco cromossomas, envolvendo sobretudo os cromossomas X, 4, 6, 10, 14, 17, 18 e 21; [20] hipodiploidia com menos de 44 cromossomas; e translocações recorrentes, incluindo a t(12;21)(p13;q22) que codifica o gene *ETV6-RUNX1*, t(1;19)(q23;p13) que codifica *TCF3-PBX1*, t(9;22)(q34;q11) que corresponde à translocação recíproca responsável pelo aparecimento do gene de fusão *BCR-ABL1* e rearranjo do gene *MLL* em 11q23. [15][17][18][19]

A LLA de células T (LLA-T) é uma doença agressiva e heterogénea, responsável por aproximadamente 15% e 25% das LLA pediátricas e adultas, respetivamente. Aproximadamente 50% dos doentes com LLA-T abrigam translocações cromossômicas que envolvem comumente as regiões 14q11 e 7q34. [13][17][18][19][20]

Cerca de 60% dos casos de LLA-T evidenciam uma ativação aberrante da via de transdução de sinal *NOTCH1* e estão frequentemente associadas com a deleção do *locus* 2A do gene *CDKN2A*, que codifica os supressores de tumor p16INK4A e p14ARF, responsáveis pela regulação do ciclo celular e pela apoptose mediada pelo gene *TP53*, respetivamente. [17][18][20]

Translocações cromossômicas que envolvem o recetor das células T (TCR) são identificadas em cerca de 40% dos doentes com LLA-T. Verifica-se, frequentemente, a justaposição de promotores dos genes que codificam para o TCR nos cromossomas 7 (*TCRB* e *TCRG*) e 14 (*TCRA* e *TCRD*) com genes que codificam para fatores de transcrição, nomeadamente para *TAL1*, *LMO2*, *TLX1*, tornando-os oncogenes. Por conseguinte, ocorrem alterações do ciclo celular, proliferação e diferenciação dos linfócitos T. [13][17][18][20]

4.1.3 Sinais e sintomas

A apresentação clínica da LLA é inespecífica, sendo que os doentes podem apresentar uma série de manifestações como febre, perda de peso, suores noturnos, infeções oportunistas e repetidas, hemorragias, dispneia e fadiga devido à diminuição das células maduras da linhagem linfóide. No exame físico, doentes adultos podem ainda apresentar petéquias, palidez e equimoses, no entanto as crianças poderão ter apenas como sintoma dor nas articulações. [12][17][21][22]

Cerca de 20% dos doentes manifestarão infiltração leucémica no baço e/ou fígado, que terá como consequência esplenomegalia e/ou hepatomegalia, respetivamente. Outras

manifestações extramedulares que podem ocorrer no testículo, pele ou mediastino são específicas da LLA-T. Para além do referido, aproximadamente 5% a 8% dos doentes apresentam, inicialmente, envolvimento do SNC, como neuropatias e infiltração meníngea. [17][21][22]

4.1.4 Diagnóstico e prognóstico

Para o diagnóstico da LLA são necessários estudos morfológicos por microscopia para a identificação de, pelo menos, 20% de linfoblastos na medula óssea; a avaliação do comprometimento da linhagem celular envolvida por imunofenotipagem e estudos citogenéticos, utilizando técnicas de RT-PCR, hibridização *in situ* por fluorescência e citometria de fluxo para identificação de alterações cromossômicas submicroscópicas características desta neoplasia. [12][15][17]

A avaliação do prognóstico da LLA é um procedimento importante, uma vez que, vai condicionar a abordagem terapêutica a realizar em cada doente, através da estratificação do risco. [17]

Muitos rearranjos cromossômicos interrompem os genes que regulam a hematopoiese e o desenvolvimento linfóide (por exemplo, *RUNX1* e *ETV6*), ativam oncogenes (como o *MYC*) ou ativam tirosina-cinases (por exemplo, *ABL1*). Estas mutações estão significativamente associadas ao prognóstico, particularmente na LLA-B. A hiperdiploidia e o rearranjo *ETV6-RUNX1* estão presentes em cerca de 25-30% dos doentes com LLA infantil, mas ocorrem em menos de 3% dos jovens e adultos e estão associados a um prognóstico favorável. Por outro lado, a LLA positiva para *BCR-ABL1* (cromossoma Philadelphia [Ph]) constitui 2-5% dos casos na infância e 25% da LLA adulta e, embora esteja historicamente associada a um mau prognóstico, os resultados foram marcadamente melhorados com o uso de inibidores de tirosina-cinase. [15][17]

A translocação t(1;19)(q23;p13), resultante da fusão *TCF3-PBX1*, tem uma prevalência de aproximadamente 5-6% nas LLAs de células B e está, atualmente, associada a um prognóstico favorável, devido aos avanços na terapêutica. Todavia, uma variante desta translocação, t(17;19)(q23;p13), que resulta na fusão *TCF3-HLF* e constitui 1% dos casos de LLA, está associada a um mau prognóstico. Hipodiploidia e rearranjo do gene *MLL* estão também ambos associados a mau prognóstico, tanto em crianças como em adultos. [15][17]

Na LLA-T, as taxas atuais de cura em estudos multicêntricos são de 80% em crianças e 60% em adultos. Apesar destes resultados, o prognóstico de doentes com LLA-T resistente que não obtêm uma remissão hematológica completa, ou aqueles cuja doença recidiva após uma resposta inicial transitória, permanece pobre. [20]

4.1.5 Terapêutica

Avanços tecnológicos têm permitido melhorar e direcionar a terapêutica antineoplásica. Atualmente, existem várias terapêuticas disponíveis e outras alternativas que se encontram em desenvolvimento em fases I e II de ensaios clínicos. A escolha do tratamento mais adequado vai depender da estratificação do risco, do prognóstico, de se tratar de uma recidiva ou de uma doença refratária e de fatores genéticos específicos que desencadearam a doença.

O tratamento convencional tem por base protocolos de quimioterapia, que se dividem em 3 fases: fase de indução, fase de consolidação e fase de manutenção. A primeira fase tem como objetivo a indução da remissão da doença e tem a duração de 4 a 6 semanas. Nesta fase,

normalmente, associa-se um glucocorticoide – dexametasona ou prednisona – a asparaginase e vincristina, sendo que esta última poderá ser substituída por uma antraciclina ou por ciclofosfamida. A finalidade da fase de consolidação consiste na eliminação de células resistentes; tem a duração de 6 a 8 meses e os fármacos que a constituem são metotrexato em doses elevadas, mercaptopurina, citarabina, ciclofosfamida, vincristina e asparaginase. Por fim, a fase de manutenção tem o intuito de prolongar a remissão, tem uma duração superior de cerca de 2 a 3 anos, e é caracterizada pela administração diária de mercaptopurina, a administração semanal de metotrexato e mensal de um bólus de corticosteroides e vincristina (Tabela 1). [15][16][17][23]

Tabela 1: Protocolo de quimioterapia para LLA

Fase de Indução	Fase de Consolidação	Fase de Manutenção
Indução da remissão da doença	Eliminação de células resistentes	Prolongamento da remissão
4 – 6 semanas	6 – 8 meses	2 – 3 anos
Glucocorticoide (dexametasona ou prednisona) + Asparaginase + Vincristina ou antraciclina ou ciclofosfamida	Metotrexato Mercaptopurina Citarabina Ciclofosfamida Vincristina Asparaginase	Administração diária: Mercaptopurina Administração semanal: Metotrexato Administração mensal: bólus corticosteroides e vincristina

O transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas é considerado a terapia padrão para doentes com doença refratária ou com elevado risco, no entanto, a dificuldade de encontrar um dador compatível constitui uma grande barreira a esta abordagem terapêutica. Para tal, poderá recorrer-se ao “bebê-medicamento”, no qual se foca esta monografia, todavia, apenas é permitido em alguns países e a sua utilização está reservada somente para determinados casos. [15][16][17]

O transplante autólogo de células estaminais hematopoiéticas, isto é, com as células do próprio doente, também pode ser considerado, contudo está associado a uma maior taxa de recaída. [15][16][17]

Em detrimento da quimioterapia, à qual está inerente uma elevada toxicidade, e à inexistência de dadores compatíveis, novas abordagens terapêuticas direcionadas para as alterações moleculares identificadas têm sido estudadas e utilizadas. Nomeadamente, a imunoterapia com a utilização e desenvolvimento de anticorpos monoclonais, nos quais se incluem anti-CD20 (rifuximab, ofatumumab e obinutuzumab), anti-CD19 (denintuzumab mafodotina e blinatumomab), anti-CD22 (epratuzumab, inotuzumab ozogamicina e moxetumomab pasudotox) e anti-CD52 (alemtuzumab). Outras terapêuticas inovadoras consistem nos inibidores da tirosina-cinase (ponatinib, imatinib, desatinib ou nilotinib), no inibidor do proteossoma – bortezomib e na terapia mais promissora com células T CAR (Tabela 2). [17][24][25]

Tabela 2: Terapêuticas alternativas para LLA

Anticorpos monoclonais	Anti-CD19	Denintuzumab Mafodotina Blinatumomab
	Anti-CD20	Rifuximab Ofatumumab Obinutuzumab
	Anti-CD22	Epratuzumab Inotuzumab Ozogamicina Moxetumomab Pasudotox
	Anti-CD52	Alemtuzumab
Inibidores da tirosina-cinase		Ponatinib
		Imatinib
		Desatinib
		Nilotinib
Inibidor do proteossoma		Bortezomib

4.2. Anemia de Fanconi

A anemia de Fanconi (AF) foi relatada pela primeira vez em 1927, por Guido Fanconi. Esta anemia consiste numa doença hereditária rara, que afeta principalmente a medula óssea e à qual estão associados anormalidades físicas, defeitos em órgãos e um risco aumentado de desenvolvimento de determinados tipos de cancro. [26][27]

A sua ocorrência é de 1 em 160.000 indivíduos em todo o mundo, existindo aproximadamente 2000 casos documentados na literatura médica. [27]

4.2.1 Etiologia

A AF é uma doença hereditária, maioritariamente de transmissão autossómica recessiva e constitui a forma hereditária mais comum de anemia aplásica. [27][28][29][30]

Menos de 1% de todos os casos de AF estão associados à mutação do gene *FANCB*, localizado no cromossoma X. Desta forma, indivíduos do sexo feminino que apresentem mutação apenas num dos cromossomas, não manifestarão a doença, contrariamente a indivíduos do sexo masculino que desenvolverão AF, caso sejam portadores de um cromossoma X com o gene em questão mutado. [29][30]

4.2.2 Fisiopatologia

A AF pode ser causada por mutações em pelo menos 18 genes. Estima-se que 80-90% dos casos são devidos a mutações em um dos genes: *FANCA*, *FANCC* e *FANCG*, sendo que as proteínas produzidas a partir dos mesmos estão envolvidas em processos de reparação de DNA, sobretudo durante o processo de replicação. Uma das vias de reparação na qual participam proteínas AF é a via AF/BRCA, que consiste na monoubiquitinação de FANCD2 e FANCI, mediada por um grupo de proteínas AF a montante (FANCA, FANCB, FANCC, FANCE, FANCF, FANCG, FANCL e FANCM) reunidas num complexo nuclear de ubiquitina ligase E3. O heterodímero FANCD2 e FANCI mono-ubiquitinado interage funcionalmente com proteínas AF a jusante, como FANCD1/BRCA2, FANCN/PALB2, FANCI/BRIP1,

FANCP/SLX4, RAD51C e a sua proteína associada - BRCA1 (Figura 3). Como resultado da acumulação de danos no DNA verifica-se, por um lado, a morte celular anormal ou, por outro, a proliferação descontrolada de células devido à ausência de processos de reparação do DNA. Consequentemente, a morte de células precursoras originárias da medula óssea resulta na diminuição das células sanguíneas em circulação e nas anormalidades físicas características da AF, enquanto que o crescimento descontrolado das mesmas leva ao desenvolvimento de leucemia mieloide aguda (LMA) ou outros tipos de neoplasias. [27][28][29][30]

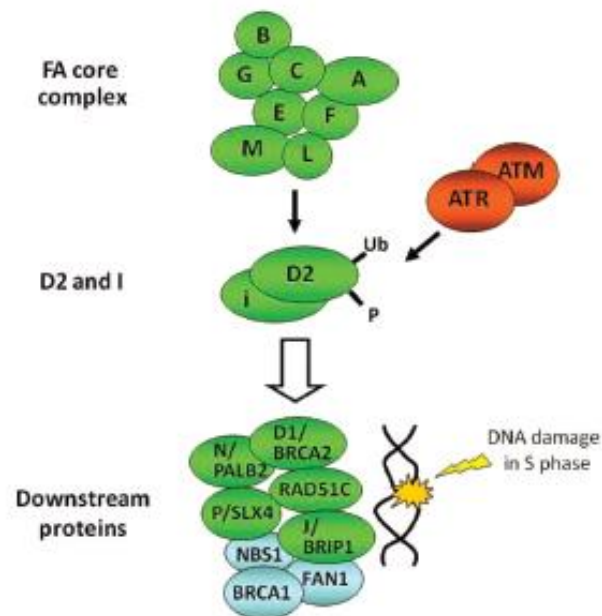


Figura 3: Via de reparação do DNA AF/BRCA. As proteínas AF estão representadas a verde. Retirado de [30]

4.2.3 Sinais e sintomas

Aproximadamente 90% dos casos apresentam comprometimento da função da medula óssea, o que leva a uma diminuição na produção de todas as células sanguíneas – anemia aplásica. [27][28][29]

Como resultado da diminuição de hemácias e, consequentemente, da anemia estão associados sintomas como fadiga, aumento da necessidade de sono, fraqueza, tonturas, irritabilidade, dores de cabeça e pele pálida. Um aumento da suscetibilidade a infecções oportunistas relaciona-se com a baixa contagem de leucócitos e o aparecimento de hematomas e hemorragias associa-se a trombocitopenia resultante da falência medular (Tabela 3). [29]

Tabela 3: Sintomas relacionados com a baixa contagem de todas as linhagens de células sanguíneas, devido a falência medular, na anemia de Fanconi

↓ Hemácias	↓ Glóbulos brancos	↓ Plaquetas
Fadiga Sonolência Fraqueza Tonturas Irritabilidade Cefaleias Palidez	↑ Suscetibilidade a infeções	Hemorragias Hematomas

Mais 50% dos casos desenvolvem anormalidades físicas, tais como hiperpigmentação, malformações ósseas, ausência de rins ou malformação destes e outros defeitos do trato urinário, anormalidades gastrointestinais, defeitos cardíacos, anomalias oculares, perda auditiva, malformações do sistema reprodutor e hidrocefalia e microcefalia no sistema nervoso. [27][28][30]

4.2.4 Diagnóstico e prognóstico

Metade dos doentes são diagnosticados antes dos 10 anos, enquanto cerca de 10% são diagnosticados em adulto. O diagnóstico precoce é facilitado em indivíduos com defeitos congénitos, como baixa estatura, alterações da pigmentação da pele, microcefalia, estruturas renais anormais e anomalias cardíacas e esqueléticas. Contudo, para a maioria dos doentes a suspeita de AF só será confirmada após o início de pancitopenia. [28][29][30]

O diagnóstico tem por base uma avaliação clínica completa, o histórico do doente e uma variedade de exames. Recomenda-se a realização de um hemograma completo, biópsia medular, testes citogenéticos, raios-X para deteção e avaliação da extensão das malformações esqueléticas, ultrasonografia do trato urinário e avaliação do desenvolvimento, sobretudo em crianças em idade escolar. [29]

Devido aos muitos genes e mutações associadas à AF, um único teste genético não é suficiente para uma primeira abordagem em doentes com falência da medula óssea. O teste de instabilidade cromossómica é o exame de referência para o diagnóstico desta doença hereditária, sendo o seu fundamento baseado na sensibilidade de linfócitos e fibroblastos a produtos químicos indutores de instabilidade e rutura cromossómica, como diepoxibutano (DEB) ou mitomicina C (MMC). [30]

Cerca de 10 a 30% dos indivíduos com AF têm um risco aumentado de desenvolver leucemia mieloide aguda (LMA) ou tumores sólidos na cabeça, pescoço, pele, sistema gastrointestinal ou trato genital. A estes doentes está associado um pior prognóstico, assim como a doentes com mutação no gene *FANCD2*, que geralmente apresentam um fenótipo mais grave. [27][28][30]

É essencial testar a AF antes da realização de transplante de células estaminais hematopoiéticas ou previamente a um tratamento de quimioterapia ou radioterapia, devido a um risco acrescido de toxicidade para doentes com esta patologia. [29][30]

4.2.5 Terapêutica

O tratamento da AF é direcionado aos sintomas específicos que são aparentes em cada indivíduo, podendo exigir os esforços coordenados de uma equipa de especialistas e a monitorização periódica do hemograma, avaliação estrutural e funcional de órgãos e o despiste de neoplasias. A cirurgia constitui uma possibilidade para a correção de malformações esqueléticas, anomalias cardíacas e gastrointestinais. [29][31]

Tendo em conta as alterações hematológicas características da AF, verifica-se uma melhoria transitória na contagem de células sanguíneas com a administração de fatores de crescimento hematopoiéticos, nomeadamente de eritropoietina, G-CSF e GM-CSF. Esta resposta também é observada, apesar de mais pronunciada nas plaquetas e eritrócitos, em mais de 50% dos casos com a administração combinada de androgénios e baixas doses de corticoides (hidrocortisona ou prednisolona), contudo pode desenvolver-se resistência com a toma continuada dos mesmos. [28][29][31][32]

Até o momento, a única terapia curativa para as alterações hematológicas consiste no transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas (TACEH). Este deve ser cuidadosamente considerado com base em critérios clínicos e biológicos, incluindo idade, gravidade da pancitopenia, displasia significativa da medula óssea, excesso de células blásticas, anormalidades citogenéticas e compatibilidade imunológica com o dador. [28][29][30][31][32]

Idealmente, a fonte de células estaminais hematopoiéticas é um irmão HLA compatível, podendo existir necessidade de recorrer ao “bebé-medicamento” para o efeito. Esta possibilidade justifica-se graças à tecnologia reprodutiva que permite a realização de um diagnóstico genético pré-implantação (DGPI) de forma a selecionar um embrião que preenche esses critérios para posterior fertilização *in vitro* (FIV). [28][31][32][33]

Para facilitar o transplante e não haver rejeição recorre-se, geralmente, a quimioterapia ou radioterapia. Os regimes-padrão de condicionamento de transplante incluem fludarabina, ciclofosfamida e irradiação total do corpo. A prática destes regimes tem inconvenientes associados, particularmente, toxicidade para alguns doentes e o aumento do risco de infeções oportunistas. Para além do mencionado, qualquer transplante apresenta um risco de rejeição e complicações subsequentes. Como tal, de forma a contornar estes obstáculos, surgiu uma nova terapia génica, na qual células estaminais hematopoiéticas autólogas e geneticamente modificadas são utilizadas para o transplante. As células corrigidas devem exibir uma vantagem de sobrevivência e proliferação sobre as células AF não corrigidas, propensas a stress oxidativo, sensibilidade a citocinas pró-inflamatórias e à apoptose. [31][32]

Estudos têm sido realizados e desenvolvidos no âmbito da terapia génica e no contexto desta patologia, nos quais têm sido utilizados vetores retrovirais, lentivirais e adenovirais, sendo os últimos mais vantajosos devido ao seu baixo potencial imunogénico e risco oncogénico reduzido comparativamente aos dois primeiros. Para além da utilização de vetores, têm sido investigadas estratégias de enriquecimento de células CD34⁺, uma vez que estas são fundamentais para o sucesso da correção genética e, conseqüentemente, da restauração da hematopoiese após um transplante autólogo de células estaminais hematopoiéticas. [31][32]

5. Procriação medicamente assistida

A procriação medicamente assistida consiste na reprodução realizada através do uso de tecnologias de reprodução assistida (TRA), que inclui todos os tratamentos e técnicas que abrangem o manuseamento *in vitro* de gâmetas ou embriões humanos com a intenção de gerar uma gravidez. [34][35]

De modo a assegurar o sucesso da terapia recorrendo ao “bebê-medicamento”, é indispensável garantir o cumprimento de todas as etapas que integram a procriação medicamente assistida e o teste genético de pré-implantação. Estas incluem:

1. Genotipagem da mutação, para doenças monogénicas, através de amostras de sangue dos progenitores, ou amostras de esfregaço da mucosa bucal, e posterior criação de sondas por um laboratório de genética; [36]
2. Regulação negativa da hipófise, hiperestimulação ovárica controlada, maturação folicular final, recuperação de gâmetas, FIV com injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) e cultura de embriões. [35][36][37][38]
3. Biópsia dos corpos polares do oócito ou biópsia do embrião em fase de blastómero ou blastocisto. Quando a biópsia do trofotoderme é realizada, é necessário a criopreservação de embriões imediatamente após a biópsia, uma vez que os resultados só estarão disponíveis no ciclo subsequente. [37][38][39]
4. Amplificação e teste genético de pré-implantação, usando métodos como a hibridização fluorescente *in situ* (FISH), PCR quantitativo (qPCR), hibridização genómica comparativa (aCGH), microarray de polimorfismo de nucleótido único (SNP) ou sequenciamento de próxima geração (NGS). [36][37][38]
5. Transferência intrauterina de um ou mais embriões euploides, com ausência de doença e HLA-compatíveis. [35][36][37][38]

5.1 Tecnologias de reprodução assistida

5.1.1 Regulação negativa da hipófise

A regulação negativa da hipófise é realizada para inibir a libertação de gonadotrofinas endógenas e a ovulação prematura, garantindo assim que os oócitos estejam disponíveis para recuperação. Ambos os agonistas e antagonistas da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH) são usados para regulação negativa. A administração de agonistas de GnRH causa a estimulação inicial de gonadotrofinas endógenas, seguido por depleção de recetores e redução nos níveis da hormona luteinizante (LH) e da hormona folículo-estimulante (FSH). Os antagonistas de GnRH inibem diretamente a libertação de gonadotrofinas por meio da ligação competitiva aos recetores hipofisários de GnRH, facilitando a hipofisectomia química. [35]

5.1.2 Estimulação ovárica controlada

O citrato de clomifeno foi o primeiro medicamento a ser usado para estimulação ovárica controlada, inicialmente sozinho e posteriormente em combinação com a FSH. O objetivo desta estimulação é elevar os níveis de FSH circulante que, por sua vez, promovem o desenvolvimento multifolicular. [35]

5.1.3 Maturação folicular

Uma vez alcançada a estimulação ovárica controlada satisfatória, a regulação negativa da hipófise é descontinuada, através da administração de gonadotrofina coriônica humana (hCG), que irá simular o pico de LH que ocorre em ciclos naturais, para facilitar a maturação folicular final, retomada da meiose, e formação do corpo lúteo. [35]

5.1.4 Recuperação de gametas

Uma abordagem transvaginal guiada por ultrassom é o procedimento mais comumente realizado para a remoção de oócitos (Figura 4). Outra opção, é a recuperação laparoscópica de oócitos ou guiada por ultrassom transabdominal, usada apenas se os ovários estiverem inacessíveis pela via transvaginal. A amostra de sêmen é geralmente obtida por masturbação, após um período de abstinência de 2 a 5 dias de atividade sexual. [35]

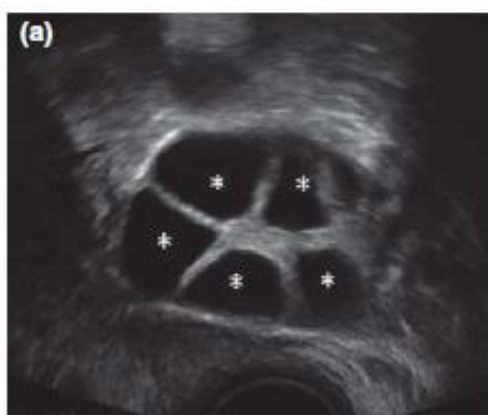


Figura 4: Imagem obtida a partir de ultrassom transvaginal de um ovário multifolicular, 9 dias após hiperestimulação ovárica controlada com gonadotrofinas. Retirado de [35]

5.1.5 Procedimentos de embriologia

O método padrão de fertilização de gametas é a FIV com ISCI. Geralmente, é iniciada 4 a 6 horas após a recuperação do oócito e envolve a técnica de micromanipulação de injeção de um único espermatozoide, após imobilização, diretamente no ooplasma (Figura 5). [35]

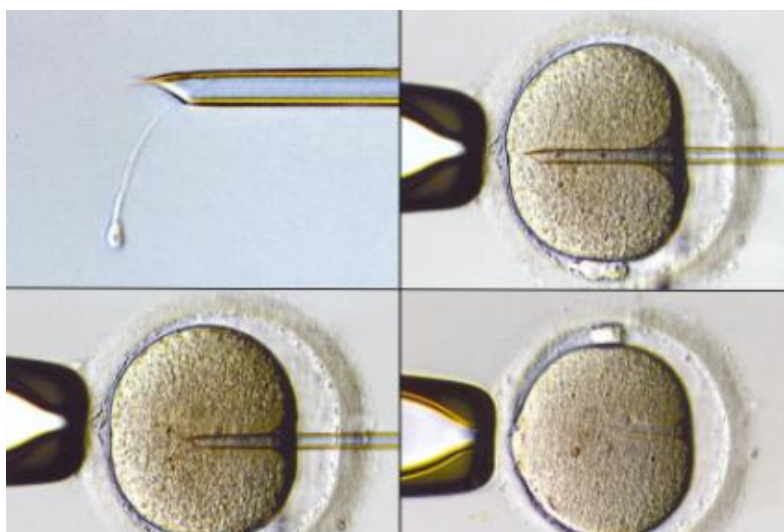


Figura 5: Injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ISCI). Retirado de [39]

5.2 Teste genético de pré-implantação

O teste genético de pré-implantação foi introduzido no início da década de 90, com a utilização de métodos baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR) na determinação do sexo de embriões provenientes de casais portadores de doenças ligadas ao cromossoma X. Esta prática permitiu a transferência de embriões selecionados e não afetados, evitando assim a interrupção eletiva da gravidez após a realização de testes pré-natais. [36][38][40][41]

Os recentes desenvolvimentos tecnológicos tornaram o teste genético de pré-implantação uma importante ferramenta clínica na prevenção de doenças genéticas, e um procedimento estabelecido nas práticas genéticas e nas tecnologias de reprodução medicamente assistida. [41]

De um modo geral, o teste genético de pré-implantação define-se como o uso de tecnologias reprodutivas para a análise genética de embriões, antes da transferência e implantação uterina. Existem dois modelos de testes genéticos de pré-implantação, dependendo das indicações para os quais são utilizados: diagnóstico genético pré-implantação (DGPI) e triagem genética pré-implantação (TGPI), que se definem, segundo o Comité Internacional de Monitorização de Tecnologia de Reprodução Assistida (ICMART) e o glossário revisto da Organização Mundial de Saúde (OMS) de terminologia de tecnologia de reprodução assistida como "análise de corpos polares, blastómeros ou trofotoderme de oócitos, zigotos ou embriões para a detecção de alterações genéticas, estruturais e/ou cromossômicas específicas" e "análise de corpos polares, blastómeros ou trofotoderme de oócitos, zigotos ou embriões para a detecção de aneuploidia, mutação e/ou rearranjo de DNA", respetivamente. [34][36][37][38][42]

5.2.1 Indicações

A prática de testes genéticos de pré-implantação foi esclarecida numa reunião da OMS, em setembro de 2001, a qual incidiu em aspetos médicos, éticos e sociais da procriação medicamente assistida. Foi definido que pode ser aplicado em duas situações distintas: casais com risco de ter filhos com doenças que envolvam um único gene ou para o despiste de distúrbios cromossômicos, tanto numéricos como estruturais. [40]

Atualmente, a aplicação dos testes genéticos de pré-implantação é mais extensa, permitindo identificar mais de 200 doenças genéticas. As indicações do DGPI incluem a identificação de embriões portadores de doenças autossômicas recessivas, doenças autossômicas dominantes, doenças ligadas aos cromossomas sexuais, doenças genéticas de início tardio (por exemplo, Doença de Huntington), anormalidades estruturais cromossômicas (translocações) e distúrbios mitocondriais. [36][38][41]

Outra aplicação do DGPI, apesar das questões éticas envolvidas, é a tipagem HLA. Esta constitui um meio de melhoria do acesso a transplante HLA-compatível de células estaminais para doenças congénitas e adquiridas de um irmão afetado (visando um "savior sibling" – "bebê medicamento"), para as quais nenhum tratamento alternativo está disponível. No procedimento do DGPI, os embriões são testados no âmbito da FIV, de forma a que apenas os HLA compatíveis sejam transferidos para o útero, permitindo uma gravidez livre de distúrbios genéticos e nascimento de uma criança que será o dador vivo do irmão doente. A tipagem HLA pré-implantação foi aplicada, pela primeira vez, para a anemia de Fanconi, tendo sido necessário, neste caso, a realização simultânea do DGPI para correspondência de HLA e ausência de mutação, visto que se trata de uma doença gerada por uma mutação num único gene. [36][38][41]

A TGPI é empregue na detecção de anormalidades cromossômicas numéricas (aneuploidias), no contexto de tratamentos de reprodução medicamente assistida, de forma a aumentar o sucesso da gravidez. Neste processo, realiza-se a transferência de embriões euplóides e é, portanto, proposto a mulheres em idade materna avançada, casais com falha de implantação repetida, com recorrência de abortos e casais com infertilidade de fator masculino grave. [36][38]

5.2.2 Biópsia

A biópsia para fins de DGPI ou TGPI pode ser realizada em diferentes estágios de desenvolvimento do embrião, durante os procedimentos de FIV. A técnica pode ser realizada por meio de biópsia do oócito (um ou dois corpos polares), embrião em estágio de clivagem (um ou dois blastómeros) ou embrião em estágio de blastocisto (5 a 10 células do trofotoderme). A comparação entre as diferentes biópsias referidas, em relação ao procedimento, vantagens e desvantagens, está representada na Tabela 4. [37][38][42]

a) Biópsia do corpo polar (CP)

A biópsia de corpo polar envolve a remoção do primeiro e do segundo corpos polares, antes da clivagem do embrião. A remoção do CP requer acesso ao espaço perivitelino do oócito por meio da criação de uma abertura na zona pelúcida, que pode ser realizada por dissecação mecânica ou a laser. Este procedimento pode ser feito sequencialmente, removendo o primeiro e o segundo CPs em momentos separados, ou idealmente, por uma abordagem em que ambos os CPs são removidos simultaneamente, 8 a 14 horas após a ICSI. [38][42]

O uso clínico da biópsia do CP foi relatado pela primeira vez na década de 1990, sem efeitos adversos nas taxas de fertilização subsequentes ou no desenvolvimento para o estágio de clivagem. Embora a biópsia do CP evite a remoção de células do embrião, é limitada pelo facto de que apenas cromossomas ou genes maternos podem ser analisados. Desta forma, a contribuição paterna não é contabilizada, além de que, a quantidade de material genético obtido de uma única célula é bastante reduzida. Por estas razões, a biópsia do corpo polar não é amplamente utilizada no contexto do DGPI, constituindo ainda um alvo de debate relativo a questões relacionadas com a sua eficácia, custo associado, elevado número de oócitos que precisa ser testado, a alta incidência de anormalidades cromossômicas pós-meióticas que não podem ser detetadas por esta abordagem e a questionável precisão diagnóstica dada a possível autocorreção da aneuploidia meiótica. [38][42]

b) Biópsia no estágio de clivagem (blastómero)

A biópsia embrionária foi desenvolvida inicialmente na fase de clivagem, na qual 1 ou 2 blastómeros são removidos de um embrião de 6 a 8 células. Contudo, foi anteriormente demonstrado que a extração de dois blastómeros tem efeitos prejudiciais no desenvolvimento do embrião e, portanto, deve ser evitada. A abertura da zona pelúcida pode ser realizada por solução ácida de Tyrode (pH 2), por dissecação mecânica ou por dissecação a laser. [37][38][40][42]

Esta biópsia é vantajosa em comparação com a biópsia do corpo polar, uma vez que as contribuições genéticas maternas e paternas para o embrião são contabilizadas. No entanto, permanecem as limitações relacionadas à pequena quantidade de material genético, incluindo a detecção de mosaicismo, que constitui um potencial causador de erros de diagnóstico. Para além destas limitações, a remoção de células no estágio de clivagem tem mostrado retardar o desenvolvimento do embrião para o estágio de blastocisto e diminuir as taxas de implantação e gravidez. [37][38][40][42]

c) Biópsia do Trofotoderme

O progresso nos meios de cultura sequenciais permitiu a cultura bem-sucedida de embriões no estágio de blastocisto, possibilitando a aplicação da biópsia do trofotoderme na prática clínica. Esta técnica caracteriza-se pela remoção de 5 a 10 células do trofotoderme no dia 5 ou 6 de desenvolvimento embrionário. [36][38][41][42]

A biópsia do trofotoderme é mais vantajosa comparativamente à biópsia no estágio de clivagem, tendo em conta que a recuperação de 5 a 10 células do trofotoderme de um blastocisto de 100 ou 150 células corresponde a uma proporção menor de perda celular (3,3% a 10%) do que a remoção de um ou dois blastómeros de um embrião de 6 a 8 células (redução do conteúdo da célula em 12,5% a 33%). Adicionalmente, a biópsia do blastocisto também garante uma melhor precisão, sensibilidade e especificidade no DGPI e está associada a taxas mais baixas de mosaicismo. Esta técnica apresenta ainda uma boa relação custo-benefício, por permitir que menos embriões sejam testados e uma diminuição dos erros associados à amplificação do material genético. Apesar de ter sido associada a melhores taxas de gravidez após a transferência do blastocisto, apresenta a desvantagem de, na maioria dos centros de FIV, as células provenientes da biópsia serem enviadas para um laboratório de referência, o que requer a criopreservação do blastocisto após a biópsia e a transferência de embriões não afetados num ciclo subsequente. [36][38][41][42]

Tabela 4: Comparação entre as diferentes biópsias possíveis para fins de testes genéticos de pré-implantação

Biópsia	Corpo Polar	Estágio de Clivagem	Trofotoderme
Procedimento	Remoção do 1º e 2º corpos polares antes da clivagem do embrião	Remoção de 1 ou 2 blastómeros de um embrião com 6ª 8 células	Remoção de 5 a 10 células do trofotoderme de um blastocisto com 100 ou 150 células
Vantagens	Evita a remoção de células do embrião	Contribuições genéticas maternas e paternas contabilizadas	Contribuições genéticas maternas e paternas contabilizadas Menor proporção de perda celular (comparativamente com a biópsia no estágio de clivagem) Maior precisão, sensibilidade e especificidade Taxas inferiores de mosaicismo Boa relação custo-benefício
Desvantagens	Contribuição genética paterna não contabilizada Quantidade de material genético reduzida	Quantidade de material genético reduzida Retarda o desenvolvimento do	Requer a criopreservação do blastocisto após a biópsia e a transferência uterina dos embriões num ciclo subsequente

	Eficácia e precisão questionáveis Necessidade de elevado número de oócitos Elevada incidência de anormalidades cromossômicas pós-meióticas	embrião para o estágio de blastocisto Diminuição das taxas de implantação e de gravidez	
--	--	--	--

5.2.3 Métodos

Da mesma forma que se verificaram avanços nas técnicas de biópsia embrionária, também nos métodos aplicados no DGPI se verificou tal acontecimento. Face às limitações técnicas importantes observadas no método de hibridização fluorescente *in situ* (FISH), novas técnicas citogenéticas foram desenvolvidas, como qPCR, aCGH, microarray de SNP e NGS. As aplicações de cada um dos métodos podem ser observadas na Figura 8. [36][37][38][42]

a) Hibridização Fluorescente *in situ* (FISH)

A FISH é um dos métodos mais antigos usado em testes genéticos de pré-implantação, tendo sido a sua primeira utilização relatada em 1993, com o intuito de determinar aneuploidia. Outros avanços incluíram a sua aplicação na determinação de translocações cromossômicas. [36][37][42]

Após a biópsia embrionária, o material genético recolhido é colocado numa solução hipotónica e é digerido e fixado com metanol e ácido acético. Posteriormente, realiza-se o teste FISH, que envolve a identificação de cromossomas ou dos seus fragmentos através da utilização de sondas moleculares marcadas com fluorocromos. Estas sondas são complementares a regiões específicas do DNA que estão sujeitas à hibridização sob condições específicas, sendo o resultado observado num microscópio de fluorescência (Figura 6). [37]

Este método não permite avaliar os 24 pares de cromossomas, uma vez que o número de sondas usadas em cada ciclo de hibridização é reduzido. Portanto, é limitado às anomalias cromossômicas mais comuns, que envolvem os cromossomas 13, 15–18, 21, 22, X e Y. Outra desvantagem da FISH é o reduzido grau de confiança dos seus resultados, devido ao elevado risco de erro associado a incorreta fixação das sondas e à sobreposição de sinal. [36][37][38]

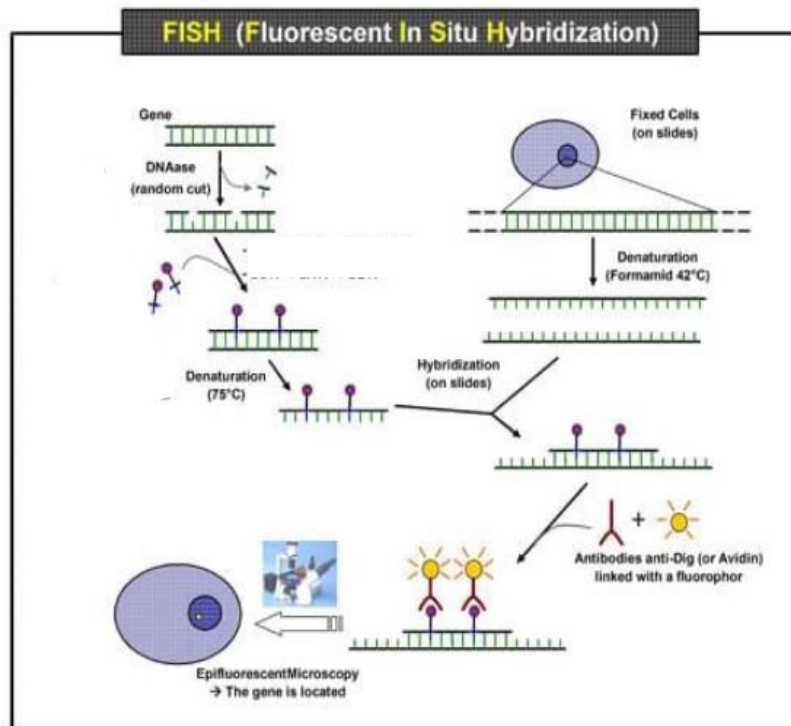


Figura 6: Fundamento da Hibridização fluorescente *in situ*. Retirado de [43]

b) Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa (qPCR)

A reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) foi desenvolvida com o propósito de analisar, de forma rápida, os 24 pares de cromossomas e permitir a identificação de aneuploidia. As vantagens da qPCR incluem um tempo de análise curto (aproximadamente 4 horas), permitindo a transferência de embriões no mesmo ciclo de FIV; elevada precisão (98,6%) resultante da utilização de pontos de corte específicos para cada cromossoma e taxa de erro baixa (0,21%) por embrião designado como euploide. As limitações deste método incluem a reduzida quantidade de material genético, que requer um grande número de ciclos de amplificação e que, consequentemente, leva a um elevado risco de contaminação. Uma forma de contornar estes obstáculos é através da PCR multiplex, que consiste na amplificação simultânea de um ou mais marcadores polimórficos, localizados no mesmo cromossoma e próximo do gene causador da doença. [38][42]

c) Hibridização Genómica Comparativa (aCGH)

A hibridização genómica comparativa é usada para detetar a duplicação ou deleção de fragmentos de cromossomas e translocações cromossómicas sem haver a necessidade de proceder a uma cultura de células. O método é baseado no uso de DNA padrão e DNA da amostra marcados com diferentes fluorocromos e colocados numa lâmina ou placa metafásica. Deste modo, os dois genomas codificados com cores diferentes e cortados enzimaticamente em pequenos fragmentos reorganizam-se nos cromossomas, usando a regra de complementaridade e competição por locais de hibridização. Todas as diferenças quantitativas entre eles são visíveis como uma predominância de uma cor sobre a outra (Figura 7). [37][38][42]

A aCGH é um método preciso, sensível e rápido (análise em 24h), contudo a pequena quantidade de DNA disponível para o DGPI pode contribuir para a taxa de erro (estimada em cerca de 2% a 5%). [42]

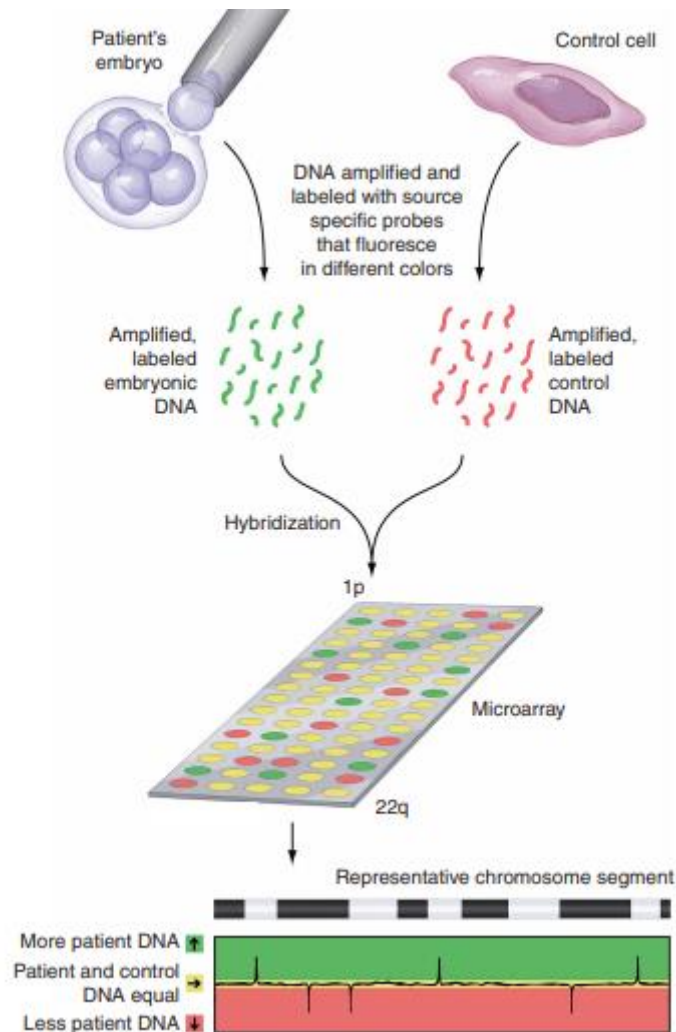


Figura 7: Análise do DNA de um blastômero usando o método de hibridização genômica comparativa (aCGH). Retirado de [44]

d) Microarray de Polimorfismo de Nucleótido Único (SNP)

Um SNP é uma variante da sequência de DNA na qual, num *locus* particular, um de dois ou mais nucleótidos podem estar presentes em diferentes cromossomos dentro de uma população. A maioria das matrizes SNP deteta 660.000 a 2 milhões de SNPs ao longo do genoma e fornece um genótipo para cada amostra em comparação com um genoma de referência. Para citogenética molecular, a análise da razão da intensidade de ambos os alelos em *loci* heterozigotos permite a detecção de alta resolução de duplicações e deleções de cromossomos em pequenas regiões. Este método tem particular interesse no DGPI na identificação de defeitos num único gene, translocações cromossômicas e aneuploidia. Porém existem limitações, que estão relacionadas com o custo, o tempo e a complexidade do método. [37][38][42]

e) Sequenciamento de Próxima Geração (NGS)

O sequenciamento de próxima geração (NGS) para o DGPI inclui a amplificação do genoma inteiro, seguida pela preparação da biblioteca genômica com marcação e fragmentação do DNA. Existem, atualmente, 2 plataformas principais para NGS - Illumina MiSeq (Illumina Inc., San Diego, CA) e Thermo Fisher Ion PGM (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Ambas as plataformas são sequenciadores de bancada e apresentam aplicações clínicas direcionadas, todavia utilizam diferentes técnicas de sequenciamento. [37][42]

O Illumina MiSeq é baseado no sequenciamento por síntese, em que bases únicas são detetadas por um marcador fluorescente à medida que são incorporadas nas cadeias de DNA em crescimento. Aplica-se na identificação de aneuploidia de cromossomos inteiros, doenças monogénicas, translocações, mutações de novo, mosaicismo e distúrbios mitocondriais, com uma taxa de erro de cerca de 0,8%. O Thermo Fisher Ion PGM usa a tecnologia de sequenciamento de semicondutor, em que um próton é libertado quando um nucleótido é incorporado na cadeia de DNA em crescimento. A libertação de prótons desencadeia uma mudança no pH que é detetada por um sensor, o qual transmite pulsos elétricos a um computador que os traduz numa sequência de DNA. Esta plataforma pode identificar aneuploidia de cromossomos inteiros, deleções ou duplicações, doenças monogénicas, mutações de novo, mosaicismo e distúrbios mitocondriais com uma taxa de erro geral de 1,71%. [42]

A principal desvantagem deste método é o custo associado aos equipamentos necessários, no entanto, esta tecnologia permite a realização de análises de várias amostras simultaneamente, com sensibilidade e especificidade de 100% e 99,98%, respetivamente. [37][42]

Table 1. Examples of applications of PGD/PGS techniques

Indications	FISH	aCGH	SNP array	NGS
Sex selection	YES	YES	YES	YES
Screening tests for aneuploidy	YES/Specific locus	YES	YES	YES
Aberrations associated with a changed number of DNA copies	YES/Specific locus	YES	YES	YES
Chromosomal rearrangements (translocations)	YES/Specific locus	YES*	YES*	YES*
Single-gene mutations	NO	NO	YES	YES
De novo mutations	NO	NO	NO	YES
Mitochondrial mutations	NO	NO	NO	YES

*changes in fragments > 6 MB; aCGH — array comparative genomic hybridization; FISH — fluorescent *in situ* hybridization; NGS — next generation sequencing; SNP — single nucleotide polymorphism

Figura 8: Aplicações dos diferentes métodos dos testes genéticos de pré-implantação. Retirado de [37]

5.2.4 Limitações

As principais limitações dos testes genéticos de pré-implantação são a sua baixa taxa de implantação e consequente reduzido número de nados vivos. Estas limitações podem ser explicadas por dificuldades técnicas encontradas durante os procedimentos de FIV, técnicas de biópsia e cultura de embriões e nos métodos de diagnóstico genético. [38]

Acredita-se que os resultados adversos mais comumente discutidos sejam devidos a erro humano, contaminação com DNA de origem materna ou paterna e mosaicismo. Erros humanos e/ou laboratoriais podem ocorrer em todas as etapas do procedimento, para além de que as práticas de testes genéticos de pré-implantação são cada vez mais complexas e

de difícil interpretação. Por esta razão, os casais podem ser confrontados com a decisão de transferir ou não um embrião com base numa estimativa calculada de risco, resultados incompletos ou erróneos de um embrião não afetado, HLA-compatível ou euploide. [36][38]

5.2.5 Recomendações

Antes da realização do DGPI, o aconselhamento genético é essencial e nele devem constar informações relativas aos riscos associados às tecnologias de reprodução assistida, à biópsia e métodos de cultura aplicados; as limitações das técnicas do DGPI, incluindo o risco de diagnóstico incorreto e a necessidade de testes de diagnóstico pré-natais subsequentes para confirmar os resultados obtidos e opções relacionadas com o teste de diagnóstico pré-natal, os seus riscos e limitações. Adicionalmente, os pacientes devem ser informados acerca da probabilidade de o teste não produzir resultados conclusivos; da possibilidade de não existirem condições de transferência de nenhum embrião HLA-compatível e não afetado e, ainda, relativamente, ao destino dos embriões não transferidos (rejeição, criopreservação, investigação ou doação). [36][38][41]

É fundamental garantir que os pacientes compreendam na totalidade a informação fornecida devido à complexidade dos procedimentos, custo associado e às limitações técnicas e dos resultados. Por outro lado, devem ser-lhes apresentadas alternativas e a hipótese de optar por não prosseguir com a FIV e o DGPI. [36][38][41]

5.2.6 Perspetivas Futuras

Apesar dos desenvolvimentos significativos nos testes genéticos de pré-implantação, ainda existem desafios importantes. A aplicação de novas tecnologias de alta resolução detetou também algumas variações genéticas, cuja importância biológica e clínica não é suficientemente compreendida. Para além disso, existem limitações nos testes genéticos para seleção de embriões com o maior potencial de resultar em nados vivos, exigindo o desenvolvimento de métodos adicionais para melhorar ainda mais o processo de seleção. A mudança dos procedimentos de biópsia do estágio de clivagem para blastocisto, juntamente com a aplicação de técnicas *in vitro*, tem contribuído muito para a melhoria do resultado reprodutivo do DGPI. Contudo, o dano potencial do procedimento de biópsia não pode ser excluído e, desta forma, pesquisas futuras devem possibilitar o desenvolvimento de abordagens não invasivas. De especial importância será o desenvolvimento do DGPI universal num único teste, o que poderia permitir o teste simultâneo para distúrbios múltiplos, que se manifestam não apenas na altura do nascimento, mas também em idade avançada, e para os quais não há diagnóstico e/ou tratamento disponíveis. [36][41]

6. Aspetos éticos

Proibir a terapêutica que recorre à utilização de um “bebé-medicamento” significaria negar a possibilidade de tratamento a uma criança já nascida gravemente doente ou que adoeceu com pouca idade. Muito provavelmente, essa proibição iria, conseqüentemente, privá-la do direito à vida. No entanto, embora a permissão deste procedimento possa ser útil para uma criança que precise de transplante, certamente levantaria questões sobre colocar em risco a saúde e os interesses de outra criança que irá nascer a fim de ser dadora. [1][3]

Várias objeções são levantadas relativamente ao “bebé-medicamento”. A primeira questão ética reside na própria natureza da criação de um “bebé-medicamento”, ou seja, se é eticamente aceitável criar um filho com a finalidade de cumprir um objetivo específico, isto é, se é ético tratar crianças como um meio para alcançar um objetivo e não como um fim em si mesmo. Esta questão vai contra a Ética Kantiana, a qual defende que as pessoas sejam valorizadas em si mesmas. Além disso, existe o receio de que permitir esta técnica leve ao “desenho” futuro de bebés e que coloque em risco a saúde psicológica e física da criança dadora, uma vez que o direito a uma vida saudável é um dos direitos fundamentais ao abrigo da legislação da União Europeia (EU). [1][2][3][4][10][40]

É necessário definir as circunstâncias em que este procedimento deve ser permitido ou, mais precisamente, quais as condições médicas que justificam o nascimento de “bebés-medicamento”. Antes da tomada de decisão de utilizar este procedimento, é crucial considerar todas as opções possíveis e alternativas terapêuticas disponíveis. Além disso, é igualmente importante determinar se, na ausência do procedimento, a doença em causa levaria à morte ou a uma diminuição considerável das capacidades do indivíduo doente. [1]

6.1 Bioética: Princípios de Beauchamp e Childress

Os princípios de Beauchamp e Childress são amplamente aceites na prática clínica e constituem um importante padrão internacional na bioética. Estes princípios são quatro e possuem igual relevância e complexidade na tomada de decisão: [7][10]

- Respeito pela autonomia, o que implica que as escolhas autodeterminadas dos pacientes em relação a questões e cuidados de saúde devem ser respeitadas pelos profissionais;
- O princípio da não-maleficência, que determina que os profissionais de saúde devem salvar os seus pacientes de danos e não causar danos, ou seja, devem ser salvaguardadas as vidas tanto do doente, como do “bebé-medicamento”;
- O princípio da beneficência, que pressupõe a obrigação de promover a saúde e o bem-estar dos doentes, isto é, reside na forma como a equipa terapêutica trata o doente, consoante as opções de tratamento disponíveis;
- E o princípio da justiça, que exige um tratamento justo e igualitário dos doentes na alocação de recursos e no respeito aos direitos individuais, ou seja, relaciona-se com a questão de como lidar com um recurso escasso, neste caso particular, relativo à ausência de terapêuticas alternativas. [7][10]

Na perspetiva do “bebé-medicamento”, dois princípios são violados, o respeito à autonomia e o princípio da não-maleficência. Relativamente, ao respeito à autonomia este é, geralmente, garantido por meio do consentimento informado. No entanto, o consentimento informado em sentido pleno não é possível devido ao incumprimento dos elementos de competência e capacidade de compreensão refletidos na idade do dador. Ou seja, a capacidade de tomada de decisões não está alocada ao dador, mas sim aos seus tutores legais - os pais - e surgem

dúvidas quanto à compreensão da informação sobre a natureza, o objetivo e as consequências do procedimento de forma adequada. O princípio da não-maleficiência é posto em causa tendo em conta os possíveis danos psicológicos e físicos derivados de métodos invasivos aplicados à criança dadora. [10]

Considerando os princípios acima mencionados, gera-se conflito de responsabilidades e obrigações da equipa terapêutica. A principal responsabilidade dos profissionais de saúde é com a criança doente, porém, também existe uma obrigação para com o dador, o “bebé-medicamento”. Por esta razão, houve a necessidade de serem definidas diretrizes de forma a apoiar a equipa terapêutica no contexto de transplante de células estaminais hematopoéticas por menores. A American Academy of Pediatrics formulou cinco critérios segundo os quais o transplante num menor é eticamente admissível: (a) Ausência de dador adulto compatível; (b) Relacionamento emocional e pessoal entre o dador e o recetor; (c) Provável benefício de saúde para a criança doente; (d) Minimização dos riscos clínicos, emocionais e psicológicos para o dador; (e) Consentimento dos pais e, quando possível, da criança dadora. [10]

6.2 Enquadramento legal

O “bebé-medicamento” é legal em alguns países, nomeadamente em Portugal, contudo países como a Suíça e Áustria ainda oferecem resistência à sua utilização. [1][3][4][9][10]

Embora seja um requisito de equidade, a igualdade de acesso à procriação medicamente assistida, não é uma realidade na Europa. Provisões legais nacionais restritivas criam barreiras e injustiça social. As autoridades de saúde nacionais da UE e dos seus Estados-Membros (EM) devem permitir a igualdade de acesso a TRA e ao DGPI, como parte dos cuidados de saúde e fornecer informação relativamente a esta opção terapêutica. [9][36]

Em 2004, o Comité de Políticas Públicas e Profissionais da Sociedade Europeia de Genética Humana (ESHG) juntamente com a Sociedade Europeia de Reprodução Humana e Embriologia (ESHRE) forneceram recomendações profissionais relativas ao uso de TRAs, bem como a emissão de diretrizes sobre os objetivos aceitáveis do tratamento baseado nestas tecnologias e sua priorização nos sistemas de saúde europeus. [1][9]

Dado o conhecimento científico acumulado e o rápido desenvolvimento de TRAs, a partir de 2006, alguns países da Europa promulgaram ou modificaram a legislação referente à procriação medicamente assistida e/ou testes genéticos. [9] No caso de Portugal, segundo o Artigo 2º da Consolidação da Lei n.º 32/2006 do Diário da República n.º 143/2006, Série I de 2006-07-26, com a atual redação (lei da procriação medicamente assistida), esta destina-se a regular as técnicas de procriação medicamente assistida, nomeadamente FIV, ICSI, transferência intrauterina e DGPI. De acordo com o seu Artigo 7º, referente a finalidades proibidas, as TRAs não poderão ser utilizadas para conseguir melhorar determinadas características não médicas, designadamente a escolha do sexo, à exceção de casos em que haja risco elevado de doença genética ligada ao sexo, ou quando seja ponderosa a necessidade de obter grupo HLA-compatível para efeitos de tratamento de doença grave. [45]

Relativamente ao procedimento de FIV e, de acordo com a boa prática clínica, só devem ser criados embriões em número considerado necessário para o sucesso do processo (Artigo 24º - Princípio geral). Os embriões não transferidos deverão ser criopreservados por um período de 3 anos, consoante situações devidamente justificadas. Decorrido o prazo estipulado, os embriões poderão ser doados para um tratamento futuro ou para investigação, segundo um consentimento informado assinado pelos beneficiários originais ou, caso a doação não seja

consentida, os embriões podem ser descongelados e eliminados por determinação do Diretor do Centro, após comunicação prévia ao Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida. (Artigo 25º - Destino dos embriões). [45]

6.3 Questões morais

A criação de um “bebé-medicamento” gera um dilema ético, em grande medida, porque há duas questões morais em jogo. Por um lado, há uma criança doente em risco de vida e, portanto, é responsabilidade emocional e moral dos pais fazerem tudo o que puderem para salvá-la. Por outro lado, existe uma tecnologia disponível que pode ser útil, mas é considerada por alguns como moralmente problemática, pois envolve conceber outra criança com um propósito específico em mente. [1][2][46]

Existem vários contra-argumentos à objeção acima mencionada. Em primeiro lugar, o facto de os pais desejarem ter um filho que seja um dador adequado, nada diz sobre o seu desejo de ter esse filho para outros fins. É perfeitamente possível que desejem ter descendência e, nesse caso, a sociedade certamente não deve considerar a criança apenas como um instrumento. O amor que os pais terão por aquele filho não pode ser questionado, porque o amor não é mensurável mesmo quando uma criança é concebida naturalmente, sem a ideia de vir a servir como dadora. Além disso, nunca se pode dar uma resposta definitiva se os pais, mesmo quando concebem um filho naturalmente, são sempre guiados pelas razões que excluem ver o filho como um meio para um fim. Quaisquer que sejam as razões, a maneira como tratam o filho depois do seu nascimento é muito mais importante do que os motivos que o motivaram a concebê-lo. [1][46]

Outra questão que se coloca, é relativa ao possível impacto deste procedimento na saúde psicológica de uma criança que servirá como dadora de um irmão ou irmã doente, tendo em conta traços distintivos da infância que exigem cuidados especiais, como vulnerabilidade, fragilidade, dependência e inocência. Contudo, é igualmente questionável, se o possível impacto na saúde psicológica da criança dadora é de maior importância do que a vida de uma criança gravemente doente. [1][46]

Um estudo realizado por meio de um questionário aplicado a pais de duas redes nacionais de apoio à anemia de Fanconi (AF), nos EUA e Canadá, destinou-se a compreender a consciência, percepções e crenças dos pais sobre a tomada de decisão reprodutiva, incluindo dimensões emocionais, cognitivas e morais. Segundo este estudo, os pais que tinham conhecimento sobre o DGPI avaliaram a saúde da criança com AF como o fator mais importante no processo de tomada de decisão. Depois da saúde da criança, as três respostas mais frequentes foram de natureza cognitiva, incluindo a precisão do teste, a probabilidade de sucesso por ciclo e os custos associados. Os três fatores considerados, pelos pais, como menos relevantes diziam respeito a preocupações sobre a escolha das características da criança, preocupações de que a criança nascida por FIV-DGPI seria tratada de maneira diferente e preocupações relativas às percepções da sociedade. [4]

6.4 Questões éticas relativas aos procedimentos de FIV, DGPI e TACEH

O desenvolvimento da tecnologia de fertilização *in vitro* (FIV) foi combatido por forças religiosas conservadoras e também por feministas, que viam a procriação medicamente assistida como uma manipulação exploradora de mulheres vulneráveis. Como o DGPI evitou o nascimento de crianças com doenças genéticas, atraiu a hostilidade adicional de ativistas

dos direitos das pessoas com deficiência, que condenaram o DGPI como um instrumento de eugenia que diminuiria a compaixão pelas pessoas com deficiência. [40][47]

Adicionalmente, os valores éticos podem ser desafiados pelo DGPI aquando da rejeição de embriões saudáveis, por estes não apresentarem características necessárias como condição de implantação, tais como, compatibilidade de HLA. [3][36][40] Dados de uma clínica em Chicago mostram que o volume de embriões envolvidos pode parecer considerável, pois no tratamento de nove casais, cujos filhos sofriam de formas de leucemia ou anemia, 199 embriões foram testados, 45 embriões HLA-compatíveis foram identificados para implantação, e destes 28 foram usados em 12 ciclos de FIV, resultando em apenas 5 gestações únicas. [40]

Outras questões éticas relacionadas com este procedimento, dizem respeito aos possíveis efeitos adversos na saúde da criança a longo prazo e aos riscos para a mulher associados às TRAs, pela necessidade de recorrer a técnicas invasivas. [2][9][47]

No transplante alogénico de células estaminais hematopoéticas, a idade do dador é um fator importante, na medida em que a percentagem de células estaminais na medula óssea de crianças mais novas é maior, em comparação com crianças mais velhas ou adultos. Deste modo, devemos considerar o possível impacto do procedimento sobre a saúde física da criança dadora, aquando da colheita de medula óssea. Estes riscos incluem possível lesão de nervo, osso ou tecido, no entanto, são considerados reduzidos, sendo, especialmente, riscos associados à anestesia. Para além destes riscos, um reduzido peso corporal do dador exige transfusão de sangue durante o processo de transplantação. Nestas situações, e caso os benefícios não superem os riscos, é recomendado o adiamento do procedimento, de modo a que um ganho de peso suficiente possa, pelo menos, tornar a transfusão desnecessária. [1][10] Perante estas advertências, é preferível e utilizado, sempre que possível, o transplante de células estaminais provenientes do cordão umbilical, uma vez que, não oferece qualquer risco para a criança dadora, contudo, este só é possível se o irmão doente pesar menos de 40 kg. [1][2]

7. Conclusões e perspectivas futuras

Dadas as implicações éticas envolvidas no “bebé-medicamento” e a inacessibilidade desta opção terapêutica a todas as pessoas, devido às legislações de cada país e incapacidade dos casais em suportar os custos associados, é necessário encorajar pesquisas destinadas tanto a obter evidências sobre os benefícios e riscos potenciais das TRAs e DGPI, como de terapêuticas alternativas que não recorram à concepção de um ser humano que servirá de dador para um irmão doente. Várias terapêuticas promissoras estão em desenvolvimento ou, até mesmo, a entrar no mercado. Nomeadamente, as células T CAR, que constituem uma excelente alternativa terapêutica ao “bebé-medicamento”.

As preocupações levantadas relativamente à rejeição de embriões, que não apresentam as condições fundamentais para implantação e, conseqüentemente, geração de um “bebé-medicamento”, podem ser contrariadas através do investimento e desenvolvimento de técnicas que envolvam linhas de células estaminais embrionárias, sem necessidade de destruição de embriões.

Por fim, um outro possível cenário futuro, é que a distinção entre DGPI e TGPI desapareça e que uma análise do genoma “universal” seja, rotineiramente, disponibilizada a todos aqueles que procuram a procriação medicamente assistida.

8. Referências bibliográficas

- [1] Samardžić, S. O. Saviour Siblings - Current Overview, Dilemmas and Possible Solutions? *Medicine, Law & Society*, 12(2), 89–109. [Internet]. 2019 [cited 2020 Oct 15]. Available from: <https://journals.um.si/index.php/medicine/article/view/389>
- [2] Pennings, G., & de Wert, G. Evolving ethics in medically assisted reproduction. *Human Reproduction Update*, 9(4), 397–404. [Internet]. 2003 [cited 2020 Sep 21]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12926532/>
- [3] Zúñiga-Fajuri, A. Born to donate: Proposals for “savior sibling” regulation in latin America. *Colombia Medica*, 49(3), 228–235. [Internet]. 2018 [cited 2020 Oct 15]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6220490/>
- [4] Zierhut, H., Macmillan, M. L., Wagner, J. E., & Bartels, D. M. More than 10 Years After the First ‘Savior Siblings’: Parental Experiences Surrounding Preimplantation Genetic Diagnosis. 594–602. [Internet]. 2013 [cited 2020 Oct 12]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23624741/>
- [5] Público. Autorizado primeiro “bebé-medicamento” em Portugal. [Internet]. 2015 [cited 2020 Oct 17]. Available from: <https://www.publico.pt/2015/04/30/sociedade/noticia/autorizado-primeiro-bebe-medicamento-em-portugal-1694062>
- [6] RTP Notícias. RTP, Rádio e Televisão de Portugal 2020. Portugal autoriza nascimento de primeiro “bebé-medicamento”. [Internet]. 2015 [cited 2020 Oct 17]. Available from: https://www.rtp.pt/noticias/pais/portugal-autoriza-nascimento-de-primeiro-bebe-medicamento_n824872
- [7] Bioethics.net. Where the World Finds Bioethics. Savior Siblings for a “Noble Cause” by The Ethics and Society Blog. [Internet]. 2019 [cited 2020 Sep 26]. Available from: <http://www.bioethics.net/2019/02/savior-siblings-for-a-noble-cause/>
- [8] Healthcare-in-europe.com. France: The country’s first ‘saviour sibling’ is a ‘double-hope baby’. [Internet]. 2011 [cited 2020 Oct 17]. Available from: <https://healthcare-in-europe.com/en/news/france-the-country-s-first-saviour-sibling-is-a-double-hope-baby.html>
- [9] Harper, J. C., Geraedts, J., Borry, P., Cornel, M. C., Dondorp, W., Gianaroli, L., ... Ka, H. Current issues in medically assisted reproduction and genetics in Europe: research, clinical practice, ethics, legal issues and policy *European Society of Human Genetics and European Society of Human Reproduction and Embryology*. (March 2012), 86–96. [Internet]. 2013 [cited 2020 Oct 15]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25006203/>
- [10] Rubeis, G., & Steger, F. Saving whom? The ethical challenges of harvesting tissue from savior siblings. *European Journal of Haematology*, 103(5), 478–482. [Internet]. 2019 [cited 2020 Oct 15]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ejh.13313>
- [11] Swissinfo.ch. Switzerland among the ‘hardliners’. [Internet]. 2020 [cited 2020 Oct 26]. Available from: https://www.swissinfo.ch/eng/regulation-of-pgd_switzerland-among-the-hardliners-/36712848
- [12] APCL. Associação Portuguesa Contra a Leucemia [Internet]. 2017 [cited 2020 May 10]. Available from: <https://www.apcl.pt/pt/doencas-do-sangue/leucemias/leucemias-agudas>

- [13] Iacobucci, I., & Mullighan, C. G. Genetic basis of acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 35(9), 975–983. [Internet]. 2017 [cited 2020 May 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28297628/>
- [14] American Cancer Society. What Is Acute Lymphocytic Leukemia? [Internet]. 2020 [cited 2020 May 10] Available from: <https://www.cancer.org/cancer/acute-lymphocytic-leukemia/about/what-is-all.html>
- [15] Inaba, H., Greaves, M., & Mullighan, C. G. Acute lymphoblastic leukaemia. *The Lancet*, 381(9881), 1943–1955. [Internet]. 2013 [cited 2020 May 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23523389/>
- [16] Schwab, C., & Harrison, C. J. Acute lymphoblastic leukaemia. *Methods in Molecular Biology*, 730, 99–117. [Internet]. 2011 [cited 2020 May 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21431637/>
- [17] Matias N. Leucemia Linfoblástica Aguda: Fisiopatologia, Diagnóstico e Abordagens Terapêuticas. Lisboa, U. De. 25-32, 36-58. [Internet]. 2019 [cited 2020 May 10]. Available from: <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/43361>
- [18] Armstrong, S. A., & Look, A. T. Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 23(26), 6306–6315. [Internet]. 2005 [cited 2020 May 15]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16155013/>
- [19] Paulsson K, Johansson B. High Hyperdiploid Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* [Internet]. 2009 [cited 2020 May 15];48(8):637–60. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19415723>
- [20] Belver L, Ferrando A. The genetics and mechanisms of T cell acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Cancer* [Internet]. Nature Publishing Group; 2016 [cited 2020 May 15];16(8):494–507. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27451956>
- [21] Hoffbrand AV MP. Acute Lymphoblastic Leukemia. Hoffbrand's Essential Haematology. 7th ed. Wiley-Blackwell Scientific Publications; 2016. p.209. [cited 2020 May 10]
- [22] Paul, S., Kantarjian, H., & Jabbour, E. J. Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Mayo Clinic Proceedings*, 91(11), 1645–1666. [Internet]. 2016 [cited 2020 May 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27814839/>
- [23] Kato, M., & Manabe, A. Treatment and biology of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pediatrics International*, 60(1), 4–12. [Internet]. 2018 [cited 2020 Jun 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29143423/>
- [24] Man, L. M., Morris, A. L., & Keng, M. New Therapeutic Strategies in Acute Lymphocytic Leukemia. *Current Hematologic Malignancy Reports*, 12(3), 197–206. [Internet]. 2017 [cited 2020 Jun 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28353016/>
- [25] Heikamp, E. B., & Pui, C. H. Next-Generation Evaluation and Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of Pediatrics*, 203, 14-24. [Internet]. 2018 [cited 2020 Jun 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30213460/>
- [26] Medscape. Fanconi Anemia [Internet]. 2020 [cited 2020 Jun 30]. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/960401-overview>

- [27] NIH U.S. National Library of Medicine. Fanconi Anemia. Genetics Home Reference. [Internet]. 2020. [cited 2020 Jun 30]. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/fanconi-anemia>
- [28] NIH U.S. National Library of Medicine. Fanconi Anemia. MedlinePlus Trusted Health Information for You. [Internet]. 2020. [cited 2020 Jun 30]. Available from: <https://medlineplus.gov/ency/article/000334.htm>
- [29] NORD National Organization for Rare Disorders. Rare Disease Database: Fanconi Anemia. [Internet]. 2020. [cited 2020 Jun 30]. Available from: <https://rarediseases.org/rare-diseases/fanconi-anemia/>
- [30] Soulier, J. Fanconi anemia. Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program, 492–497. [Internet]. 2011 [cited 2020 Jul 15]. Available from: <https://ashpublications.org/hematology/article/2011/1/492/96450/Fanconi-Anemia>
- [31] Ebens, C. L., Macmillan, M. L., Wagner, J. E., Ebens, C. L., Macmillan, M. L., & Wagner, J. E. Expert Review of Hematology Hematopoietic cell transplantation in Fanconi Anemia: Current evidence, challenges and recommendations. Expert Review of Hematology. [Internet]. 2016 [cited 2020 Jul 31]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27929686/>
- [32] Zhang, Q. Stem Cell Therapy for Fanconi Anemia. [Internet]. 2017 [cited 2020 Aug 01]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28687959/>
- [33] Trujillo, J. P., & Surralles, J. Savior siblings and Fanconi anemia: analysis of success rates from the family's perspective. [Internet]. 2015 [cited 2020 Aug 01]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25674777/>
- [34] Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., de Mouzon, J., Ishihara, O., Mansour, R., Nygren, K., Vanderpoel, S. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology. Fertility and Sterility, 92, 1520–1524. [Internet]. 2009 [cited 2020 Sep 05]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19828144/>
- [35] Bhandari, H. M., Choudhary, M. K., & Stewart, J. A. An overview of assisted reproductive technology procedures. The Obstetrician & Gynaecologist, 20, 167–176. [Internet]. 2018 [cited 2020 Sep 05]. Available from: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/tog.12509>
- [36] Imudia, A. N., & Plosker, S. The Past, Present, and Future of Preimplantation Genetic Testing. Clinics in Laboratory Medicine, 36, 385–399. [Internet]. 2016 [cited 2020 Aug 30]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27235919/>
- [37] Liss, J., Chromik, I., Szczyglinska, J., Jagiello, M., Lukaszuk, A., & Lukaszuk, K. Current Methods for Preimplantation Genetic Diagnosis. Ginekologia Polska, 87, 522–526. [Internet]. 2016 [cited 2020 Aug 30]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27504946/>
- [38] Dahdouh, E. M., Balayla, J., Audibert, F., Wilson, R. D., Brock, J. A., Campagnolo, C., Vallée-Pouliot, K. Technical Update: Preimplantation Genetic Diagnosis and Screening. Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada, 37, 451–463. [Internet]. 2015 [cited 2020 Aug 30]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26168107/>

[39] UNC Fertility. Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI). [Internet]. 2020 [cited 2020 Oct 26]. Available from: <https://uncfertility.com/treatment-options/in-vitro-fertilization/intracytoplasmic-sperm-injection/>

[40] Dickens, B. M. (2005). Preimplantation genetic diagnosis and “savior siblings.” International Journal of Gynecology and Obstetrics, 88, 91–96. [Internet]. 2005 [cited 2020 Aug 30]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15617721/>

[41] Kuliev, A., & Rechitsky, S. Preimplantation genetic testing: current challenges and future prospects. Expert Review of Molecular Diagnostics, 17, 1071–1088. [Internet]. 2017 [cited 2020 Aug 30]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29039978/>

[42] Sullivan-Pyke, C., & Dokras, A. Preimplantation Genetic Screening and Preimplantation Genetic Diagnosis. Obstetrics and Gynecology Clinics of North America, 45, 113–125. [Internet]. 2018 [cited 2020 Aug 30]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29428279/>

[43] Creative Biolabs. Fluorescent in situ Hybridization (FISH). [Internet]. 2020 [cited 2020 Oct 26]. Available from: <https://www.creative-biolabs.com/fluorescent-in-situ-hybridization-FISH.html>

[44] Hyde, K. J., & Schust, D. J. Genetic considerations in recurrent pregnancy loss. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 5(3). [Internet]. 2015 [cited 2020 Oct 26] Available from: https://www.researchgate.net/figure/Analysis-of-blastomere-DNA-using-array-comparative-genomic-hybridization-aCGH-DNA_fig1_272100702

[45] DRE. Diário da República Eletrónico. Consolidação Lei n.º 32/2006 - Diário da República n.º 143/2006, Série I de 2006-07-26 - Procriação medicamente assistida. [Internet]. 2020 [cited 2020 Sep 28]. Available from: <https://dre.pt/web/guest/legislacao-consolidada/-/lc/34529775/view?q=procria%C3%A7%C3%A3o+medicamente+assistida>

[46] Strong, K., Kerridge, I., & Little, M. Savior Siblings, Parenting and the Moral Valorization of Children. Bioethics, 28(4), 187–193. [Internet]. 2014 [cited 2020 Sep 28]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22846045/>

[47] Kääriäinen, H., Evers-Kiebooms, G., & Coviello, D. Medically assisted reproduction and ethical challenges. Toxicology and Applied Pharmacology, 207, 684–688. [Internet]. 2005 [cited 2020 Sep 05]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15992844/>