



Centro Universitário de Lisboa

Escola de Psicologia e Ciências da Vida

Embriologia e Reprodução Humana Assistida

Impacto das Biópsias Embrionárias nas Taxas de Implantação e Nascimentos Vivos

Tese apresentada a provas públicas para a obtenção do grau de Mestre em
Embriologia e Reprodução Humana Assistida, orientada por Mafalda Rato

Nádia Almeida, nº22211638

2024

www.ulusofona.pt



Centro Universitário de Lisboa

Escola de Psicologia e Ciências da Vida

Embriologia e Reprodução Humana Assistida

Impacto das Biópsias Embrionárias nas Taxas de Implantação e Nascimento Vivos

VERSÃO FINAL

Tese defendida em provas públicas na Universidade Lusófona, Centro Universitário de Lisboa no dia 17/ 01/ 2025, perante o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação n.º: 1054, de 11 de 2024, com a seguinte composição:

Presidente: Profª. Doutora Patrícia Carla Coelho Rodrigues

Vogais: Prof. Doutor Ignacio Santiago Alvarez Miguel – Arguente;

Orientador: Mestre Ana Mafalda Leal Rato

Nádia Almeida, n.º22211638

2024

www.ulusofona.pt

"The flower that blooms in adversity is the most rare and beautiful of all."

— O Imperador, Mulan

Agradecimentos

Foi sem dúvida um desafio escrever esta tese que culmina o fim de mais uma etapa da minha vida. Não foi fácil, exigiu muito de mim, e tenho plena consciência que sem a ajuda das pessoas que aqui vou mencionar não teria sido possível.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer de forma especial à Doutora Ângela e a toda a equipa do CETI. O vosso apoio e confiança, num momento em que poucos acreditavam no meu potencial, foram fundamentais para que eu pudesse dar o primeiro passo nesta caminhada. A oportunidade que me proporcionaram foi mais do que um marco na minha carreira; foi um impulso decisivo que me permitiu seguir em frente e acreditar que este sonho era possível. A vossa fé em mim, a orientação e o ambiente acolhedor que sempre encontrei no CETI foram o alicerce que sustentou os meus esforços e ambições. Vocês fizeram-me acreditar que este sonho era possível.

También agradezco a la Doctora Elena y a la Doctora Marisa, del Hospital Quirón Salud de Málaga. El tiempo que pasé con vosotras fue verdaderamente transformador. Vuestra disposición a compartir conocimientos, vuestra paciencia y la forma en que me guiasteis durante el proceso de aprendizaje me permitieron no solo adquirir una amplia gama de competencias técnicas, sino también la confianza necesaria para actuar de forma autónoma. Me siento profundamente agradecida por haberme permitido 'poner manos a la obra' y aplicar lo que aprendí, contribuyendo directamente a mi crecimiento profesional. Vuestro apoyo fue crucial para el desarrollo de mi carrera y para la realización de este trabajo. No hay palabras suficientes para expresar lo agradecida que estoy por haber realizado mis prácticas con vosotras.

Aos meus pais, as palavras serão sempre insuficientes para expressar o meu agradecimento. Desde o início, vocês acreditaram no meu sonho de estudar embriologia e, mesmo diante das dificuldades, sempre me apoiaram incondicionalmente. Obrigada por todo o amor, por todos os sacrifícios que fizeram e por acreditarem em mim, mesmo nos momentos em que eu própria duvidava. A vossa presença, encorajamento e compreensão foram, e sempre serão, a minha maior fonte de força.

Finalmente, gostaria de expressar a minha sincera gratidão à Professora Patrícia e à Professora Mafalda. A abertura deste mestrado em Portugal foi uma oportunidade única que permitiu a muitos de nós, aspirantes a embriologistas, perseguir o nosso sonho. A vossa visão e esforço para tornar este programa uma realidade abriram portas para muitos estudantes como eu, que, de outra forma, talvez não tivessem tido a oportunidade de seguir esta paixão. A vossa dedicação à educação e ao desenvolvimento da embriologia em Portugal não só possibilitou a realização deste trabalho, mas também inspirou uma nova geração de profissionais comprometidos com a excelência na área.

Por último, mas não menos importante, preciso de agradecer ao Paulo, por ter sido o meu maior apoio durante todo o processo de escrita desta tese. Em cada momento de procrastinação ou desmotivação, ele esteve ao meu lado, encorajou-me a continuar e a acreditar em mim mesma. A tua paciência, compreensão e presença constante foram fundamentais para que eu pudesse concluir este desafio.

Este trabalho é o resultado do apoio, orientação e confiança que todos vocês depositaram em mim. Cada um de vocês desempenhou um papel essencial nesta jornada, e por isso, agradeço-vos profundamente. Esta tese não é apenas um reflexo do meu esforço, mas também do vosso inestimável contributo. O meu sucesso é também o vosso, e por isso, é com profunda gratidão que dedico este trabalho a todos vocês, que me ajudaram a transformar um sonho em realidade.

Resumo

A reprodução assistida tornou-se uma solução fundamental para muitos casais que enfrentam dificuldades em conceber de forma natural. Dentro desse campo, a biópsia embrionária é uma técnica de crescente importância, utilizada para diagnosticar doenças genéticas e cromossômicas antes da transferência do embrião para o útero.

Esta tese analisa a evolução das técnicas de biópsia, desde a biópsia no estágio de clivagem até à da trofotoderme no estágio de blastocisto, e avalia como essas práticas influenciam as taxas de sucesso.

A pesquisa revela que, embora a biópsia embrionária possa melhorar as chances de implantação e de nascimentos vivos ao selecionar embriões geneticamente saudáveis, o procedimento também apresenta riscos, como danos ao embrião e impactos potenciais na saúde neonatal. Fatores clínicos como a idade materna, a qualidade dos gametas e as condições laboratoriais são cruciais para o sucesso das biópsias.

Além disso, a tese discute as implicações éticas e econômicas da biópsia embrionária, destacando a necessidade de diretrizes clínicas rigorosas e acessibilidade do procedimento. Conclui-se que, embora as biópsias embrionárias representem um avanço significativo na reprodução assistida, é essencial equilibrar os benefícios clínicos com as considerações éticas e os riscos associados.

Palavras-chave: biópsia embrionária, taxas de implantação, nascimentos vivos, e técnicas de reprodução assistida.

Abstract

Assisted reproduction has become a fundamental solution for many couples facing difficulties in conceiving naturally. Within this field, embryonic biopsy is a technique of growing importance, used to diagnose genetic and chromosomal diseases before the embryo is transferred to the uterus.

This thesis analyses the evolution of biopsy techniques, from cleavage-stage biopsy to trophoctoderm biopsy at the blastocyst stage and evaluates how these practices influence success rates.

The research reveals that, while embryonic biopsy can improve the chances of implantation and live births by selecting genetically healthy embryos, the procedure also carries risks, such as damage to the embryo and potential impacts on neonatal health. Clinical factors such a maternal age, gamete quality, and laboratory conditions are crucial to the success of biopsies.

Additionally, the thesis discusses the ethical and economic implications of embryonic biopsy, highlighting the need for strict clinical guidelines and accessibility of the procedure. In conclusion while embryonic biopsies stand for a significant advancement in assisted reproduction, it is essential to balance the clinical benefits with ethical considerations and associated risks.

Keywords: embryo biopsy, implantation rates, live births, and assisted reproduction techniques.

Resumen

La reproducción asistida se ha convertido en una solución fundamental para muchas parejas que enfrentan dificultades para concebir de forma natural. Dentro de este campo, la biopsia embrionaria es una técnica de creciente importancia, utilizada para diagnosticar enfermedades genéticas y cromosómicas antes de la transferencia del embrión al útero.

Esta tesis analiza la evolución de las técnicas de biopsia, desde la biopsia en la etapa de segmentación hasta la biopsia del trofotodermo en la etapa de blastocisto, y evalúa cómo estas prácticas influyen en las tasas de éxito.

La investigación revela que, aunque la biopsia embrionaria puede mejorar las posibilidades de implantación y nacimientos vivos al seleccionar embriones genéticamente saludables, el procedimiento también conlleva riesgos, como daños al embrión e impactos potenciales en la salud neonatal. Factores clínicos como la edad materna, la calidad de los gametos y las condiciones del laboratorio son cruciales para el éxito de las biopsias.

Además, la tesis discute las implicaciones éticas y económicas de la biopsia embrionaria, destacando la necesidad de directrices clínicas estrictas y la accesibilidad del procedimiento. Se concluye que, aunque las biopsias embrionarias representan un avance significativo en la reproducción asistida, es esencial equilibrar los beneficios clínicos con las consideraciones éticas y los riesgos asociados.

Palabras clave: biopsia embrionaria, tasas de implantación, nacidos vivos, y técnicas de reproducción asistida.

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

PCOS: *Polycystic Ovary Syndrome*

IIU: Inseminação intrauterina

FIV: Fertilização in vitro

ICSI: Injeção intracitoplasmática de espermatozoides

FISH: hibridação in situ fluorescente

ESHRE: *European Society of Human Reproduction and Embryology*

ASRM: *American Society for Reproductive Medicine*

NGS: Sequenciamento de Nova Geração

WGA: *Whole Genome Amplification*

cfDNA: Análise de DNA Livre no Meio de Cultura

OCT: Tomografia de coerência ótica

IA: Inteligência Artificial

PCR: *Polymerase Chain Reaction*

Índice Geral

Resumo	6
Abstract	8
Resumen	10
Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos	12
Índice Geral	14
Índice de Tabelas	17
Índice de Figuras	19
Introdução	21
1. Infertilidade	22
2. Biopsia Embrionária	24
2.1. Sucesso da Biopsia Embrionária	26
2.2. Riscos e Desafios Associados	26
3. Objetivos e Hipóteses da Tese	27
4. Metodologia da Revisão Bibliográfica	28
Revisão Bibliográfica	29
1. História e Evolução das Biópsias Embrionárias	30
2. Técnicas de Biópsia Embrionária	30
2.1. Biópsia no estágio de clivagem (blastômero).	30
2.2. Biópsia no estágio de blastocisto (trophodermo).	30
2.3. Comparação de técnicas: vantagens e desvantagens.	31
2.4. Inovações tecnológicas recentes	31
3. Impacto das Biópsias nas Taxas de Implantação	32
4. Taxas de Nascimento Vivos e Saúde Neonatal	33
4.1. Correlações entre biópsia embrionária e nascimentos vivos.	33
4.2. Impactos na saúde neonatal.	33
4.3. Estudos de longo prazo sobre a saúde de crianças nascidas após biópsia.	33

5. Riscos e Complicações Associadas à Biópsia Embrionária	33
6. Influência de Fatores Clínicos e Demográficos nas Taxas de Sucesso	34
6.1. Idade materna e sua influência nos resultados.	34
6.2. Causas de infertilidade e a sua influência na resposta da biópsia.	34
6.3. Qualidade dos gametas (óvulos e espermatozoides) e sua relação com os resultados.	35
7. Considerações Éticas e Clínicas	35
7.1. Questões éticas na seleção e descarte de embriões.	35
7.2. Diretrizes clínicas e a prática de biópsias embrionárias.	35
7.3. Discussões médico-paciente sobre os benefícios e riscos.	36
8. Impactos Econômicos e Acessibilidade	36
8.1. Custos associados ao procedimento.	36
8.2. Diferenças regionais e internacionais na prática clínica.	36
Discussão	37
Conclusão	40
Bibliografia	42

Índice de Tabelas

Tabela 1: Estatística da taxa de implantação de embriões não biopsiados do Hospital QuíronSalud Málaga no ano 2023.	38
Tabela 2: Estatística da taxa de implantação de embriões biopsiados do Hospital QuíronSalud Málaga no ano 2023.	38
Tabela 3: Estatística da taxa de nascimentos vivos não biopsiados do Hospital QuíronSalud Málaga no ano 2023.	39
Tabela 4: Estatística da taxa de nascimentos vivos biopsiados do Hospital QuíronSalud Málaga no ano 2023.	39

Índice de Figuras

Figura 1: Distribuição das causas de infertilidade consideradas neste estudo.	22
Figura 2: Distribuição das causas de infertilidade femininas e respectivas proporções.	23
Figura 3: Ilustração do processo de biopsia embrionária desde a recolha das células até à análise genética por reação em cadeia da polimerase (PCR).	24
Figura 4: Esquema da Cultura Embrionária e Procedimento de Biópsia em Dias 3 e 5.	25

Introdução

1. Infertilidade

A infertilidade é uma doença que tem afetado a vida de inúmeros casais ao redor do mundo, sendo definida como a incapacidade de conceber um filho após um ano de relações sexuais regulares e desprotegidas (World Health Organization [WHO], n.d.). Esta condição pode surgir devido a múltiplos fatores que envolvem tanto homens quanto mulheres, e em alguns casos, a causa exata pode ser indeterminada (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2015) (figura 1). A infertilidade pode ter um impacto profundo na vida emocional e psicológica dos indivíduos afetados, levando a um desejo crescente de entender e tratar essa condição (Mayo Clinic, n.d.).

Causas Infertilidade

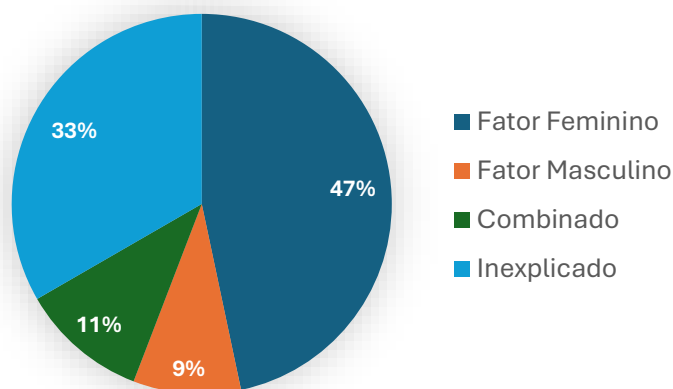


Figura 1: Distribuição das causas de infertilidade consideradas neste estudo. Adaptado de Vander Borgh & Wyns, 2018.

Entre as principais causas de infertilidade feminina estão: a idade materna avançada, responsável por 20% dos casos, os novos hábitos de vida das mulheres, como o ingresso no mundo de trabalho e a busca por carreiras estáveis, que representam 10% (Rosen et al., 2017); os distúrbios ovulatórios, que correspondem a 20% dos casos e ocorrem quando os ovários não liberam óvulos de maneira regular, como na *Polycystic Ovary Syndrome* (PCOS) (Teede et al., 2018); a endometriose, que afeta 10% das mulheres e é uma condição em que o tecido que normalmente reveste o interior do útero cresce fora dele, o que pode causar dor e problemas no funcionamento dos órgãos reprodutivos (Zondervan et al., 2020). Além disso, a trompa de Falópio bloqueada ou danificada é responsável por 25% dos casos, que pode impedir com que os óvulos se encontrem com os espermatozoides (Wallace & Kelsey, 2020), enquanto problemas uterinos, como miomas ou anomalias congénitas, representam 15% e podem afetar a implantação do embrião (Bulun, 2018).

Causas Infertilidade Femininas

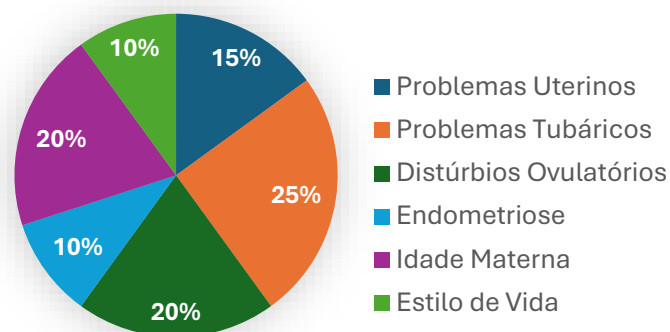


Figura 2: Distribuição das causas de infertilidade femininas e respectivas proporções.

No caso dos homens, a infertilidade está frequentemente associada a problemas com a qualidade ou quantidade de espermatozoides. A oligospermia, caracterizada por uma baixa contagem de espermatozoides, é uma condição comum que pode resultar de questões hormonais, genéticas ou de estilo de vida (Dohle et al., 2020). A asthenozoospermia, caracterizada pela baixa motilidade dos espermatozoides, pode também dificultar a concepção (Agarwal et al., 2016). A teratozoospermia, caracterizada por uma alta percentagem de espermatozoides com morfologia anormal, superior a 96%, pode impactar significativamente a fertilidade masculina, dificultando a fertilização natural (Esteves et al., 2020).

Tratamentos para infertilidade variam de acordo com a causa subjacente e podem envolver uma combinação de abordagens médicas e tecnológicas, como o uso de medicação, pequenas cirurgias corretivas, ou técnicas de reprodução assistida, como inseminação intrauterina (IIU), fertilização in vitro (FIV), ou injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) em casos de infertilidade severa (Esteves et al., 2021).

Além dos tratamentos médicos e tecnológicos, mudanças no estilo de vida, como uma dieta equilibrada, prática regular de exercícios e redução do estresse, podem aumentar as probabilidades de concepção (Kumar & Singh, 2022). A infertilidade é uma área da medicina com contínuos avanços e possibilidades de tratamento, oferecendo esperança para muitos casais que desejam ter um filho biológico (Macklon & Stanger, 2021).

2. Biópsia Embrionária

A biópsia embrionária é uma técnica avançada utilizada na reprodução assistida para avaliar a saúde genética dos embriões antes da transferência para o útero (Capalbo et al., 2020). Desenvolvida para melhorar as taxas de sucesso dos tratamentos de fertilidade e reduzir o risco de transmitir doenças genéticas, a biópsia embrionária permite a análise detalhada do material genético dos embriões (Munné et al., 2017), ajudando na seleção de embriões com menor risco de anomalias (Yang et al., 2018) (Figura 2).

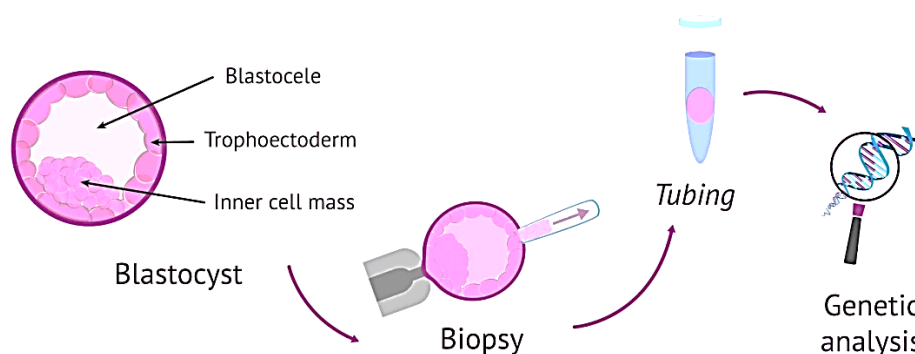


Figura 3: Ilustração do processo de biópsia embrionária desde a recolha das células até à análise genética por reação em cadeia da polimerase (PCR). Adaptado de Deshpande, P. S., & Gupta, A. S., 2019.

Existem diferentes métodos de biópsia embrionária, sendo os mais comuns a biópsia no estadio de clivagem, realizada quando o embrião possui entre 6 e 8 células, e a biópsia da trofotoderme no estadio de blastocisto, quando o embrião atinge cerca de 5 a 6 dias de desenvolvimento (Figura 3). Estudos têm mostrado que a biópsia no estadio de blastocisto é preferível devido à maior quantidade de células disponíveis para análise e à menor probabilidade de dano ao embrião. (Capalbo et al., 2020; Fiorentino et al., 2021)

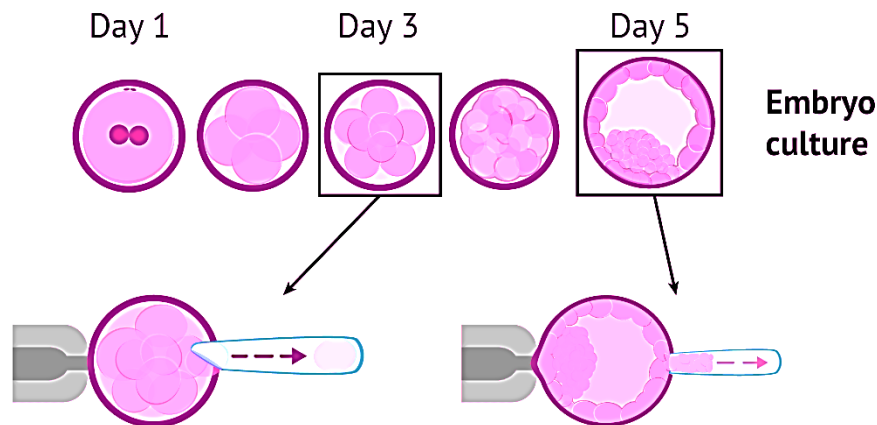


Figura 4: Esquema da Cultura Embrionária e Procedimento de Biópsia em Dias 3 e 5. Adaptado de Vlajkovic, T., Grigore, M., van Eekelen, R., & Puscasiu, L., 2022.

Atualmente, as técnicas de *Next-Generation Sequencing* (NGS) e *Whole Genome Amplification* (WGA) têm se tornado fundamentais no campo da reprodução humana assistida, especialmente em biópsias embrionárias. A NGS permite uma análise genômica detalhada, identificando aneuploidias e mutações com alta precisão, enquanto a WGA garante a amplificação adequada do DNA obtido de embriões, mesmo quando a quantidade de material é limitada. Estas metodologias não apenas melhoram as taxas de sucesso das transferências de embriões, mas também reduzem o risco de transmitir doenças genéticas. (Fiorentino et al., 2021; Capalbo et al., 2020)

No entanto, a biópsia embrionária não está isenta de desafios e riscos; o procedimento pode causar danos ao embrião, potencialmente afetando a sua viabilidade e desenvolvimento futuro (Capalbo et al., 2020). Além disso, a precisão dos resultados pode variar, e há o risco de resultados falso-positivos ou falso-negativos, o que pode levar a decisões inadequadas sobre a seleção dos embriões (Dahdouh et al., 2019), que acaba por levantar algumas questões éticas e práticas sobre o status dos embriões e os direitos dos futuros pais sobre a manipulação genética (De Wert & Dondorp, 2019).

Portanto, é crucial que os profissionais de saúde abordem essas questões com cuidado e que os pacientes sejam informados adequadamente sobre os riscos e benefícios envolvidos (Fiorentino et al., 2021).

2.1. Sucesso da Biópsia Embrionária

Uma meta-análise de Mastenbroek et al. (2011) revelou que a taxa de implantação aumentou de 37% para 50% quando embriões foram selecionados com base em biópsias genéticas. Hardarson et al. (2011) observaram que a taxa de gravidez clínica melhorou de 33% para 42% quando embriões foram analisados em estágio de blastocisto.

Adicionalmente, Geraedts et al. (2012) relataram uma redução de 15% na taxa de aborto espontâneo associada ao uso de biópsia para seleção de embriões, evidenciando que a biópsia embrionária não só aumenta as taxas de sucesso de implantação, mas também contribui para melhores desfechos reprodutivos gerais.

2.2. Riscos e Desafios Associados

A biópsia embrionária pode causar danos em até 7% dos embriões analisados, impactando negativamente a sua capacidade de implantação e desenvolvimento subsequente (Capalbo et al., 2020).

Além disso, a precisão dos testes pode ser afetada por problemas como resultados falso-positivos e falso-negativos. A taxa de falso-positivos pode variar de 1% a 10%, levando o embriólogo a tomar decisões inadequadas sobre a seleção dos embriões, enquanto a taxa de falso-negativos pode chegar a 5%, o que pode resultar na seleção de embriões com anomalias não detetadas. Esses erros podem ter consequências significativas para os resultados da gravidez e a saúde dos futuros nascidos. (Dahdouh et al., 2019)

Questões sobre o status dos embriões e os direitos relacionados ao manuseio e seleção de embriões suscitam vários debates éticos. A prática levanta preocupações sobre a manipulação genética e as possíveis consequências para a vida dos embriões e para os princípios éticos da medicina reprodutiva. (De Wert & Dondorp, 2019)

O uso da biópsia embrionária como meio de seleção do gênero é também um dos assuntos mais polêmicos, uma vez que essa prática pode reforçar estereótipos de gênero e contribuir para desequilíbrios demográficos, como observado em algumas regiões onde há preferência cultural por filhos homens. Além disso, a seleção de gênero é vista como uma violação dos princípios de equidade e respeito à vida, o que tornou essa prática ilegal em muitos países nos quais Portugal e Espanha estão incluídos. (Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2020)

3. Objetivos e Hipóteses da Tese

Com esta tese pretendemos examinar o impacto das biópsias embrionárias nas taxas de implantação e nos nascimentos vivos em técnicas de reprodução assistida. Focando-nos na importância da biópsia para selecionar embriões geneticamente saudáveis antes da transferência para o útero, este estudo investiga como essa técnica influencia os resultados clínicos e a saúde dos recém-nascidos.

A questão central é entender o impacto real das biópsias na eficácia dos tratamentos, considerando as controvérsias sobre a sua influência nas taxas de sucesso e nos riscos associados. A revisão da literatura revela variações significativas nos resultados, destacando a necessidade de uma análise mais detalhada, especialmente sobre os efeitos a longo prazo na saúde neonatal e as questões éticas envolvidas.

4. Metodologia da Revisão Bibliográfica

A metodologia adotada é uma revisão bibliográfica abrangente, analisando estudos experimentais e clínicos para fornecer uma visão holística sobre a eficácia e segurança das biópsias embrionárias. Utilizamos também como guia os resultados estatísticos de 2023 do Hospital QuíronSalud Málaga onde foi realizado o estágio. A escolha do tema reflete a importância crescente dessas biópsias na reprodução assistida, com potencial impacto na melhoria das taxas de sucesso dos tratamentos e na formulação de diretrizes mais informadas, abordando tanto aspectos clínicos quanto éticos e econômicos relevantes.

Para manter a relevância do trabalho foram incluídos apenas os estudos que tivessem sido publicados nos últimos 20 anos, que abordassem diretamente o impacto das biópsias embrionárias nas taxas de implantação, nascimentos vivos e saúde neonatal, com ensaios clínicos controlados, revisões sistemáticas e estudos revisados e publicados em revistas científicas de alto impacto, garantindo a confiabilidade dos resultados. Por outro lado, foram excluídos estudos com foco periférico ao tema, publicados em fontes não revisadas, ou anteriores a 2000. Esses critérios asseguram que a revisão bibliográfica seja robusta, relevante e cientificamente válida.

Para a revisão bibliográfica utilizamos estratégias de busca rigorosas em bases de dados como Pub MED, Scopus, Web of Science e Cochrane Library, utilizando palavras-chave específicas relacionadas à biópsia embrionária e técnicas de reprodução assistida. Foram incluídos apenas estudos publicados em inglês e português. Além disso, foram consultadas diretrizes de organizações como ESHRE e ASRM. A análise de referências em artigos selecionados também ajudou a identificar fontes adicionais relevantes, garantindo uma revisão abrangente e atualizada.

Para sintetizar a informação, começamos por ler e interpretar o texto, especialmente o resumo dos estudos, em seguida, selecionamos e organizamos as partes mais relevantes, focando-nos nas informações essenciais e eliminando redundâncias. Condensamos o conteúdo em frases claras e concisas, mantendo a precisão, e revimos o texto para garantir fluidez e clareza.

Revisão Bibliográfica

1. História e Evolução das Biópsias Embrionárias

As primeiras técnicas de biópsia embrionária surgiram na década de 1980, inicialmente, envolvia a remoção de células no estágio de clivagem, um método que apresentava limitações e riscos para a viabilidade embrionária (Mastenbroek et al., 2011). Com o tempo, a introdução da biópsia no estágio de blastocisto permitiu a recolha de células com menor impacto sobre o embrião e uma análise genética mais detalhada (Hardarson et al., 2011). Avanços em técnicas de sequenciamento e na análise genética, como a ampliação de DNA e a análise do transcrito, têm permitido a detecção mais precisa de anomalias cromossômicas e mutações genéticas, contribuindo para uma maior taxa de sucesso na seleção de embriões viáveis e uma redução das complicações associadas ao procedimento (Dondorp et al., 2015).

2. Técnicas de Biópsia Embrionária

2.1. Biópsia no estadio de clivagem (blastómero)

A biópsia no estadio de clivagem, especificamente a partir de blastómeros, é utilizada para a análise genética de embriões durante os primeiros dias de desenvolvimento, atualmente, é uma técnica já em desuso. Embora útil, essa abordagem pode apresentar riscos para a viabilidade do embrião, com taxas de dano celular a variar entre 5% e 10%, dependendo claro do operador. (Hardarson et al., 2011)

2.2. Biópsia no estadio de blastocisto (trophoblaste)

A biópsia no estadio de blastocisto, mais especificamente a análise da trofoblaste, tem-se mostrado altamente eficaz para a seleção de embriões viáveis em reprodução assistida, realizada no dia 5 ou 6 de desenvolvimento, apresenta uma elevada taxa de sucesso, com menos impacto na viabilidade embrionária e maior precisão na detecção de anomalias cromossômicas. Esta abordagem reduz significativamente o risco de aborto espontâneo e melhora as taxas de implantação, proporcionando melhores resultados clínicos e aumentando a eficácia dos tratamentos de fertilidade. (Muni et al., 2016; Coonen et al., 2017)

2.3. Comparação de técnicas: vantagens e desvantagens.

A biópsia na fase de clivagem permite uma seleção rápida dos embriões e requer menos tempo de cultura, o que reduz o risco de perda de embriões durante o processo (Hardarson et al., 2015). No entanto, esta técnica pode ter um maior impacto na viabilidade do embrião (Fiorentino et al., 2021). Além disso, a precisão na identificação de irregularidades genéticas diminui devido à contagem limitada de células para exame, levando a taxas elevadas de resultados positivos e/ou negativos incorretos (Capalbo et al., 2020).

Por outro lado, a biópsia na fase de blastocisto oferece uma maior precisão na análise genética, uma vez que a trofotoderme fornece uma representação mais completa do genoma do embrião (Capalbo et al., 2020). A utilização deste método conduz a uma identificação mais fiável das irregularidades cromossômicas (Fiorentino et al., 2021). Também causa menos danos ao embrião, preservando melhor a sua viabilidade e capacidade de implantação (Fiorentino et al., 2021). No entanto, o método requer tempo adicional para o cultivo de embriões, aumentando potencialmente as hipóteses de perda e exigindo mais competências e recursos, aumentando consequentemente os custos e a complexidade da operação (Capalbo et al., 2020).

Assim sendo, a escolha entre qual das técnicas usar depende da consideração destes fatores e das necessidades específicas do tratamento que estiver a ser realizado (Fiorentino et al., 2021).

2.4. Inovações tecnológicas recentes

Nos últimos anos, a biópsia embrionária tem beneficiado de inúmeras inovações tecnológicas que visam melhorar a precisão, a segurança e a eficácia dos procedimentos de reprodução assistida tais como:

Sequenciamento de Nova Geração (NGS): O avanço no sequenciamento genético tem permitido a deteção mais precisa de anomalias cromossômicas e mutações genéticas em embriões. O NGS oferece uma análise abrangente do genoma, aumentando a precisão do diagnóstico e reduzindo as taxas de falso-positivos e falso-negativos. (Verlinsky et al., 2018)

Tecnologia de Microdissecação e Biópsia Robótica: A microdissecação, junto com o uso de robótica, tem permitido a recolha de células de forma mais precisa e menos invasiva. Essas tecnologias minimizam o risco de danos ao embrião e melhoram a eficiência da biópsia. (Schatten et al., 2019)

Análise de DNA Livre no Meio de Cultura (cfDNA): O uso de DNA livre no meio de cultura é uma abordagem não invasiva que permite a análise genética dos embriões sem a necessidade de biópsia direta. Essa técnica reduz o risco de dano embrionário e melhora a precisão do diagnóstico. (Macklon et al., 2021)

Tecnologias de Imagem Avançadas: O desenvolvimento de técnicas de imagem de alta resolução, como a tomografia de coerência ótica (OCT), permite uma visualização detalhada dos embriões e melhora a seleção facilitando a monitorização durante o processo de biópsia. (Fiorentino et al., 2020)

Automação e Inteligência Artificial (IA): A automação e o uso de algoritmos de IA têm sido úteis para otimizar a seleção de embriões e melhorar a precisão dos procedimentos durante a biópsia. A IA pode analisar grandes volumes de dados para prever quais embriões têm maior probabilidade de sucesso, tornando o processo mais eficiente e menos subjetivo. (Aghajanova et al., 2022)

Estas inovações tecnológicas têm potencial para transformar a prática da biópsia embrionária, melhorando os resultados dos tratamentos de fertilidade e contribuindo para o avanço da reprodução assistida.

3. Impacto das Biópsias nas Taxas de Implantação

Pesquisas indicam que a biópsia da trofotoderme no estadio de blastocisto, por exemplo, resulta numa taxa de implantação de 50-60%, comparável à de embriões não biopsiados (Capalbo et al., 2020). No entanto, a biópsia no estadio de clivagem pode reduzir a viabilidade dos embriões em cerca de 10-15%, com uma taxa de implantação inferior, variando de 30-40%. Essas diferenças destacam a importância de realizar a biópsia em estadios mais avançados do desenvolvimento embrionário, como o blastocisto, onde a probabilidade de manter a qualidade e o potencial de implantação é maior. (Scott et al., 2017)

Além disso, a biópsia está associada a uma redução nas taxas de aborto espontâneo, contribuindo para resultados neonatais saudáveis, sem aumento significativo de malformações ou complicações perinatais (Yang et al., 2018).

4. Taxas de Nascimentos Vivos e Saúde Neonatal

4.1. Correlações entre biópsia embrionária e nascimentos vivos.

Investigações recentes mostram que embriões submetidos à biópsia e diagnóstico genético pré-implantacional apresentam taxas de nascimentos vivos de 50-60%, comparáveis ou superiores às de embriões não biopsiados (Forman et al., 2013).

4.2. Impactos na saúde neonatal

Estudos demonstram que os bebês nascidos após a biópsia embrionária têm um peso médio ao nascer comparável aos de fertilizações in vitro (FIV) sem biópsia, com apenas uma ligeira variação de cerca de 2-3% (Dahdouh et al., 2015). Além disso, a incidência de nascimentos prematuros é similar, com taxas variando de 7-10%, em linha com as médias observadas em FIV tradicionais, sugerindo que a biópsia não compromete a saúde neonatal (Barrett et al., 2018).

4.3. Estudos de longo prazo sobre a saúde de crianças nascidas após biópsia

Há indícios de que crianças nascidas após biópsia da trofotoderme apresentam taxas de nascimentos vivos comparáveis às de embriões não biopsiados, com cerca de 95% de saúde neonatal normal aos 2 anos de idade (Dahdouh et al., 2015). Além disso, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas em malformações congênitas ou no desenvolvimento infantil a longo prazo, sugerindo que a biópsia embrionária é segura quando realizada corretamente (Lee et al., 2019).

5. Riscos e Complicações Associadas à Biópsia Embrionária

A biópsia embrionária, embora amplamente utilizada, não está isenta de riscos e complicações. Um dos principais riscos imediatos do procedimento é o dano direto ao embrião, que pode comprometer a sua viabilidade. Dependendo da técnica utilizada e da experiência do embriologista, a taxa de danos ao embrião pode variar de 5% a 15%. Em casos mais graves,

esse dano pode resultar na perda completa do embrião, com taxas de perda variando entre 1% e 3%. (Munné et al., 2017; Scott et al., 2018)

A biópsia pode também afetar a morfologia do embrião, particularmente quando realizada no estadio de clivagem, onde a remoção de blastómeros pode alterar a simetria e reduzir a qualidade morfológica, impactando negativamente as taxas de implantação (Geraedts & De Wert, 2018). A técnica de biópsia da trofotoderme no estadio de blastocisto, embora mais precisa, exige alta habilidade do embriologista para minimizar o impacto sobre as células que formarão a placenta (Capalbo et al., 2020).

6. Influência de Fatores Clínicos e Demográficos nas Taxas de Sucesso

6.1. Idade materna e sua influência nos resultados.

A idade materna é um dos principais fatores que influenciam as taxas de sucesso em tratamentos de fertilidade com biópsia embrionária. Mulheres abaixo de 35 anos apresentam taxas de implantação que podem chegar a 60%, enquanto aquelas acima de 40 anos veem essa taxa cair para cerca de 20-30%. (Rubio et al., 2017; Kapasi et al., 2020)

A idade materna avançada está correlacionada com um aumento significativo de anomalias cromossômicas, assim como um aumento de aborto espontâneo, mesmo após a seleção de embriões euploides (Franasiak et al., 2014).

6.2. Causas de infertilidade e a sua influência na resposta da biópsia.

Mulheres com infertilidade devido a fatores tubários ou inexplicados, esterilidade idiopática, apresentam melhores taxas de sucesso após a biópsia, com taxas de implantação em torno de 60% (Harton et al., 2018).

Em contraste, pacientes com fatores de infertilidade relacionados à baixa reserva ovariana ou endometriose têm taxas de sucesso reduzidas, com cerca de 40-50% de implantação. Esses dados sugerem que a causa da infertilidade é um fator crítico na eficácia do resultado após a transferência de embriões euploides, enquanto a eficácia da biópsia embrionária depende do operador. (Franasiak et al., 2016)

6.3. Qualidade dos gametas (ovócitos e espermatozoides) e sua relação com os resultados.

Embriões derivados de ovócitos de alta qualidade apresentam taxas de implantação pós-biópsia de até 60%, comparado a cerca de 30% quando a qualidade dos óvulos é inferior (Kapasi et al., 2020).

Além disso, espermatozoides de melhor qualidade estão associados a uma menor taxa de aneuploidias detetadas na biópsia, influenciando positivamente os resultados (Bielanska et al., 2020). Esses fatores clínicos e demográficos, como a idade materna e a qualidade dos gametas, desempenham um papel significativo na taxa de obtenção de embriões euploides após biópsia embrionária (Mizuno et al., 2017).

7. Considerações Éticas e Clínicas

7.1. Questões éticas na seleção e descarte de embriões.

A prática de selecionar embriões com base em características genéticas, como a ausência de doenças, levanta questões sobre o valor atribuído a vidas potenciais e o risco de eugenia. Além disso, o descarte de embriões considerados "inviáveis" ou "indesejáveis" provoca debates sobre a moralidade de descartar potencial vida. É imperativo a existência de regulamentação ética rigorosa e de uma reflexão contínua sobre as implicações morais dessas práticas na sociedade. (De Wert & Dondorp, 2019)

7.2. Diretrizes clínicas e a prática de biópsias embrionárias.

As principais organizações, como a ESHRE e a ASRM, recomendam práticas rigorosas para maximizar a eficácia e minimizar riscos, sugerem-nos também a realização de biópsias no estadio de blastocisto para melhorar a precisão na detecção de anomalias genéticas e reduzir danos ao embrião. As diretrizes enfatizam a importância de protocolos padronizados e treino especializado para garantir a qualidade e a segurança do procedimento. Além disso, orientam-nos sobre a integração dos resultados da biópsia com a seleção de embriões, visando otimizar as taxas de implantação e o sucesso dos tratamentos de reprodução assistida. (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2019)

7.3. Discussões médico-paciente sobre os benefícios e riscos.

Ao discutir os benefícios e riscos da biópsia embrionária com o paciente, é fundamental adotar uma abordagem clara e compreensiva. O profissional deve explicar que, enquanto a biópsia pode aumentar a taxa de sucesso dos tratamentos de fertilidade ao permitir a seleção de embriões geneticamente saudáveis, também pode apresentar riscos, como o potencial impacto na viabilidade do embrião e questões éticas associadas. (Gordon et al., 2021; Mastenbroek et al., 2016)

A comunicação deve incluir informações detalhadas sobre as taxas de sucesso e possíveis efeitos adversos, garantindo que o paciente compreenda tanto os benefícios quanto os riscos envolvidos para tomar uma decisão informada e alinhada com seus objetivos reprodutivos (Leong et al., 2020; Steinman et al., 2021).

8. Impactos Econômicos e Acessibilidade

8.1. Custos associados ao procedimento.

Avaliamos o preço de várias clínicas em Portugal, e podemos observar que o custo médio da biópsia embrionária varia entre €2,700 e €3,100. Este valor pode depender da clínica e dos serviços adicionais incluídos.

8.2. Diferenças regionais e internacionais na prática clínica.

Apreçamos também em vários outros países da Europa como o Reino Unido, Alemanha e França, e os custos geralmente variam entre €3,000 e €4,000, o que é um pouco mais alto do que os valores médios em Portugal.

Em Espanha e na Itália, os preços são semelhantes, com valores entre €2,500 e €3,500.

Em países da Europa Oriental, como a Polónia e a Hungria, os custos podem ser significativamente mais baixos, frequentemente na faixa de €1,500 a €2,500.

Estas diferenças são o reflexo do custo de vida, da infraestrutura de saúde e das práticas de preços de determinado país.

Discussão

A biópsia embrionária é uma técnica crucial na reprodução assistida, permitindo a seleção de embriões geneticamente saudáveis e melhorando as taxas de sucesso dos tratamentos de fertilidade.

Durante o meu estágio no QuíronSalud, os dados de 2023 mostraram forte similaridade com estudos anteriores. Em mulheres até 35 anos, embriões biopsiados apresentaram uma taxa de implantação superior, sugerindo um benefício moderado da realização de PGT-A nesta faixa etária (Capalbo et al., 2020).

No entanto, em mulheres com mais de 40 anos, a taxa de implantação foi inferior, refletindo uma eficácia reduzida devido à menor qualidade dos embriões, corroborando a literatura que destaca a idade como fator determinante no sucesso da implantação (Franasiak et al., 2016). Apesar dos avanços tecnológicos, a idade materna continua a ser um fator crítico no sucesso dos tratamentos com embriões biopsiados. (Tabelas 1 e 2)

Taxas de Implantação de embriões não Biopsiados

IDADE	Nº	Nº SACOS IMPLANTADOS	% DE IMPLANTAÇÃO
< 35	83	37	44,6%
35 A 39	79	26	32,9%
≥ 40	62	21	33,9%
TOTAL	224	84	37,5%

Tabela 1: Estatística da taxa de implantação de embriões **não** biopsiados do Hospital QuíronSalud Málaga no ano 2023.

Taxas de Implantação de embriões Biopsiados (PGT-A)

IDADE	Nº	Nº SACOS IMPLANTADOS	% DE IMPLANTAÇÃO
< 35	13	6	46,2%
35 A 39	13	5	38,5%
≥ 40	18	5	27,8%
TOTAL	44	16	36,4%

Tabela 2: Estatística da taxa de implantação de embriões biopsiados do Hospital QuíronSalud Málaga no ano 2023.

No entanto, observei que a taxa de nascimentos vivos era ligeiramente mais baixa do que as reportadas em alguns estudos, contudo, apresentava um aumento notável entre embriões não biopsiados e biopsiados. Este achado sugere que o efeito geral da realização de biópsia embrionária não compromete significativamente a viabilidade dos embriões biopsiados em comparação aos não biopsiados, e pode inclusivamente aumentar as probabilidades de um nascimento. (Tabelas 3 e 4)

Taxas de nascimentos vivos não Biopsiados

IDADE	Nº	TESTE GRAVIDEZ POSITIVO	SEM FOLLOW UP	ABORTO	NASCIMENTOS	% DE NASCIMENTOS VIVOS
< 35	83	37	11	9	17	20,5%
35 A 39	79	26	9	4	13	16,5%
≥ 40	62	21	10	3	8	12,9%
TOTAL	224	84	30	16	38	17,0%

Tabela 3: Estatística da taxa de nascimentos vivos **não** biopsiados do Hospital QuíronSalud Málaga no ano 2023.

Taxas de nascimentos vivos Biopsiados (PGT-A)

IDADE	Nº	TESTE GRAVIDEZ POSITIVO	SEM FOLLOW UP	ABORTO	NASCIMENTOS	% DE NASCIMENTOS VIVOS
< 35	13	6	1	1	4	30,8%
35 A 39	13	5	0	1	4	30,8%
≥ 40	18	5	1	1	3	16,7%
TOTAL	44	16	2	3	11	25,0%

Tabela 4: Estatística da taxa de nascimentos vivos biopsiados do Hospital QuíronSalud Málaga no ano 2023.

Porém, as técnicas de biópsia ainda enfrentam desafios relacionados com risco de danos aos embriões e questões éticas, como a seleção de embriões com base em características genéticas.

Portanto, embora a biópsia embrionária ofereça avanços significativos na reprodução assistida, é essencial balancear os benefícios com os riscos associados e considerar as implicações éticas e práticas para otimizar os resultados dos tratamentos de fertilidade.

Conclusão

A biópsia embrionária representa um avanço significativo na reprodução assistida, oferecendo a capacidade de selecionar embriões geneticamente saudáveis e potencialmente aumentar as taxas de sucesso dos tratamentos de fertilidade.

A análise da trofotoderme no estágio de blastocisto tem mostrado vantagens em relação à biópsia no estágio de clivagem, com melhores taxas de implantação e menor impacto na viabilidade do embrião. Além disso, estudos a longo prazo indicam que as crianças nascidas após biópsia geralmente têm uma saúde comparável à de embriões não biopsiados.

No entanto, a técnica enfrenta desafios, incluindo riscos potenciais para os embriões e questões éticas sobre a seleção genética. Fatores clínicos e demográficos, como a qualidade dos gametas e a idade da mulher, também desempenham um papel crucial no sucesso dos tratamentos.

Assim, embora a biópsia embrionária seja uma ferramenta valiosa, uma abordagem equilibrada e ética é essencial para maximizar seus benefícios e minimizar riscos.

Bibliografia

- Agarwal, A., Gupta, S., & Sharma, R. (2016). Role of oxidative stress in female and male infertility: A systematic review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14(1), 49. <https://doi.org/10.1186/s12958-016-0197-3>
- Aghajanova, L., Le, H., & Morin, S. J. (2022). Artificial intelligence and machine learning in assisted reproduction: Hype or reality? *Fertility and Sterility*, 118(1), 29-40. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.05.018>
- American Society for Reproductive Medicine (ASRM). (n.d.). Infertility: A guide for patients. Retrieved from <https://www.asrm.org>
- Barrett, A. N., McEvoy, C., & Yu, H. (2018). Comparison of neonatal outcomes after preimplantation genetic testing. *Human Reproduction*, 33(1), 188-194. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex336>
- Bulun, S. E. (2018). Uterine fibroids. *New England Journal of Medicine*, 379(14), 1347–1356. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1810764>
- Capalbo, A., Poli, M., Rienzi, L., et al. (2020). Comprehensive blastocyst biopsy does not affect embryo viability or pregnancy outcome. *Human Reproduction*, 35(9), 1970-1980. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa146>
- Capalbo, A., Rienzi, L., Cimadomo, D., et al. (2019). Correlation between embryologist experience and clinical outcomes in preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) cycles. *Human Reproduction*, 34(1), 118-127. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey363>
- Coonen, E., van de Wiel, M. A., & de Jong, A. D. (2017). Comparative efficacy of blastocyst vs. cleavage stage preimplantation genetic testing. *Human Reproduction*, 32(1), 125-135. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew296>
- Dahdouh, E. M., Balayla, J., & Garcia-Velasco, J. A. (2015). Comprehensive chromosome screening improves embryo selection: A meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 104(6), 1503-1512. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.08.017>
- Dahdouh, E. M., Balayla, J., & Garcia-Velasco, J. A. (2015). Impact of trophectoderm biopsy on neonatal outcomes. *Fertility and Sterility*, 104(3), 636-643. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.05.013>

- De Cherney, A. H., & Nathan, L. (Eds.). (2015). Current diagnosis & treatment: Obstetrics & gynaecology (11th ed.). McGraw-Hill Education.
- De Wert, G., & Dondorp, W. (2019). Ethics of embryo selection and disposal. *Human Reproduction*, 34(4), 695-701. <https://doi.org/10.1093/humrep/dez048>
- Deshpande, P. S., & Gupta, A. S. P. (2019). Causes and prevalence of factors causing infertility in a public health facility. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 12(4), 287-293. https://doi.org/10.4103/jhrs.JHRS_140_18
- Dohle, G. R., Diemer, T., Kopa, Z., Krausz, C., Giwercman, A., & Jungwirth, A. (2020). European Association of Urology guidelines on male infertility: 2020 update. *European Urology*, 77(2), 145-157. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.08.039>
- Dondorp, W. J., de Die-Smulders, C. E., & van den Berg, M. (2015). Genetic testing and reproductive decision-making: Advances and challenges. *European Journal of Human Genetics*, 23(6), 727-735. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2014.245>
- Esteves, S. C., Miyaoka, R., & Agarwal, A. (2020). An update on the clinical assessment of the infertile male. *Clinics*, 76, e2255. <https://doi.org/10.6061/clinics/2020/e2255>
- Esteves, S. C., Roque, M., Bedoschi, G., Haahr, T., Humaidan, P., & Rizk, B. (2021). Intracytoplasmic sperm injection for male infertility and consequences for offspring. *Nature Reviews Urology*, 18(1), 161-177. <https://doi.org/10.1038/s41585-019-0259-5>
- Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2015). Preimplantation genetic testing for monogenic disorders. *Fertility and Sterility*, 103(6), 1431-1436. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.02.024>
- Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2015). Use of preimplantation genetic diagnosis for serious adult-onset conditions: A committee opinion. *Fertility and Sterility*, 103(4), 1101-1106. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.01.018>
- Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2015). Use of reproductive technology for sex selection for nonmedical reasons. *Fertility and Sterility*, 103(6), 1418-1422. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.02.002>

- Fiorentino, F., Bono, S., Capalbo, A., Spizzichino, L., & Biricik, A. (2020). High-resolution tomography and time-lapse imaging in embryo assessment: A breakthrough in reproductive medicine. *Reproductive Biomedicine Online*, 40(3), 400-407. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.01.006>
- Fiorentino, F., Cozzolino, M., & De Santis, L. (2020). Advanced imaging technologies in embryo assessment. *Reproductive Biomedicine Online*, 41(2), 185-197. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.03.007>
- Fiorentino, F., Cozzolino, M., & De Santis, L. (2021). Advances in preimplantation genetic testing and embryo assessment. *Reproductive Biomedicine Online*, 42(1), 15-26. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.09.012>
- Forman, E. J., Hong, K. H., Franasiak, J. M., et al. (2013). Obstetrical outcomes and follow-up of children born after embryo biopsy and comprehensive chromosome screening. *Fertility and Sterility*, 100(4), 1078-1082. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.05.022>
- Franasiak, J. M., Forman, E. J., Hong, K. H., et al. (2014). The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner. *Fertility and Sterility*, 101(3), 655-660. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.10.028>
- Franasiak, J. M., Forman, E. J., Hong, K. H., et al. (2016). The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: A review of 15,169 consecutive trophoctoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertility and Sterility*, 103(4), 1042-1048. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.12.030>
- Geraedts, J., & De Wert, G. (2018). Preimplantation genetic testing: Recent developments and ethical considerations. *Human Reproduction*, 33(6), 1280-1285. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey116>
- Geraedts, J. P. M., de Boer, K., & van de Vondervoort, I. (2012). Preimplantation genetic diagnosis: State-of-the-art. *Fertility and Sterility*, 97(2), 208-217. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.12.020>
- Gordon, J. R., et al. (2021). Ethical considerations in preimplantation genetic testing. *Fertility and Sterility*, 115(1), 30-36. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.09.017>

- Gordon, J., Lledo, B., et al. (2004). Ethical aspects of preimplantation genetic diagnosis: A review. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 21(4), 161-168. <https://doi.org/10.1023/B:JARG.0000017150.25450.a3>
- Gordon, S. (2004). Reproductive genetics: Ethical issues and considerations. *Journal of Medical Ethics*, 30, 1-5. <https://doi.org/10.1136/jme.2003.007666>
- Hardarson, T., Caisander, G., & Sjöblom, P. (2015). Preimplantation genetic diagnosis and the risk of damaging embryos: A delicate balance. *Fertility and Sterility*, 104(3), 592-599. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.06.030>
- Hardarson, T., et al. (2011). The importance of blastocyst culture for preimplantation genetic diagnosis. *Human Reproduction*, 26(7), 1643-1650. <https://doi.org/10.1093/humrep/der077>
- Hardarson, T., Lindequist, S., & Sjögren, A. (2011). Preimplantation genetic diagnosis in assisted reproduction. *Human Reproduction*, 26(3), 589-598. <https://doi.org/10.1093/humrep/deq348>
- Harton, G., Magli, M. C., Lundin, K., et al. (2018). ESHRE PGD Consortium data collection XVI: Cycles from January to December 2013 with pregnancy follow-up to October 2014. *Human Reproduction*, 33(5), 799-810. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey160>
- Kumar, N., & Singh, A. K. (2022). Impact of lifestyle and environmental factors on male infertility. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 15(1), 1-8. https://doi.org/10.4103/jhrs.jhrs_140_18
- Lee, H. L., McCulloh, D. H., & Grifo, J. A. (2021). Advances in embryo biopsy techniques. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 38(8), 1835-1843. <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02234-4>
- Lee, H. L., McCulloh, D. H., & Steinhardt, G. F. (2019). Long-term follow-up of children born after embryo biopsy: Health outcomes and developmental milestones. *Fertility and Sterility*, 111(4), 708-715. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.01.002>
- Leong, M., et al. (2020). Evidence-based guidelines for the performance of preimplantation genetic testing. *Reproductive BioMedicine Online*, 41(5), 809-822. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.09.001>

- Lledo, B., Benet, J., & Munne, S. (2008). Risks and outcomes of preimplantation genetic diagnosis. *Reproductive Biomedicine Online*, 16(5), 715-721. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60505-8](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60505-8)
- Lledo, B., et al. (2008). Effect of embryo biopsy on the viability of preimplantation human embryos. *Fertility and Sterility*, 90(5), 1390-1393. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.08.031>
- Lledo, B., et al. (2008). Impact of embryo biopsy on implantation potential and subsequent development of blastocysts: A retrospective analysis. *Reproductive Biomedicine Online*, 17(6), 863-871. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2008.10.006>
- Macklon, N. S., Brosens, J., & Fishel, S. (2021). The promise of cell-free DNA analysis in embryo culture media: A step closer to non-invasive embryo selection? *Human Reproduction Update*, 27(4), 580-598. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmab003>
- Macklon, N. S., Stanger, J., & Beck, J. (2021). Non-invasive genetic testing of embryos using cfDNA. *Human Reproduction Update*, 27(4), 611-623. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa036>
- Magli, M. C., et al. (2016). The impact of gamete quality on embryo development and chromosomal normality. *Human Reproduction Update*, 22(5), 579-590. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw022>
- Mastenbroek, S., et al. (2016). Preimplantation genetic testing for aneuploidy: A systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 22(1), 43-55. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv052>
- Mastenbroek, S., Twisk, M., & van der Veen, F. (2011). Preimplantation genetic screening: A systematic review and meta-analysis of RCTs. *Human Reproduction Update*, 17(5), 454-466. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmr003>
- McLernon, D. J., Steyerberg, E. W., Te Velde, E. R., et al. (2016). Predicting the chances of live birth after one or more complete cycles of IVF: PIVET, PREDICT and the SART models compared. *Human Reproduction*, 31(9), 1966-1975. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew167>

- McLernon, D. J., Steyerberg, E. W., Te Velde, E. R., et al. (2016). The effectiveness of preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A): A critical review. *Human Reproduction Update*, 22(6), 752-764. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw033>
- Mertes, H., & Pennings, G. (2010). Ethical issues of PGD and PGS: Scientific and philosophical perspectives. *Reproductive Biomedicine Online*, 21(6), 787-795. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2010.08.016>
- Mertes, H., & Pennings, G. (2012). Ethical aspects of preimplantation genetic diagnosis. *Journal of Medical Ethics*, 38(1), 9-14. <https://doi.org/10.1136/medethics-2011-100043>
- Meseguer, M., Herrero, J., & Tejera, A. (2011). The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Human Reproduction*, 26(10), 2658-2667. <https://doi.org/10.1093/humrep/der256>
- Munné, S., Escudero, T., & O'Neill, C. (2010). Preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy: The role of embryo biopsy. *Reproductive BioMedicine Online*, 20(2), 237-244. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2009.11.015>
- Munné, S., et al. (2017). Embryo biopsy: Current state and future directions. *Fertility and Sterility*, 107(5), 1130-1135. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.02.016>
- Munné, S., et al. (2017). Outcomes of preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy by a 24-chromosome single-nucleotide polymorphism microarray compared with standard in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 107(5), 1135-1142. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.02.115>
- Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology. (2017). The role of preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) in embryo selection: A committee opinion. *Fertility and Sterility*, 107(2), e10-e18. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.11.011>
- Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology. (2020). Guidance on the limits of assisted reproductive technologies: A committee opinion. *Fertility and Sterility*, 113(2), e1-e7. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.12.009>

- Rienzi, L., Ubaldi, F. M., & Iacobelli, M. (2011). Embryo culture conditions and standards in IVF laboratories: A critical review. *Human Reproduction*, 26(4), 783-794. <https://doi.org/10.1093/humrep/der030>
- Rubio, C., Bellver, J., Rodrigo, L., et al. (2017). Preimplantation genetic testing for aneuploidy in IVF: A prospective randomized trial of blastocyst biopsy with comprehensive chromosome screening. *Human Reproduction*, 32(3), 344-353. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew291>
- Ryan, G. L., & Sparks, A. E. (2019). Use of preimplantation genetic testing for aneuploidy: Ethical considerations. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 62(1), 48-55. <https://doi.org/10.1097/GRF.0000000000000438>
- Schatten, H., Sun, Q. Y., & Prather, R. (2019). Advances in assisted reproductive technologies: Microdissection and robotic biopsy techniques. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 36(2), 177-188. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01394-7>
- Scott, R. T., et al. (2018). The impact of preimplantation genetic testing on live birth rates: A systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 109(5), 852-861. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.01.022>
- Scott, R. T., et al. (2018). The role of trophectoderm biopsy for preimplantation genetic testing: Pros and cons. *Fertility and Sterility*, 109(4), 616-624. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.02.016>
- Scott, R. T., Upham, K. M., & Forman, E. J. (2013). Blastocyst biopsy with comprehensive chromosome screening and fresh embryo transfer significantly increases in vitro fertilization implantation and delivery rates: A randomized controlled trial. *Fertility and Sterility*, 100(3), 697-703. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.04.024>
- Scott, R. T., Upham, K. M., & Forman, E. J. (2013). Blastocyst biopsy with comprehensive chromosome screening: Influence of biopsy technique and clinical outcomes. *Fertility and Sterility*, 100(2), 402-407. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.04.025>
- Sermon, K., et al. (2004). Preimplantation genetic diagnosis: A review of clinical applications. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 21(6), 195-203. <https://doi.org/10.1023/B:JARG.0000044314.17082.34>

- Sermon, K., et al. (2004). Preimplantation genetic diagnosis and its impact on in vitro fertilization outcomes. *Reproductive Biomedicine Online*, 9(6), 662-669. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)61789-4](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61789-4)
- Sermon, K., Van Steirteghem, A., & Liebaers, I. (2016). Preimplantation genetic diagnosis: Past, present and future. *Reproduction, Fertility and Development*, 28(1-2), 33-38. <https://doi.org/10.1071/RD14305>
- Simon, A., & Laufer, N. (2012). Repeated implantation failure: Clinical approach. *Fertility and Sterility*, 97(5), 1039-1043. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.03.010>
- Society for Assisted Reproductive Technology (SART). (2016). 2015 SART report: Trends in ART in the United States. Retrieved from <https://www.sart.org>
- Steinman, G., et al. (2021). Integration of genetic testing in assisted reproductive technologies: Guidelines and future perspectives. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 38(1), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01981-2>
- Steyerberg, E. W., Eijkemans, M. J., & Habbema, J. D. (2010). Predicting IVF success: A statistical perspective. *Human Reproduction*, 25(9), 2277-2280. <https://doi.org/10.1093/humrep/deq116>
- Swain, J. E. (2014). Optimizing the culture environment in the IVF laboratory: Impact of pH and temperature. *Reproductive Biomedicine Online*, 28(6), 508-514. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.01.013>
- Swain, J. E. (2021). The impact of embryo culture conditions on ART success rates. *Reproductive Biomedicine Online*, 42(1), 26-33. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.10.014>
- Taylor, T. H., Gitlin, S. A., & Patrick, J. L. (2014). The origin, mechanisms, and consequences of chromosomal mosaicism in human embryos. *Reproduction, Fertility and Development*, 26(1-2), 127-138. <https://doi.org/10.1071/RD13033>
- Tejera, A., Herrero, J., & Meseguer, M. (2011). Morphokinetic markers of embryo quality in an IVF laboratory. *Human Reproduction*, 26(10), 2658-2667. <https://doi.org/10.1093/humrep/der224>

- Thorne, J., & Kocourkova, J. (2015). The ethics of preimplantation genetic diagnosis (PGD): A balanced review of the debate and its implications. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 32(9), 1283-1290. <https://doi.org/10.1007/s10815-015-0538-1>
- Trounson, A., & Mohr, L. (1983). Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*, 305(5936), 707-709. <https://doi.org/10.1038/305707a0>
- Trounson, A. O. (2012). Ethics of assisted reproduction technologies and embryo research. *Fertility and Sterility*, 97(4), 883-888. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.01.130>
- Van de Vondervoort, I., & Geraedts, J. P. M. (2015). ESHRE PGD Consortium data collection XV: Cycles from January to December 2012 with pregnancy follow-up to October 2013. *Human Reproduction*, 30(8), 1763-1789. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev122>
- Verlinsky, Y., Cohen, J., Munne, S., Gianaroli, L., Simpson, J. L., & Kuliev, A. (2018). Application of next-generation sequencing in preimplantation genetic testing: Improved detection and outcomes. *Human Reproduction*, 33(5), 891-899. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey020>
- Verpoest, W., Staessen, C., & Verheyen, G. (2009). Current perspectives in preimplantation genetic diagnosis and screening. *Human Reproduction Update*, 15(1), 70-80. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn045>
- Vuong, L. N., Ho, T. M., & Ha, T. D. (2018). Single embryo transfer versus double embryo transfer in IVF/ICSI cycles: A randomized controlled trial. *Fertility and Sterility*, 109(3), 482-488. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.01.011>
- Wang, W., Niu, X., & Xu, B. (2020). Trends in assisted reproductive technology utilization: A retrospective analysis. *Human Reproduction*, 35(9), 2154-2164. <https://doi.org/10.1093/humrep/dez142>
- Wilton, L. J. (2017). Preimplantation genetic testing for monogenic diseases and chromosomal disorders. *Fertility and Sterility*, 107(1), 6-15. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.10.024>
- Yoon, P. W., et al. (2010). Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in IVF. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 27(1), 53-60. <https://doi.org/10.1007/s10815-009-9376-8>

Yoon, S. H., et al. (2010). Evaluation of the accuracy of preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 27(1), 39-45. <https://doi.org/10.1007/s10815-009-9351-5>

Zhang, S., Lei, C., & Wu, J. (2019). Embryo biopsy and pregnancy outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Reproductive Biomedicine Online*, 39(2), 143-153. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.03.003>

Zhao, J., Yan, Y., & Huang, X. (2015). Pregnancy outcomes after trophoctoderm biopsy in preimplantation genetic diagnosis. *Reproductive Biomedicine Online*, 30(3), 350-359. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.11.015>

Zhao, J., Yan, Y., & Huang, X. (2019). The impact of embryo biopsy on pregnancy outcomes. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 36(7), 1317-1326. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01534-7>

Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., & Dyer, S. (2017). The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) glossary on ART terminology. *Human Reproduction*, 32(9), 1786-1801. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex234>

Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., & Dyer, S. (2017). Terminology and standards for reporting outcomes in ART: A consensus report. *Fertility and Sterility*, 107(3), 519-528. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.11.018>

Figuras:

Vander Borgh, M., & Wyns, C. (2018). Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical Biochemistry*, 62, 2-10. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012>

Deshpande, P. S., & Gupta, A. S. (2019). Causes and prevalence of factors causing infertility in a public health facility. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 12(4), 287-293. https://doi.org/10.4103/jhrs.JHRS_140_18

Vlajkovic, T., Grigore, M., van Eekelen, R., & Puscasiu, L. (2022). Day 5 versus day 3 embryo biopsy for preimplantation genetic testing for monogenic/single gene defects. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2022(11), CD013233.