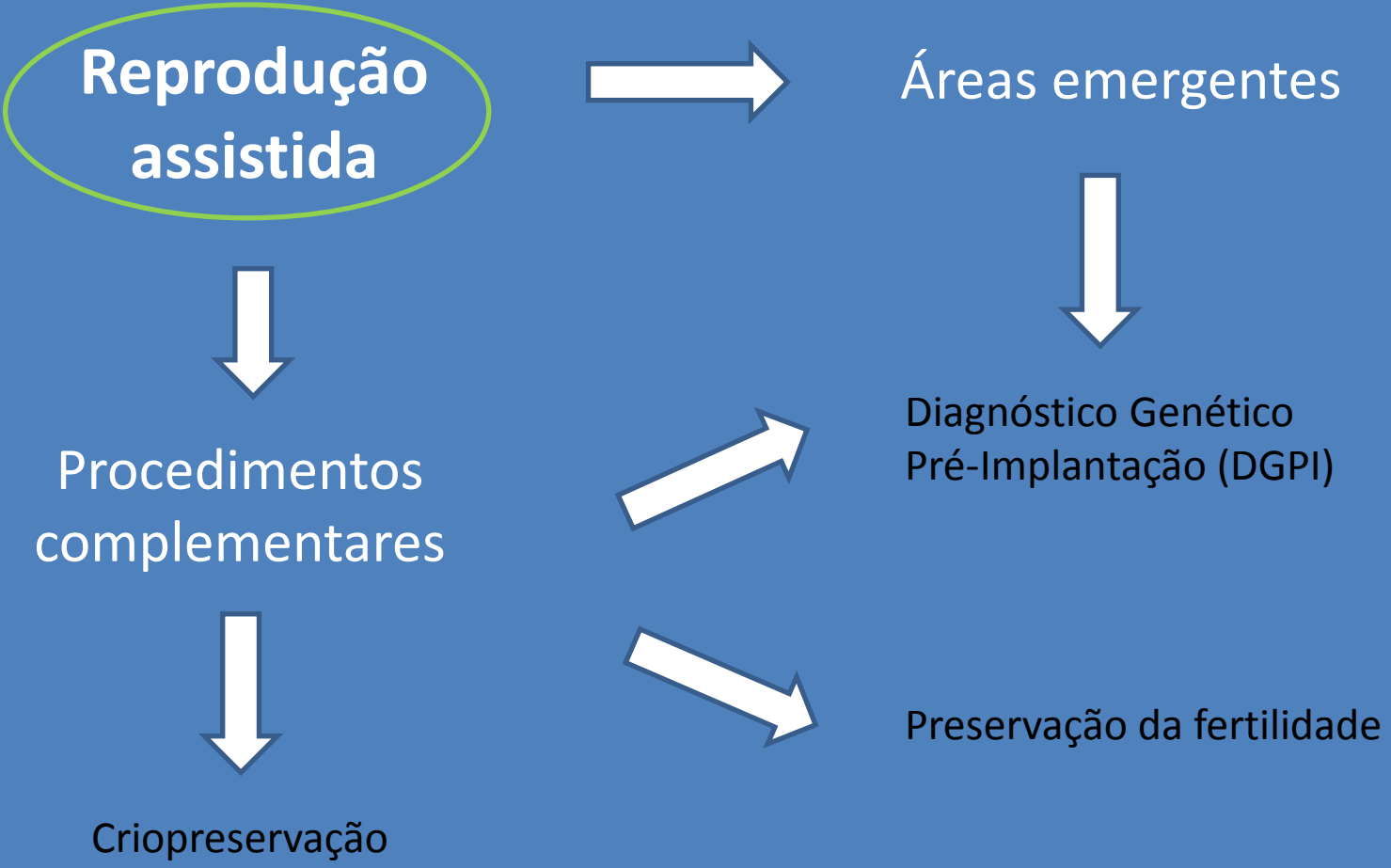




Tratamentos Mediatos em Medicina Reprodutiva

Departamento de Saúde da Criança e da Mulher
Unidade de Medicina da Reprodução



Criopreservação

O que congelar???

- Criopreservação de sémen
- Criopreservação de oócitos
- Criopreservação de embriões
- Criopreservação de tecido ovárico/testicular

Onde armazenar???



Como Criopreservar ?

Congelamento lento



- Técnica de congelação através da diminuição gradual da temperatura.



Vs

Vitrificação



- Técnica de congelação química cuja alta velocidade de refrigeração evita a formação de cristais de gelo



Em que situações???

- Criopreservação de embriões excedentes dos ciclos de FIV.
- Criopreservação de oócitos em situações de excesso de oócitos recolhidos.
- Criação de pools de sémen como reserva para utilização em ciclos de FIV.
- Criopreservação de gâmetas femininos e masculinos com o propósito de **Preservação da Fertilidade.**

Preservação da Fertilidade

Evolução dos
tratamentos oncológicos



Aumento da taxa de
sobrevivência dos pacientes



Procura de solução para melhoria da qualidade de vida



Preservação da Fertilidade

Século XXI: a Preservação da Fertilidade passa a ser dirigida também a pessoas que por razões sociais, económicas, profissionais ou pessoais, adiam o projeto de criar descendência.

Preservação da Fertilidade

A quem se dirige?

- Crianças e jovens adultos em idade reprodutiva a quem seja diagnosticado cancro, doenças auto-imunes ou que sejam submetidas a transplante de medula óssea e cujos tratamentos sejam potencialmente gonadotóxicos
- Pessoas/Casais que por razões profissionais e/ou económicas adiam a possibilidade de criar descendência.
- Mulheres solteiras ou com parceiro mas sem desejo imediato de criar descendência

Obstáculos...

Elevada falta de informação acerca das possibilidades de prevenção da fertilidade. Necessidade urgente de informar atempadamente os pacientes das opções que possuem.

Preservação da Fertilidade

Preservação da fertilidade feminina

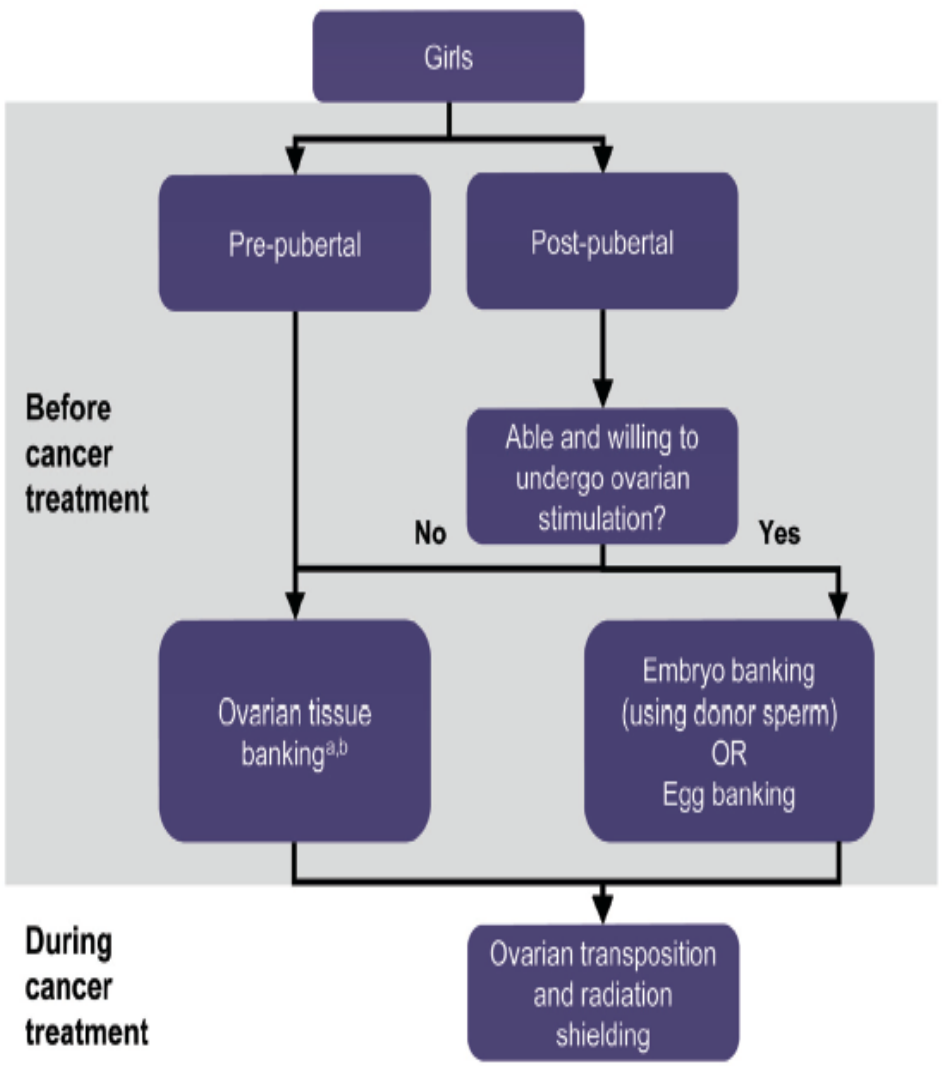
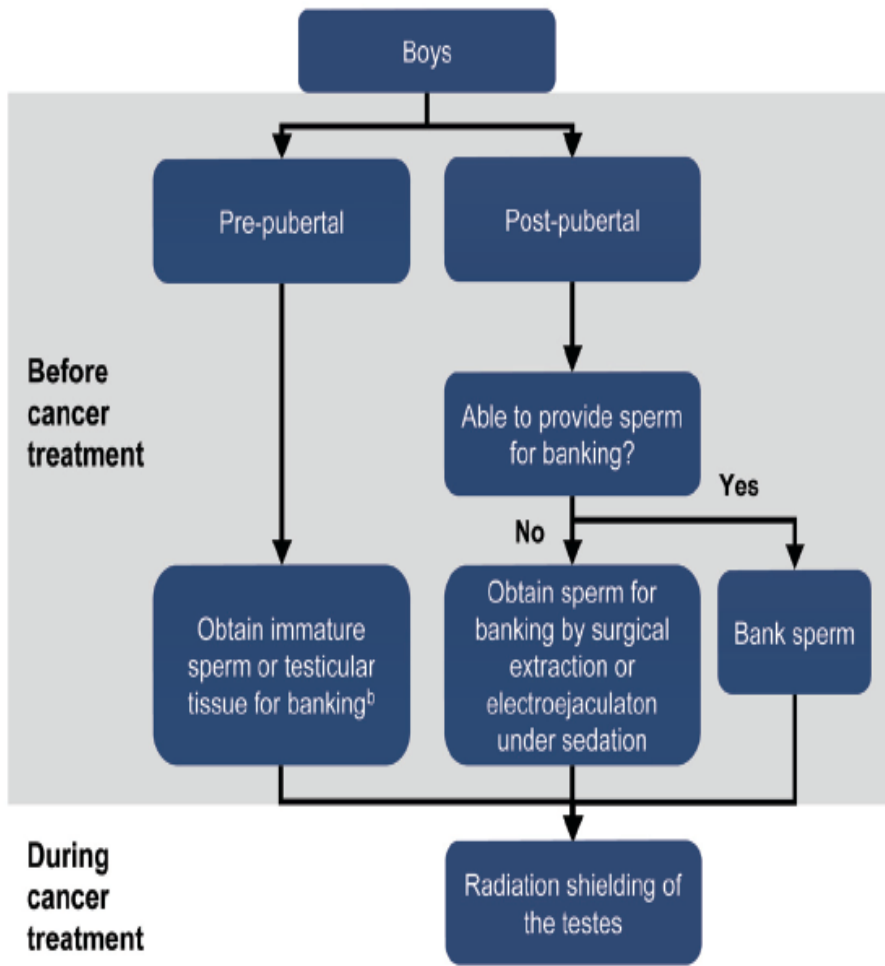
- Criopreservação de embriões
- Criopreservação de oócitos
- Criopreservação de tecido ovárico
- Transposição ovárica
- Supressão da função ovárica

Preservação da fertilidade masculina

- Criopreservação de sémen
- Criopreservação de tecido testicular
- Associada a técnicas de extracção de espermatozóides do epidídimo ou testículo

Preservação da Fertilidade

Fertility preservation options for children diagnosed with cancer



Limitações e desvantagens...

- Diminuição da qualidade dos embriões congelados pós descongelamento.
- Criopreservação de sémen diminui a motilidade e vitalidade dos espermatozóides
- Elevado custo de tratamento e manutenção das amostras criopreservadas
- Probabilidade de gestação baixa
- Vários procedimentos ainda em fase experimental

Diagnóstico Genético Pré-Implantação (DGPI)

- *PGD - Preimplantation Genetic Diagnosis*
- Obtenção de uma ou duas células (blastómeros) de um embrião para análise cromossômica/genética antes da sua implantação no útero.
- Alternativa ao diagnóstico pré-natal em casais com risco elevado de transmitir anomalias cromossômicas ou genéticas à descendência

Diagnóstico Genético Pré-Implantação

Realiza-se:

- Casais com mau prognóstico reprodutivo
- Casais portadores de anomalias estruturais
- Doenças monogénicas
- Doenças ligadas ao sexo

Diagnóstico Genético Pré-Implantação

Diversas doenças detectáveis por DGPI

| Autossómicas recessivas | Autossómicas dominantes | Ligadas ao género | Anomalias cromossómicas |
|--------------------------|--|--------------------------------------|------------------------------|
| Fibrose cística | Doença de Huntington | Hemofilia | Síndrome de Down |
| Talasémia | Síndrome de Marfan | Distrofia muscular de Duchenne | Síndrome de Kienfelter |
| Distrofia espinal medula | Síndrome da Polineuropatia Amiloidótica Familiar (Paramiloidose) | Síndrome do X frágil | Translocações Robertsonianas |
| Doença de Tay-Sach | Polipose adenomatosa familiar | Atraso mental ligado ao cromossoma X | Aneuploidias |

Screening Genético Pré-Implantação

- PGS – *Preimplantation Genetic Screening*
- Teste genético a embriões quando os pais são presumidamente normais ao nível cromossómico
- Indicações:
 - Mulheres com idade avançada
 - História repetida de aborto espontâneo
 - Falhas repetidas em ciclos de IVF
 - Infertilidade masculina severa

Diagnóstico Genético Pré-Implantação Metodologia

- Biópsia de blastómeros
 - Fixação em lâmina (FISH)
 - “*Tubing*”: introdução do blastómero em tampão de lise (PCR e Micro-Arrays)
 - Hibridação/Amplificação de DNA
 - Análise cromossómica/genética

Diagnóstico Genético Pré-Implantação Metodologia

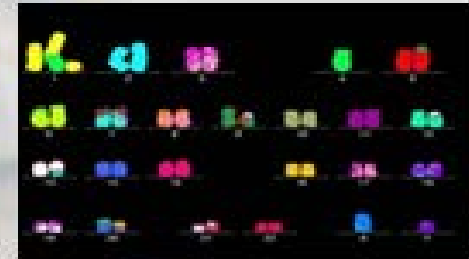
- **Biópsia de blastómeros**
 - em embriões de 3 dias (6 a 8 células)
 - em meio livre de catiões Mg e Ca
 - tempo máximo de exposição: 7 min
- **Técnicas:**
 - Ác. Tyrodes: mais barato; variação do pH do meio
 - Laser: mais rápido e de fácil aprendizagem; variação da temperatura do meio

Biópsia de Blastómero

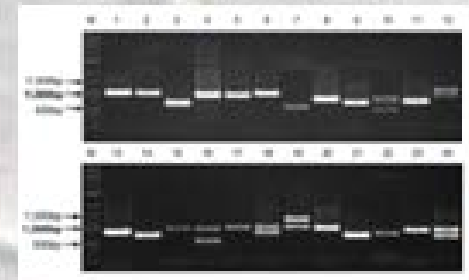


Métodos de Análise Genética

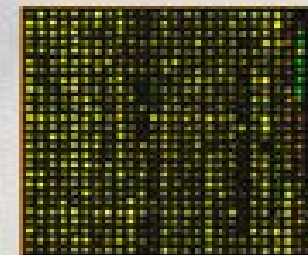
FISH *Fluorescence in situ hybridization*: sondas de DNA marcadas com fluorocromos de cores distintas ligam-se a sequências de DNA únicas em cada cromossoma.



PCR *Polymerase Chain Reaction*: amplificação de um segmento de genoma que contém o gene de interesse.



CGH Array: hibridação sobre plataformas de sequências de DNA específicas de regiões concretas de cromossomas humanos que cubram a totalidade dos 24 cromossomas



FISH

Cariótipo:

3 cromossomas 13

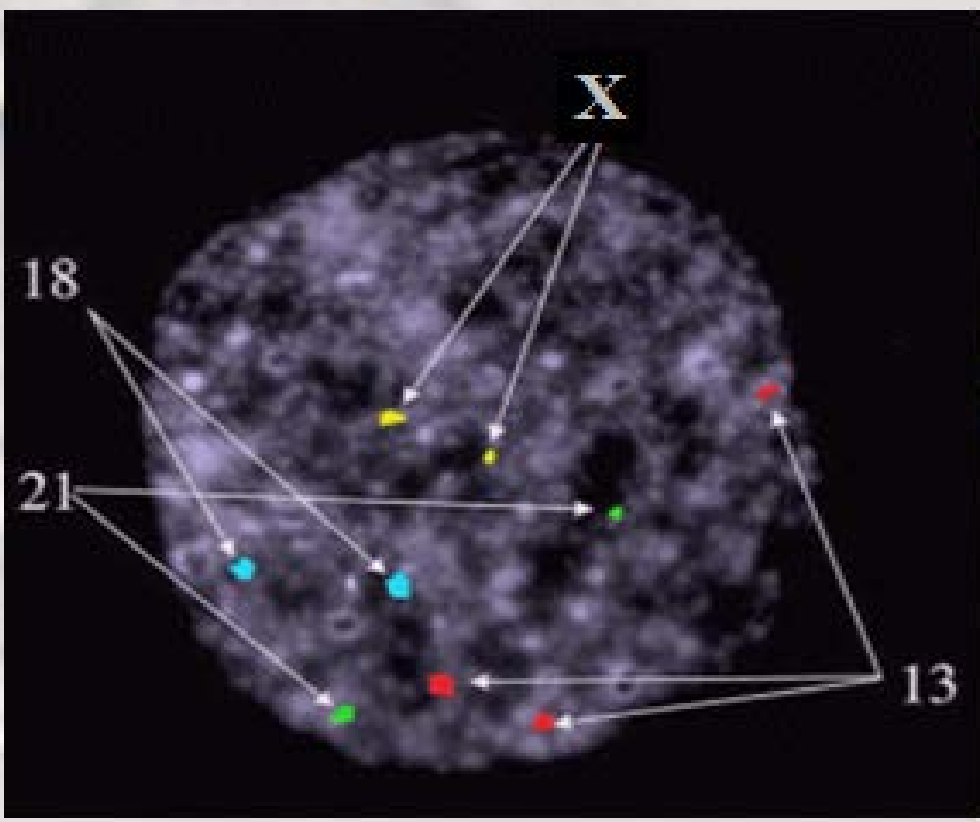
2 cromossomas 18

2 cromossomas 21

2 cromossomas X



Trissomia 13

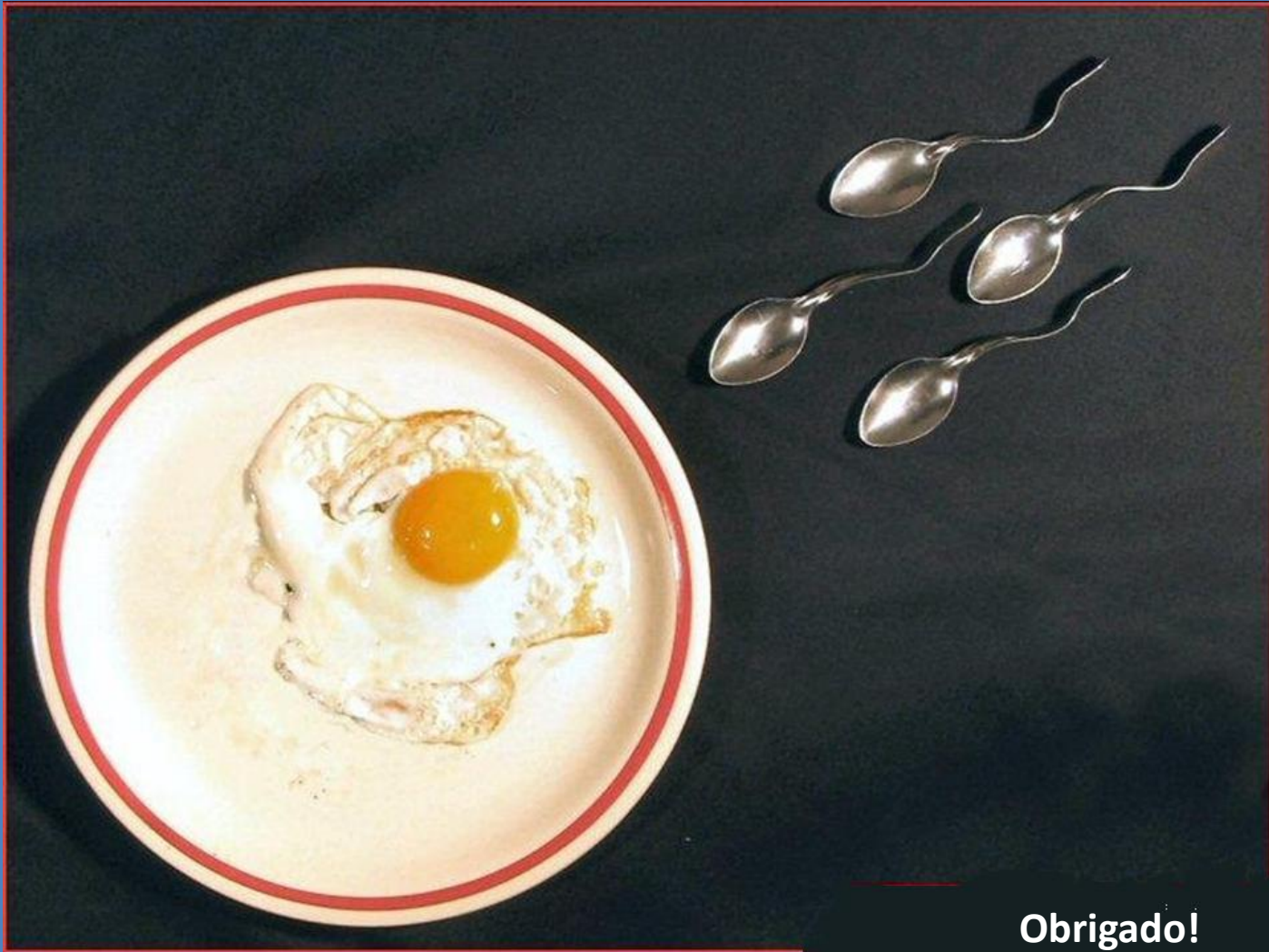


Limitações técnicas do DGPI

- Pouco tempo disponível para emissão dos resultados da análise
- Apenas uma (FISH) ou duas (PCR) células podem ser analisadas
- Nos métodos baseados em PCR
 - Células anucleadas
 - Não amplificação ou amplificação parcial do segmento de DNA de interesse
 - Contaminação externa

Limitações técnicas do DGPI

- Os métodos baseados em FISH
 - Permitem avaliar menos de metade dos 23 pares de cromossomas numa única célula (X, Y, 1, 13, 16, 17, 18 e 21)
- Os métodos baseados em CGH Arrays
 - Cobertura genómica completa
 - Fiel representação do DNA original
 - 95% de eficiência de amplificação



Obrigado!