

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTAÇÃO

Aspetos Técnicos e Considerações Éticas

Natália OLIVA TELES

RESUMO

Com o avanço das técnicas de Procriação Medicamente Assistida (PMA), surgiu em 1990 a primeira criança nascida após diagnóstico genético pré-implantação (DGPI). Neste tipo de análise, após estudo feito geralmente entre o terceiro e o quinto dias pós-fertilização, os embriões não afetados são transferidos para o útero materno. O DGPI, apesar de necessitar de técnicas relativamente recentes e dispendiosas, oferece boas perspectivas a casais em risco para determinadas doenças genéticas graves, em alternativa ao diagnóstico pré-natal convencional, particularmente nos casos em que seja necessário realizar PMA – nestes, é mais defensável a seleção embrionária precoce do que uma interrupção de gravidez tardia.

Em Portugal, com a Lei n.º 32/2006, relativa à Procriação Medicamente Assistida, posteriormente regulamentada por documento próprio em 2008, todo o procedimento médico e laboratorial ficou mais clarificado, tendo o ordenamento jurídico citado contemplado temáticas fulcrais, como o destino a dar aos embriões excedentários ou em que condições é permitida a investigação embrionária.

Os problemas éticos que se colocam no DGPI começam antes da execução do diagnóstico, com o aconselhamento genético, a obtenção do consentimento informado e a estrita manutenção da confidencialidade; todavia, os maiores problemas dizem respeito ao estatuto do embrião humano, à investigação e manipulação de embriões, à seleção de sexo e eugénica e à afetação de recursos. O grande desafio ético das gerações futuras será a definição de limites considerados razoáveis para a correção embrionária de sociedades futuras, nomeadamente através da terapia génica pré-concepcional, nunca esquecendo a aplicação dos quatro princípios bioéticos fundamentais: autonomia, beneficência, não-maleficência e justiça.

N.O.T.: Serviço de Bioética e Ética Médica. Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Centro de Genética Jacinto Magalhães, INSA, I.P.. Porto. Portugal.

SUMMARY

PREIMPLANTATION GENETIC DIAGNOSIS Technical and Ethical Considerations

Following the advances in the techniques of medically assisted reproduction (ART), 1990 has seen the first born child after the development of pre-implantation genetic diagnosis. In this analysis embryos are tested for the presence of genetic anomalies at three to five days after fertilization and only unaffected embryos are transferred to the maternal uterus. The technique offers good prospects to couples at risk for conventional prenatal diagnosis. It is particularly useful where ART techniques are necessary, in which early embryo selection avoids later termination of pregnancy.

In Portugal the application of laws concerning regulation of medically assisted reproduction in 2008 has clarified and formalised the medical and laboratory procedures and in some cases fundamentally changed them, particularly in the requirement to cryopreserve all high quality non-transferred embryos and in specifying conditions in which embryo experimentation may be permitted.

Ethical problems related to this technique start well before the analysis with detailed non-directive genetic counselling, obtaining informed consent for the procedure and maintaining strict confidentiality. The main ethical problems are concerned with the status, investigation and manipulating of the embryo, eugenic or sex selection and the provision with resources. The great ethical challenge for future generations will be the definition of reasonable limits for embryo manipulation, taking into account various possibilities including preconceptional gene therapy, while always remembering the application of the four fundamental bioethical principles: autonomy, beneficence, non-maleficence and justice.

INTRODUÇÃO

Na sociedade moderna, os tratamentos da subfertilidade e da infertilidade, através de técnicas de Procriação Medicamente Assistida (PMA), usando tecnologias complexas, sofisticadas e em constante atualização, são uma realidade inegável, pois eles contribuem para o bem-estar geral e serão seguramente, e cada vez mais, uma opção reprodutiva¹. Com o desenvolvimento destas técnicas, como a fertilização *in vitro* (FIV)² e a microinjeção intracitoplasmática de espermatozóide no ovócito (ICSI)³, nos anos 80 e 90 do século passado^{4,5}, surgiram hipóteses de diagnóstico de doenças genéticas nos embriões *in vitro*. Este estudo, que viria a designar-se por diagnóstico genético pré-implantação (DGPI), pode ser definido como *uma forma bastante precoce de realizar diagnóstico pré-natal in vitro e em que, após investigação genética, os embriões não afectados são transferidos para o útero materno*⁶.

As investigações inicialmente efetuadas em seres humanos tiveram lugar no Reino Unido, em 1989, com Handyside et al⁷, mas a primeira criança que resultou de técnicas de PMA associadas a realização de DGPI só viria a nascer em 1990. Os primeiros resultados oficiais relativos à prática de DGPI foram publicados em 2001 pela *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE)⁸ e mostraram que, entre 1994 e 2000, tinham nascido 162 crianças a partir de 163 gravidezes clínicas – o que permitia antever, já nessa altura, que este diagnóstico viria a ter grande importância na prática clínica. Segundo publicação de 2010, estima-se que o número de crianças nascidas após a sua realização esteja em 2010-2011 muito próximo de 10.000⁹.

Teoricamente, este diagnóstico poderá ser efetuado para qualquer análise genética já executada anteriormente num laboratório experiente, utilizando material não embrionário, embora a sua principal dificuldade técnica seja o escasso material disponível para análise. No entanto, para minimizar quaisquer possíveis erros de diagnóstico, muitos centros recomendam diagnóstico pré-natal para

confirmação do resultado obtido em DGPI, garantindo uma maior segurança no estabelecimento de um diagnóstico definitivo¹⁰.

As principais vantagens de execução de DGPI são: não ser necessário um abortamento, no caso de diagnóstico genético desfavorável; perder um embrião deficiente é preferível a pedir a morte de um feto *in-utero*; e, ainda, poder haver um tempo mais curto entre cada tentativa de gravidez¹¹. Embora a técnica seja considerada neutra e, por este motivo, não apresente problemas éticos, a realização prática do DGPI suscita questionamentos éticos e legais¹². Na verdade, em qualquer sociedade atual, a noção de *diferença, anomalia* ou *normalidade*, poderá desencadear diferentes escolhas para situações semelhantes, que poderão implicar problemas acrescidos às próximas gerações.

1. A TÉCNICA DO DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTAÇÃO

Desde a descoberta da estrutura do DNA e dos cromossomas que tem sido cada vez maior a importância atribuída às doenças genéticas e à sua prevenção e tratamento. Dados empíricos mostram que estas doenças representam cerca de um terço das admissões nas urgências hospitalares e a realidade é que muito poucas podem ser tratadas eficazmente¹³.

O diagnóstico genético pré-implantação requer a participação de especialistas nas áreas da Ginecologia/Obstetrícia e da Embriologia e Genética Médica, pois combina técnicas de fertilização *in vitro* com a análise genética do material embrionário. Em primeiro lugar é necessário assegurar uma boa avaliação e orientação médicas em cada uma das situações propostas; em seguida, é fundamental a estreita colaboração com um laboratório onde se efetuem técnicas e tratamentos de PMA e onde se irão colher as células para o DGPI; e, finalmente, um laboratório de genética com grande experiência prévia em várias técnicas de citogenética clássica e molecular. A técnica de PMA preferencial para este tipo

de diagnóstico é a ICSI, que constitui a primeira fase do diagnóstico e que envolve estimulação ovárica da mulher, monitorização e colheita de ovócitos e sua fertilização *in vitro*, de modo a que o laboratório possa obter embriões suficientes para a realização do DGPI; a segunda fase do DGPI é a transferência para o útero materno dos embriões selecionados, a partir dos quais se espera uma gravidez normal. Calcula-se que, com este diagnóstico, pelo facto de não serem transferidos embriões anormais para a cavidade uterina, se consiga reduzir até 95% o risco de transmissão à descendência de determinada doença genética grave de um casal portador¹⁴.

1.1-Técnicas de Colheita de Material para Diagnóstico Genético Pré-implantação

Em termos cronológicos do desenvolvimento embrionário, é possível descrever três tipos de técnicas de colheita para DGPI¹⁵:

a– Biópsia do primeiro ou segundo glóbulos polares, em ovócitos ou em zigotos, cerca de 12 horas pós-fertilização (esta técnica só permite recolher informações quando o problema genético tem origem materna)¹⁶. Tem sido utilizado preferencialmente nos E.U.A. e apresenta duas vantagens: é a única possibilidade técnica disponível para fazer diagnóstico pré-conceção e não é necessário retirar nenhuma célula diretamente do embrião. Como desvantagem, não permite fornecer informações sobre o genótipo paterno⁹.

b– Biópsia de um ou dois blastómeros, efetuada cerca do terceiro dia de vida embrionária, a técnica mais frequentemente utilizada a nível europeu, essencialmente para o diagnóstico de doenças monogénicas; implica que a zona pelúcida que envolve o embrião seja rompida, para por aí ser introduzida uma micropipeta para a recolha do material através de meios mecânicos, quer por laser quer quimicamente. Esta tem sido a técnica mais escolhida pela maior parte dos centros europeus que a oferecem e, por isso, aquela em que existe mais experiência a nível europeu.

Embora os primeiros estudos publicados mencionassem que retirar uma ou duas células (blastómeros) a um embrião de 6-8 células não parecia provocar alterações no seu desenvolvimento posterior, uma vez que estas células ainda não estão propriamente especializadas (Hardy et al, 1990)¹⁷, publicações posteriores baseadas numa maior experiência viriam a contradizer esta ideia original. Em 2007 aventou-se a hipótese de que a falta de uma célula pudesse implicar uma redução da sobrevivência do embrião, e cerca de 10% de redução na taxa de gravidez; assim, a remoção de duas células diminuirá ainda mais a taxa de gravidez (Cohen e Grifo, 2007)¹⁸. Estudos subsequentes, publicados em 2009,

revelaram uma redução de 22,4% na taxa de nascimentos após a remoção de uma célula (blastómero), subindo para 37,4% após a remoção de duas células (DeVos et al, 2009)¹⁹. No entanto, na decisão de recolha de uma ou duas células pesarão certamente os critérios do laboratório e a experiência que este tiver na patologia em causa.

c– Biópsia de blastocistos, cerca do quinto dia do desenvolvimento embrionário – como o embrião se encontra mais evoluído do que nas etapas anteriores, autores há que defendiam, por este facto, que esta seria a técnica mais promissora pois, com um embrião mais desenvolvido, potencialmente poder-se-ia obter um resultado mais fiável e ainda se poderiam alcançar melhores taxas de gravidez; apresentava também a vantagem de não ser necessário remover células embrionárias, embora implicasse sempre a congelação do embrião^{20,21}. Consultados os dados mais recentes da ESHRE, publicados em 2010, constatou-se que o grande entusiasmo gerado pela biópsia em blastocistos não se confirmou²², provavelmente porque apenas 40% a 50% dos embriões em cultura se desenvolvem *in vitro* até à fase de blastocisto, conforme bibliografia consultada¹⁴. Na verdade, segundo ESHRE, para um número total de 5.488 biópsias executadas para DGPI, 933 foram de glóbulos polares, 4.535 de blastómeros e apenas 20 foram de blastocistos, o que demonstra claramente qual é a proporção relativa de escolhas entre estas técnicas aqui descritas e a clara preferência pela biópsia de blastómeros, na Europa²². No entanto, qualquer que seja a técnica escolhida, é fundamental que o processamento das células colhidas e o resultado final sejam atingidos num máximo de 48 horas, para o embrião conseguir manter todas as suas propriedades e poder manter-se viável para ser transferido para o útero materno.

1.2. Tecnologia Utilizada no Diagnóstico Genético Pré-implantação

Após a obtenção das células para análise, podem utilizar-se dois tipos de abordagens para estudar a doença genética em causa: a *polymerase chain reaction* (PCR), recorrendo a técnicas de genética molecular, e a *fluorescence in situ hybridization* (FISH), que é uma tecnologia de citogenética molecular; a primeira tem sido mais utilizada no diagnóstico de doenças monogénicas²³ e a segunda na deteção de anomalias cromossómicas familiares²⁴⁻²⁶.

A primeira aplicação descrita da PCR em DGPI consistiu na amplificação da região repetitiva DYZ1 localizada no cromossoma Y de blastómeros e posterior análise por eletroforese em gel de agarose²⁷. A principal limitação da técnica da PCR é de natureza qualitativa posto que, como

a maior parte dos diagnósticos se baseia na análise de uma única célula, a distinção entre as quantidades obtidas de DNA e de outros produtos inespecíficos seja, por vezes, muito difícil²⁸. Por este motivo, desde que começaram a ser utilizadas, primeiro em fase de experimentação e depois na prática clínica, as técnicas de PCR têm vindo a ser aperfeiçoadas, permitindo diagnósticos cada vez mais precisos (especialmente de doenças monogénicas). Estas novas técnicas incluem tecnologia fluorescente e designam-se por PCR fluorescente²⁹, PCR fluorescente multiplex^{30,31}, PCR nested múltiplo³², PCR em tempo-real³³ e sequenciação³⁴.

Quando começou a ser utilizada, a técnica de FISH permitiu realizar o diagnóstico de translocações herdadas e o rastreio de aneuploidias, em mulheres com idade materna avançada^{35,36}. Posteriormente, a FISH passou a ser usada na investigação de mosaicismo, análise de gâmetas humanos, estudos da expressão génica no desenvolvimento pré-implantação de mamíferos (Verlinsky e Kuliev, 1998)³⁷ e determinação da frequência de aneuploidias (Verlinsky et al, 2001)³⁸, e evoluiu para a designada por FISH *multicolor* (Munné S, 1993)³⁹, na qual se usam sondas específicas para a alteração cromossómica em causa.

As tecnologias mais recentes e já utilizadas em diagnósticos clínicos incluem a hibridação genómica comparada (cCGH) para deteção de polimorfismos de nucleótidos únicos (SNP) ou variantes do número de cópias (CNV) (Basille et al, 2009¹⁰; Handyside et al, 2009⁴⁰; Johnson et al, 2010⁴¹). A hibridação genómica comparada utilizando *microchips* de DNA, designada por *arrayCGH* (a-CGH) permitiu, em 2010, realizar pela primeira vez a análise do material genético de uma única célula (blastocisto), num caso em que um dos progenitores era portador de uma anomalia cromossómica complexa (Vanneste et al, 2010)⁴². Na compilação de dados da ESHRE mais recente, correspondente ao ano de 2007, não houve nenhum erro de diagnóstico registado nesse período; os dados acumulados desde o início dos registos até 2007 contabilizaram um total de 28 erros de diagnóstico: em 12 o PCR tinha sido utilizado e em 16 a FISH (Harper et al, 2010)²².

Os primeiros DGPI de que resultaram gravidezes clínicas, realizados por Handyside em 1990, utilizando a PCR, consistiram na identificação do sexo de vários embriões em risco para dois tipos de doenças ligadas ao cromossoma X (adrenoleucodistrofia e atraso mental ligado ao cromossoma X), dos quais resultaram dois pares de gémeas saudáveis²⁷. Deve salientar-se que, apesar das dificuldades técnicas e dos elevados custos económicos, o DGPI, em constante aperfeiçoamento desde há cerca de

21 anos, surge atualmente como uma alternativa viável ao DPN convencional, tanto para doenças monogénicas como defeitos cromossómicos, vindo a ser cada vez mais utilizado em todo o mundo na área da infertilidade de casais⁴³.

Em Portugal, o grupo de trabalho com mais experiência em DGPI apresentou em 2009 os resultados de 100 ciclos clínicos de DGPI para polineuropatia amiloidótica familiar (PAF) em 58 casais, de que resultaram 20 gravidezes clínicas, das quais 15 corresponderam a gravidezes de termo⁴⁴.

1.3 - Dificuldades do Diagnóstico Genético Pré-implantação

A complexidade das técnicas atrás descritas para realização do DGPI pode levantar algumas dificuldades ou problemas, nomeadamente técnicos e psicológicos, que podem interferir no resultado final e que foram sendo identificados desde os primórdios da realização deste diagnóstico⁴⁵. No entanto, é importante salientar que o desenvolvimento de um feto afetado ou o nascimento de uma criança anormal não constituem necessariamente um diagnóstico errado: pode só se ter conseguido obter um resultado apenas parcial ou o novo ser sofrer de outra patologia que não aquela para a qual foi testado⁴⁶; sobretudo, há ocorrências que são independentes da técnica utilizada (*e.g.*, tipo e quantidade de amostra) e inerentes aos seres humanos (erros de etiquetagem, por exemplo, entre outros).

Assim, o erro de diagnóstico será sempre o maior e o mais preocupante problema de qualquer teste genético – no DGPI pode ocorrer um erro logo na colheita de material: este pode não ser embrionário ou ter sido contaminado com outro não embrionário – por exemplo, esperma na zona pelúcida (o primeiro erro de diagnóstico publicado após a execução da primeira série de DGPI foi precisamente um sexo errado, pois apenas foram amplificadas células contendo o cromossoma Y). Por outro lado, se todas as células do cúmulo que revestem os ovócitos não forem retiradas antes da biópsia, poderá haver contaminação por material materno (o primeiro erro de diagnóstico publicado após a primeira série de DGPI efetuados foi precisamente um sexo errado, pois apenas foram amplificadas células contendo o cromossoma Y)⁴⁷. O *allele drop-out* (ADO) ou a amplificação preferencial é o fenómeno pelo qual apenas um dos alelos de um determinado cromossoma é amplificado. Tanto quanto é do nosso conhecimento, este fenómeno acontece ao acaso, o que significa que não é possível prever em qual dos alelos numa célula heterozigótica isso pode ou vai acontecer; por este motivo,

o ADO pode levar a erro de diagnóstico nos embriões heterozigóticos (o que já aconteceu em três casos de fibrose quística, por exemplo) e é o principal obstáculo no DGPI de doenças dominantes em que a técnica utilizada é a PCR²⁸. Existe ainda o problema do mosaicismo, visto haver o perigo de a célula escolhida aleatoriamente ao microscópio para o diagnóstico não ser representativa das características genéticas do embrião – anulando a ideia central do DGPI, que é o facto de uma célula recolhida pela biópsia ser representativa de todo o embrião. No sentido de reduzir a possibilidade de erro de diagnóstico nestas circunstâncias, alguns autores sugerem a confirmação dos resultados em mais do que uma célula, particularmente no caso de doenças autossómicas recessivas, ou o uso da FISH *multicolour* nas determinações de sexo⁴⁷.

O segundo problema de ordem técnica que poderá ocorrer é a perda potencial de embriões viáveis durante o ciclo de tratamento – para além da possibilidade de insucesso da ICSI em si, uma desvantagem extra para os casais que não precisariam de recorrer às técnicas de PMA, há o perigo real de danificar os embriões durante a sua manipulação, para recolha de material de estudo e, por esse motivo, reduzir as hipóteses de gravidez.

Como terceira desvantagem, refira-se que a realização do DGPI depende do sucesso da técnica de ICSI – isto significa que o facto de se ter chegado a um diagnóstico pré-implantação favorável, em que pelo menos um embrião poderá dar origem a uma criança saudável, não é garantia de nenhum nascimento.

O elevado preço do DGPI constitui a quarta desvantagem. Na prática, o DGPI implica, no mínimo, a realização de um ciclo de ICSI, seguido de análises moleculares complexas para despiste de determinada anomalia genética, o que tornará sempre esta técnica um pouco mais cara do que só um ciclo de FIV, por exemplo. O acesso a esta tecnologia estará, portanto, sempre limitado à capacidade monetária de cada utente ou à política de saúde e de equipamentos de cada país. Em Portugal, a tabela oficial de preços praticados para os tratamentos de Procriação Medicamente Assistida mais recente faz parte integrante da Portaria n.º 67/2011, que apenas indica os valores a cobrar por cada ICSI (entre 2.613 euros e 3.325 euros), nada mencionando em relação aos preços praticados para DGPI⁴⁸; estes dependerão certamente do tipo de doença e da tecnologia necessária para obtenção de um diagnóstico.

A quinta desvantagem é o elevado esforço físico e mental dos casais. Por todas as dificuldades já descritas poder-se-á facilmente perceber que nunca será de ânimo leve que um casal decidirá optar por este tipo de diagnóstico. Por este motivo, o apoio psicológico continuado deverá ser uma

parte integrante e obrigatória destes ciclos de tratamento. Como a probabilidade de sucesso de uma gravidez saudável é bastante reduzida, isto implica que, para a maioria dos casais, um só ciclo de fertilização possa ser insuficiente e, por isso, haja necessidade de *recomeçar tudo de novo!*

1.4 - Enquadramento jurídico do Diagnóstico Genético Pré-implantação

Até 2008 quase não existia no ordenamento jurídico português uma legislação própria quanto à PMA ou ao DGPI, salientando-se a relativa ausência de preceitos jurídicos vocacionados para os novos desafios da bioética, possivelmente refletindo o desconhecimento destas matérias por parte da sociedade portuguesa face a uma evolução científica muito rápida. Em 2006 foi publicada a Lei n.º 32/2006, de 26 de julho⁴⁹, que regula a Procriação Medicamente Assistida. Esta lei foi devidamente regulamentada dois anos mais tarde, pelo Decreto Regulamentar n.º 5/2008, de 11 de fevereiro⁵⁰. O capítulo V desta lei é exclusivamente dedicado ao diagnóstico genético pré-implantação, estando-lhe reservados os artigos 28.º e 29.º. Em consonância com as legislações estrangeiras, esta Lei N.º 32/2006 criou, no artigo 30.º, a entidade reguladora do sector, designada por Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida (CNPMA) que, logo no ponto n.º 1, especifica que a este *competete, genericamente, pronunciar-se sobre as questões éticas, sociais e legais da PMA*. Nas últimas alíneas deste artigo está ainda estabelecido que, das atribuições do CNPMA, fazem parte: f) *estabelecer orientações relacionadas com o DGPI, no âmbito dos artigos 28.º e 29.º da presente lei*, vulgarmente designadas pelos profissionais como *guidelines* e, g) *Apreciar, aprovando ou rejeitando, os projetos de investigação que envolvam embriões, nos termos do artigo 9.º*⁵¹.

2. QUESTÕES ÉTICAS LEVANTADAS PELO DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTAÇÃO

Antes de se oferecer a possibilidade de DGPI a qualquer casal, independentemente do motivo ou da necessidade deste tipo de diagnóstico, deverá sempre fazer-se um aconselhamento genético (AG) não-directivo, que representa um momento específico da intervenção preventiva em Genética Médica. Segundo Harper, *aconselhamento genético é o processo através do qual doentes ou familiares em risco para determinada doença que pode ser hereditária são avisados das consequências da anomalia, da probabilidade de a virem a contrair ou transmitir e dos modos como pode ser prevenida*,

*evitada ou melhorada*⁵². O objectivo da consulta de AG é dar informação, explicar aos utentes aquilo que eles não compreendem, para que possam fazer escolhas informadas, e não tomar decisões por eles. Nos casos de infertilidade, o DGPI requer algumas adaptações específicas. Para os casais inférteis, é necessário dar apoio e aconselhamento diferentes e oferecer alternativas ao objectivo inicial, que é a procriação. Além disso, há ainda a considerar as múltiplas situações diferentes que vão surgindo (mulher solteira, casada ou lésbica) e o tratamento desejado (*e.g.*, doação de embriões ou maternidade de substituição)¹.

Em Portugal, até ao presente, apenas aos médicos compete fazer consultas de aconselhamento genético, independentemente da sua especialidade; habitualmente estas são feitas por clínicos gerais, obstetras, pediatras ou especialistas em Genética Médica. No entanto, acompanhando a tendência europeia e mundial, foi iniciado em Portugal (2009-2010) um programa de “Mestrado Profissionalizante em Aconselhamento Genético”⁵³ para profissionais de saúde não médicos, como enfermeiros ou psicólogos, que inclui um estágio prático em instituições de referência no segundo e último ano, para preparação do exercício de AG. Após a conclusão deste estágio com aprovação, os profissionais assim preparados poderão eventualmente vir a fazer consultas de aconselhamento genético – embora, para isto acontecer, tenha de haver alterações legislativas, pois, como consta da Lei n.º 12/2005 de 26 de Janeiro, Artigo 9.º, n.º 2 e n.º 3, o AG só pode ser feito *a pedido de um médico... em consulta de aconselhamento genético e em consulta médica apropriada*, além do Despacho n.º 5411/97 do Ministério da Saúde 4.7 – *As consultas de aconselhamento genético devem ser sempre realizadas por um médico, geneticista ou não, de acordo com a natureza da situação*.

2.1 Aconselhamento Genético e Procriação Medicamentosa Assistida

Como o DGPI implica uma ICSI, o AG nestes casos deve incluir as limitações deste procedimento, tais como baixas taxas de gravidez ou gravidezes múltiplas, mas deve também explicar as possíveis falhas técnicas, quer devidas à PMA quer ao DGPI, sob pena de não vir a proporcionar uma escolha devidamente informada. À partida, os indivíduos ou casais com problemas de infertilidade e que já tentaram vários ciclos de fertilização estarão mais conhecedores do que um DGPI implica física e psicologicamente. No entanto, aqueles que têm uma fertilidade normal e procuram este teste devido ao facto dele não implicar uma interrupção de gravidez terão de ser informados primeiramente quanto às técnicas de FIV/ICSI

e só depois às de DGPI. Assim, deve ser muito claramente explicado que, mesmo nos casais férteis, a taxa de sucesso de gravidez por cada transferência embrionária poderá não ultrapassar os 25%; além disso, podendo ocorrer efeitos secundários devido ao tratamento e potenciais riscos para a mulher, deverá ser dado tempo suficiente para permitir uma escolha completamente informada¹³.

Além disto, sempre que necessário, caso exista uma comissão de ética específica da unidade de fertilização artificial, esta pode pronunciar-se a favor ou desfavoravelmente quanto a um possível DGPI de indicação controversa, devendo os utentes ter pleno conhecimento de todo o processo e opções disponíveis^{54,55}. Nestes casos pensamos que, idealmente, poderia haver uma comissão de ética de genética a funcionar como uma comissão especializada, proporcionando ao casal uma segunda opinião, ainda que sem carácter compulsório. Em qualquer circunstância, poderá existir um confronto entre o princípio da autonomia do indivíduo e o da beneficência dos profissionais de saúde. Entende-se como autonomia do indivíduo a liberdade de cada um ajuizar do seu próprio bem, de exercer a sua vontade como agente moral; e a autonomia da vontade está na base da dignidade humana. A beneficência dos profissionais de saúde será o dever de não causar dano, *e.g.*, não fazer colheitas desnecessárias de amostras, o dever de prevenir o mal ou o sofrimento, ou seja, realizar, sempre que possível, as técnicas menos invasivas e o dever de fazer ou promover o bem.

2.2 Consentimento Informado

O conceito de consentimento informado (CI) não é antigo, nem nunca fez parte da tradição médica, datando as primeiras referências importantes apenas de 1947 (Código de Nuremberga), 1948 (Declaração Universal dos Direitos Humanos), 1964 (Declaração de Helsínquia, sobre experimentação em seres humanos) e 1981 (Declaração de Lisboa, sobre os direitos dos doentes, da Associação Médica Mundial)^{56,57}.

Pela documentação citada, constata-se que foi o reconhecimento social que se foi adquirindo pelo respeito da autonomia e da dignidade dos doentes que permitiu a criação da necessidade de existência do consentimento informado. Ao dar o seu consentimento, cada indivíduo está a exercer o direito à auto-determinação, participando ativamente numa escolha que a si diz respeito; e o profissional, ao pedi-lo, está a respeitar a integridade moral e física do seu próximo. Embora a importância dada ao consentimento informado seja razoavelmente consensual, nomeadamente para testes genéticos altamente diferenciados, como é o caso do DGPI, a natureza

e a possibilidade da sua realização apresentam mais dificuldades. No entanto, em termos gerais, pode dizer-se que os seus principais elementos são a divulgação, a informação, a compreensão, a voluntariedade e o consentimento⁵⁸.

Em relação aos elementos da informação, é sempre difícil avaliar quanta e de que tipo é necessário fornecer, mas geralmente é preciso explicar todos os procedimentos, quais os objetivos das técnicas a utilizar, enumerar os riscos e antecipar os benefícios, explicar alternativas (se as houver) e fazer compreender ainda, muito claramente, que em qualquer momento o utente ou doente em causa poderá desistir ou não querer saber um resultado.

No caso particular do DGPI, a compreensão do alcance do consentimento informado é de importância vital, visto ser extremamente importante que cada indivíduo mantenha o controlo total dos seus gâmetas e embriões e que o consentimento que vier a conceder para o seu uso se restrinja apenas ao por si estipulado^{58,59}. A partir do momento em que todos os pressupostos descritos anteriormente forem cumpridos, todos os candidatos a este diagnóstico estarão em condições de fazer escolhas informadas.

A entidade reguladora de PMA disponibiliza no seu sítio informação atualizada e pertinente sobre as diversas vertentes da PMA, 18 formulários de consentimento e recomenda que, antes de iniciar os processos terapêuticos de PMA, os casais devem prestar o seu consentimento de forma expressa e por escrito (artigo 14.º da Lei n.º 32/2006, de 26 de Julho). Especificamente para o DGPI, o formulário recomendado intitula-se: Fertilização *in vitro* ou microinjeção intracitoplasmática de espermatozóide no ovócito (ICSI) para Diagnóstico Genético Pré-implantação⁵¹.

2.3 - Escolha Informada

A informação total de todas as opções possíveis, incluindo a opção de não participar em nenhum estudo genético desnecessário, assumindo as consequências, é um direito de todos, não devendo ser tomada nenhuma medida de coação ou discriminação⁶⁰. É importante salientar que as escolhas (ou soluções) para resolver os dilemas que vão surgindo não se podem fazer apenas com base nos diversos princípios éticos – na maior parte das vezes, as soluções têm de ser encontradas mediante uma combinação de fatores, tais como os níveis elevados de profissionalismo, as expectativas da sociedade, a vontade individual de cada um, os benefícios esperados para cada doente e para todos os outros indivíduos da sociedade, as diversas opções em aberto para o caso em questão e a existência, ou não, de recursos humanos ou outros⁶⁰.

2.4 Confidencialidade

No caso de testes genéticos, como o DGPI, que poderão ter um resultado desfavorável e em que possam estar em risco diversos familiares e/ou descendentes, deverá haver várias tentativas ou abordagens, por parte do profissional de saúde, no sentido de sensibilizar os utentes para situações de futura culpabilização se, direta e ativamente, não autorizarem o contacto de outros familiares; deverá tentar-se uma solução de consenso que sirva, se possível, todas as partes sem dar lugar a desentendimentos familiares. Contudo, deverá ter-se também presente que, embora a manutenção da confidencialidade seja uma obrigação moral importante, todos têm direitos e deveres (profissionais ou doentes), não se podendo impor a ninguém obrigações absolutas e cegas. De acordo com os princípios éticos da boa prática clínica, as informações relativas a tratamentos de PMA prévios e aos resultados dos diagnósticos pré-implantação posteriores devem ser mantidos em absoluta confidencialidade. Tal como em qualquer outra análise genética, os resultados das análises e os registos dos procedimentos subsequentes, decididos pelo casal, deverão estar seguramente protegidos, quer nas fichas individuais por escrito, quer nos ficheiros informatizados. Em regra, só as pessoas que precisam de conhecer uma determinada situação familiar e os resultados de testes genéticos específicos deverão ser informadas, normalmente o casal que pretende realizar um DGPI. Posteriormente, se assim o entenderem, poderão ser eles próprios a dar conhecimento da sua situação, quer na procura de opiniões de outros profissionais, quer apenas por opção própria.

2.5 O estatuto do embrião humano

Na sua globalidade, para além do já referido, os problemas éticos que se põem no DGPI dizem essencialmente respeito às atitudes perante o embrião humano. Uma definição universal de embrião é uma tarefa impossível, pelo que talvez seja mais correto abordar o tema *embrião* a partir do desenvolvimento do seu estatuto. Sendo o estatuto do embrião (ainda) um tema tão atual e nunca esgotado, nesta *era do genoma humano*, qualquer tentativa para o definir poderá parecer incompleta. Como exemplo, Keating defende que a expressão *estatuto do embrião* se refere à questão controversa da proteção moral e jurídica a conceder ao embrião humano em diversos contextos (aborto, procriação medicamente assistida, experimentação, etc.), consoante a determinação da sua natureza, que oscila, segundo os casos e as filosofias, entre a de *material biológico* e a de *pessoa* (potencial ou não)⁶¹. Assim, infere-se que a questão do estatuto do embrião deve ser encarada de modo multidisciplinar e colocada em

diferentes planos, como o biológico, o ético-filosófico ou o ontológico. No caso particular do diagnóstico genético pré-implantação, por este ser realizado numa altura muito precoce do desenvolvimento embrionário, o tempo de vida de qualquer embrião a diagnosticar situa-se apenas entre o período que medeia entre a fertilização *in vitro* do ovócito com o espermatozóide e, geralmente, até ao quinto dia após essa fertilização.

De um ponto de vista biológico pode dizer-se que, a partir do momento em que há fertilização, o património genético único e o sexo do ser que daí se vai desenvolver ficarão definidos. Como a posse de património genético é característico de uma espécie, poder-se-á dizer de um embrião humano que é ser humano; então, por um lado, verifica-se a pertença à espécie humana e, por outro, a posse de potencial genético⁶². Esta noção biológica de potencial humano é um pouco restritiva, na medida em que não nos diz se estamos ou não perante uma pessoa humana ou, sequer, vida humana. Por outro lado, manifestando um ponto de vista estritamente médico, há quem defenda que, uma vez ocorrida a concepção, começou a existência de uma vida humana individual, que é um contínuo progressivo permanente, até que a morte natural ou artificial ocorra⁶³. Em termos biológicos pode então aceitar-se que é a partir da fertilização que se adquire a identidade genética, única para cada indivíduo (excepto nos gémeos idênticos). Mas isto nada diz quanto aos conceitos filosóficos de um *contínuo ontológico individual*; o exemplo é precisamente o caso dos gémeos idênticos que, tendo o mesmo código genético, não têm identidade ontológica equivalente⁶⁴. Indo então um pouco mais longe, pode colocar-se a questão se um embrião numa fase inicial é menos uma pessoa em potência que um embrião mais desenvolvido, utilizando o argumento da *potencialidade*. De um ponto de vista filosófico, segundo Warnock⁶⁴, talvez um modo de simplificar toda esta questão do início de vida humana ou de pessoa seja estimar em que estágio de desenvolvimento do embrião este adquire o estatuto de *moralmente* significativo ou, dito de outro modo, a partir de que altura é que se deve começar a tratar um embrião com o mesmo respeito com que se trata qualquer outro ser humano. Em suma, tal como refere Nunes, o argumento final não se deve centrar no facto de estarmos ou não em presença de pessoa humana no sentido filosófico, mas sim de *uma entidade possuidora de características tais que, se não surgir nenhum elemento perturbador, culmine, com grande probabilidade, na constituição de uma nova pessoa humana*⁶⁵.

CONCLUSÕES

Os testes genéticos, resultantes da aplicação prática de uma ciência em contínuo desenvolvimento, têm evidenciado um grande incremento, especialmente nos últimos anos, devido ao aperfeiçoamento de novas tecnologias e à criação de campos de aplicação profissional cada vez mais vastos. Todavia, o entusiasmo e o avanço científicos não têm gerado as correspondentes preocupações éticas, possivelmente por falta de conhecimento das fundamentações filosóficas, essenciais para lidar com esses assuntos. Importa, assim, questionar a problemática criada pela investigação de novas doenças e possibilidade de estabelecimento dos correspondentes diagnósticos, através de uma reflexão ética cuidada que sirva como um meio para todos atingirem uma melhor saúde e não seja apenas um inconsequente fim em si mesmo, nomeadamente porque a tecnologia genética pode colocar em causa a dignidade da pessoa humana naquilo que ela tem de mais nobre, ou seja, a sua própria natureza⁶⁶.

O diagnóstico genético pré-implantação é aquele que na atualidade se pode executar mais precocemente em termos de desenvolvimento embrionário. Para a sua realização, é essencial que haja uma articulação perfeita entre vários profissionais de saúde: médicos – especialistas em Obstetrícia (com grande experiência em problemas de infertilidade) e em Genética Médica – e técnicos de laboratório especializados em técnicas de fertilização *in vitro*. Este diagnóstico permite a seleção embrionária consoante o património genético presente em cada embrião e evita que os pais transmitam doenças genéticas à possível descendência. Em comparação com o diagnóstico pré-natal, a principal vantagem deste procedimento é o facto de um resultado anormal não implicar um abortamento, pois enquanto se realiza o teste genético não há ainda uma gravidez – esta só se verificará posteriormente, aquando da implantação do embrião no útero materno.

Para evitar juízos morais errados ou aconselhamentos genéticos diretivos, é aconselhável discutir o *caso* com as pessoas envolvidas e com outros profissionais de Genética. Estes devem, antes de mais, respeitar os direitos humanos dos seus semelhantes, tais como a autonomia, a privacidade e a vontade e lembrar-se que, na maioria das situações, é possível haver escolhas informadas.

Num futuro próximo, talvez venha a ser possível determinar a etiologia de quase todas as doenças conhecidas e então começará, realmente, a grande esperança de tratamento de todas elas a nível molecular; daqui surgirão novos problemas bioéticos e a tendência para os resolver será, muito provavelmente, feita caso a caso e/ou com

base em casos ocorridos anteriormente. Nessa altura, será importante que a sociedade seja informada, se interrogue, participe e seja crítica em relação à aplicação das novas tecnologias genéticas, ajudando a definir os parâmetros de utilização de testes tão sofisticados como o DGPI – por exemplo, evitando a generalização de práticas sociais de benefício duvidoso, como a seleção de sexo sem um objectivo terapêutico ou a destruição de embriões afetados por uma doença genética congénita de menor gravidade.

Conflito de interesses:

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesses relativamente ao presente artigo.

Fontes de financiamento:

Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

REFERÊNCIAS

1. OLIVA TELES N, NUNES R: Novos Desafios à Bioética. Porto: Porto Editora 2001;142-7
2. STEPTOE PC, EDWARDS RG: Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978;2:366
3. PALERMO G, JORIS H, DEVROEY P et al: Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992;340:17-8
4. MCLAREN A: Prenatal diagnosis before implantation: opportunities and problems. *Prenatal Diagnosis* 1985;5:85-90
5. TARIN J, HANDYSIDE A: Embryo biopsy strategies for preimplantation diagnosis. *Fertil Steril* 1993;59:943-952
6. SERMON K, LIEBAERS I: Molecular Biology in Reproductive Medicine. New York: The Parthenon Publishing Group 1999;409-431
7. HANDYSIDE AH, PATTINSON JK, PENKETH RJ et al: Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. *Lancet* 1989;1:347-9
8. GERAEDTS J, HANDYSIDE A, HARPER J et al: ESHRE Preimplantation Genetic Diagnosis (DGPI) Consortium: data collection II. ESHRE PGD Consortium Steering Committee. *Hum Reprod* 2000;15(12):2673-83
9. SIMPSON J: Preimplantation genetic diagnosis at 20 years. *Prenatal Diagnosis* 2010;30:682-695
10. BASILLE C, FRYDMAN R, EL ALY A et al: Preimplantation genetic diagnosis the state of the art. *Eur J Obst Gynaecol Reprod Biol* 2009;145:9-13
11. DRAPER H, CHADWICK R: Beware! Preimplantation genetic diagnosis may solve some old problems but it also raises new ones. *J. Med Ethics* 1999;25:114-120
12. OLIVA TELES N: Bioética em Genética - historial, problemas e princípios éticos. *Genética e Reprodução Humana (Coordenação Rui Nunes e Helena Melo)*. Coimbra: Gráfica de Coimbra 2000;49-80
13. OVERTON C: Clinical Aspects of Preimplantation Diagnosis. Preimplantation Genetic Diagnosis. Chichester: Wiley 2001;123-140
14. REGATEIRO F: Manual de Genética Médica 2004; Coimbra, Gráfica de Coimbra
15. HARPER J, PERGAMENT E, DELHANTY J: Guest Editorial. *Prenat Diagn* 1998;18:1343-4
16. MUNNÉ S, DAILEY T, SULTAN K et al: The use of first polar bodies for preimplantation diagnosis of aneuploidy. *Hum Reprod* 1995;10:1014-20
17. HARDY K, MARTIN K, LEESE H et al: Human Preimplantation

Development in Vitro Is Not Adversely Affected by Biopsy at the 8-Cell Stage. *Hum Reprod* 1990;5(6):708-714

18. COHEN J, GRIFO J: Multicentre trial of preimplantation genetic screening reported in the New England Journal of Medicine: an in-depth look at the findings. *Reprod Biomed Online* 2007;15:305-366
19. DeVOS A, STAESSEN C, RYCKE M et al: Impact of cleavage-stage embryo biopsy in view of PGD on human blastocyst implantation: a prospective cohort of single embryo transfers. *Hum Reprod* 2009;24:2988-96
20. CARSON S: Blastocyst Biopsy, Fertility and Reproductive Medicine, Proceedings of the XVI World Congress. Fertility and Sterility 1998;213-233
21. HANDYSIDE A: Preimplantation Genetic Diagnosis: an Update. 10th International Congress of Human Genetics (abst) 2001; May 15-19, Vienna, Austria: 64
22. HARPER J, COONEN E, De RYCKE M et al: ESHRE PGD consortium data collection X: cycles from January to December 2007 with pregnancy follow-up to October 2008. *Hum Reprod* 2010;25(11):2685-2707
23. CARVALHO F, SOUSA M, FERNANDES S et al: Preimplantation genetic diagnosis for familial amyloidotic polyneuropathy. *Prenat Diagn* 2001;21:1093-9
24. HARPER J, WILTON L: Preimplantation Genetic Diagnosis. Chichester: John Wiley & Son 2001;191-201
25. ALVES C, SOUSA M, SILVA J et al: Preimplantation genetic diagnosis using FISH for carriers of Robertsonian translocation: the Portuguese experience. *Prenat Diagn* 2002;22:1153-62
26. SCRIVEN P, KIRBY T, OGILVY C: FISH preimplantation genetic diagnosis. *J Vis Exp* 2011;23(48):2570
27. HANDYSIDE AH, KONTOGIANNI EH, HARDY K et al: Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos selected by Y-specific DNA amplification. *Nature (London)* 1990;334:768-770
28. WELLS D, SHERLOCK J: Preimplantation Genetic Diagnosis; Chichester. John Wiley & Son 2001;165-190
29. FINDLAY I, MATTHEWS P, QUIRKE P: Preimplantation Genetic Diagnosis Using Fluorescent Polymerase Chain Reaction: Results and Future Developments. *J Assist Reprod Genet* 1999;16(4):199-206
30. DEAN N, TAN S, AO A: The development of preimplantation genetic diagnosis for myotonic dystrophy using multiplex fluorescent polymerase chain reaction and its clinical application. *Mol Hum Reprod* 2001;7(9):895-901
31. GROß C, KUNZ-SCHUGHART L, HEHR U et al: Establishing a one step multiplex fluorescent PCR for the diagnosis of Huntington's disease on single cells. *Eur J Hum Genet* 2001;9(Suppl 1): 233
32. KULIEV A, CIESLAK J, JANSEN J et al: Conversion and non-conversion approach to preimplantation diagnosis for chromosomal rearrangements in 475 cycles. *Reprod Biomed Online* 2010;1:93-9
33. RICE J, SANCHEZ J, PIERCE K et al: Real-time PCR with molecular beacons provides a highly accurate assay for detection of Tay-Sachs alleles in single cells. *Prenat Diagn* 2002;22(12):1130-4
34. HUSSEY N, DAVIS T, HALL J et al: Preimplantation genetic diagnosis for beta-thalassaemia using sequencing of single cell PCR products to detect mutations and polymorphic loci. *Molec Hum Reprod* 2002;8(12):1136-43
35. VERLINSKY Y, STROM C, CIESLAK J et al: Birth of healthy children after preimplantation diagnosis of common aneuploidies by polar body fluorescent in situ hybridization analysis. *Fertility Sterility* 1996;66:126-9
36. WEIER U, MUNN S, FUNG J: Patient-specific probes for preimplantation genetic diagnosis of structural and numerical aberrations in interphase cells. *J Assist Reprod Genet* 1999;16:160-9
37. VERLINSKY Y, KULIEV A: Progress in Preimplantation Genetics. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 1998;5(1):9-11
38. VERLINSKY Y, CIESLAK J, EVSIKOV S et al: Clinical Outcome of Preimplantation Aneuploidy Testing in IVF Patients Of Advanced

Maternal Age. Eur J Hum Genet 2001;9(Suppl 1):2-32

39. MUNNÉ S, LEE A, ROSENWAKS Z et al: Diagnosis of major chromosome aneuploidies in human preimplantation embryos. Hum Reprod 1993;8;2185-95
40. HANDYSIDE A, HARTON G, MARIANI B et al: Karyomapping: a universal method for genome wide analysis of genetic disease based on mapping crossovers between parental haplotypes. J Med Genet 2009;47(10):651-8
41. JOHNSON D, GENELOS G, BANER J et al: Preclinical validation of a microarray method for full molecular karyotyping of blastomeres in a 24-h protocol. Hum Reprod 2010;4:1066-75
42. VANNESTE E, MELLOTE C, ULLMAN U et al: Genome-wide single cell array analysis for preimplantation genetic diagnosis of a complex chromosomal rearrangement carrier. Eur J Hum Genet 2010;18(Suppl 1):27 (abst)
43. CALDAS GH, CALDAS E, ARAÚJO ED et al: Opinions concerning pre-implantation genetic diagnosis and sex selection among gynaecologist-obstetricians in Brazil. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2010;148:158-162
44. CARVALHO F, CARVALHO B, SOUSA M et al: 100 PGD cycles for Portuguese familial amyloidotic polyneuropathy. Poster in 13th Meeting of the Portuguese Society for Human Genetics, 2009 Porto. Portugal
45. <http://www.hfea.gov.uk/>, [Acedido em 12 de Julho de 2010]
46. WILTON L, THORNHILL A, TRAEGER-SYNODINOS J et al: The causes of misdiagnosis and adverse outcomes in PGD. Hum Reprod 2009;24:221-8
47. HARPER P, WELLS D: Preimplantation Genetic Diagnosis; Chichester. John Wiley & Son 2001;241-262.
48. Portaria N° 67/2011, de 4 de Fevereiro. Diário da República 1ª Série, N°25;681-682.
49. Lei N° 32/2006, de 26 de Julho. Diário da República 1ª Série, N°143;5245-5250
50. Decreto Regulamentar N° 5/2008, de 11 de Fevereiro. Diário da República 1ª Série, N° 29;958-960
51. Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida: CNPMA.- disponível em www.cnpma.org.pt. [Acedido em 12 de Julho de 2010]
52. HARPER P: Practical Genetic Counselling. Oxford: Butterworth Heineman 5th ed 1998;3
53. Mestrado Profissionalizante em Aconselhamento Genético: Disponível em http://sigarra.up.pt/icbas/cursos_geral.FormView?P_CUR_SIGLA=MPAG. [Acedido em 12 de Julho de 2010]
54. RAEBURN S: Genetic Counselling. Preimplantation Genetic Diagnosis. Chichester: Wiley 2001;45-51
55. HANDYSIDE A: Preimplantation Diagnosis Today. Hum Reprod 1996;2(Suppl):139-151
56. MELO H: Ética em Cuidados de Saúde. Porto: Porto Editora 1998;176-215
57. PEREIRA A: O consentimento informado na relação médico-paciente. Estudo de direito civil. Centro de Direito Biomédico, Faculdade de Direito da Universidade de Coimbra. Coimbra: Coimbra Editora 2004
58. BEAUCHAMPT T, FADEN R: Informed Consent. Encyclopedia of Bioethics. New York: Simon & Schuster Macmillan 1995;1232-8
59. JONSEN AR, VEATCH RM, WALTERS L eds: Source Book in Bioethics - a Documentary History. Washington D.C: Georgetown University Press 1998;25-8
60. ROBERTSON J: Ethical and legal issues in preimplantation genetic screening. Fertil Steril 1992;57(1):1-11
61. WINSLADE W: Confidentiality. Encyclopedia of Bioethics. New York: Simon & Schuster Macmillan 1995;451-9
62. CALLAHAN S: Medical Ethics: A Guide for Health Care Professionals. Gaithersburg, USA: John Monagle and David Thomasma 1998;26-37
63. FORD N: Fertilization and the Beginning of a Human Individual. When Did I Begin?. Cambridge: Cambridge University Press 1991;102-131
64. WARNOCK M.: Birth. An Intelligent Person's Guide to Ethics. London: Duckworth 2998;40-53
65. NUNES R: Embrião Humano. Dicionário de Bioética. Vila Nova de Gaia: Perpétuo Socorro 2001;369-377
66. NUNES R, MELO H, NUNES C: Genoma e Dignidade Humana. Coimbra: Gráfica de Coimbra 2002