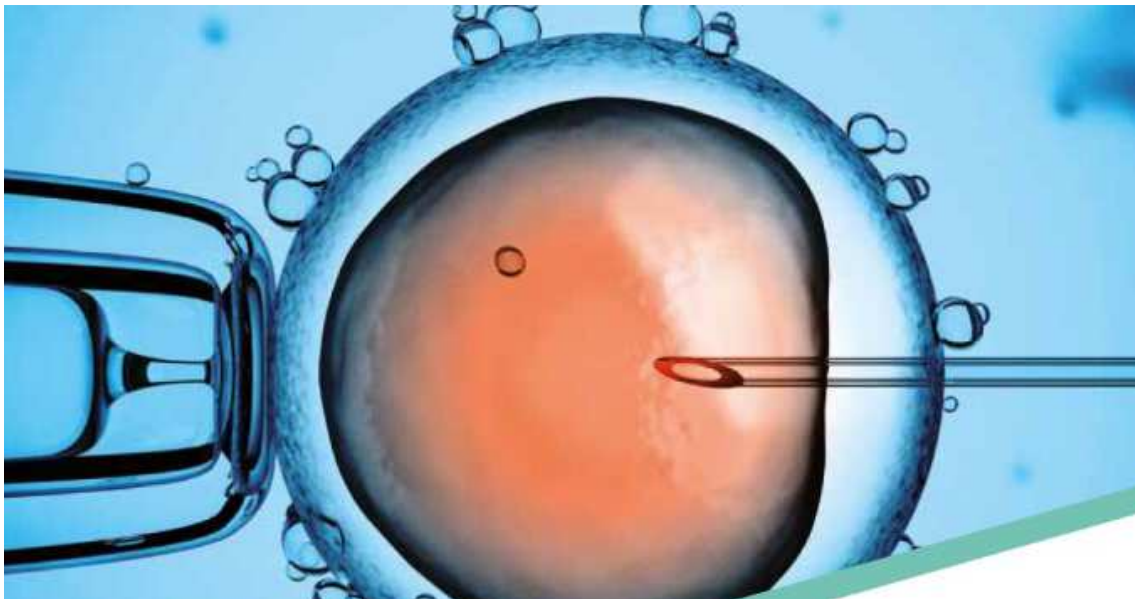


Trabajo Fin de Máster en Biología y Tecnología Aplicada a
la Reproducción Humana Asistida

PRINCIPALES ALTERACIONES GENÉTICAS EN
PACIENTES CON PROBLEMAS DE FERTILIDAD Y SU
IMPLICACIÓN EN LA PATOLOGÍA EMBRIONARIA



Autora: Ana Isabel Navarro Abad

Tutora: Irene Rubio Palacios

Villaviciosa de Odón 2020 - 2021

ÍNDICE:

- 1.** Resumen y palabras clave
- 2.** Introducción
 - 2.1. Esterilidad y estudio básico de la pareja
 - 2.2. Citogenética y análisis cromosómico
 - 2.3. Tipos de patologías cromosómicas
 - 2.4. Esterilidad masculina de origen genético
 - 2.5. Esterilidad femenina de origen genético
 - 2.6. Diagnóstico genético preimplantacional (DGP)
- 3.** Objetivos
- 4.** Material y método
- 5.** Resultados
 - 5.1. Resultados obtenidos a través del cariotipo
 - 5.2. Resultados obtenidos a través de DGP
- 6.** Discusión
- 7.** Conclusiones
- 8.** Bibliografía

1. RESUMEN:

La esterilidad es una enfermedad frecuente del sistema reproductivo que se da en un 10-15% de las parejas que buscan una gestación. Ante casos de esterilidad se debe realizar un estudio completo a ambos progenitores añadiendo pruebas genéticas y moleculares a pacientes con ciertas indicaciones. Los factores moleculares y genéticos que provocan problemas de fertilidad siguen en gran medida sin descubrirse. Sin embargo, cada vez se identifican más factores genéticos asociados a la infertilidad. Este trabajo está enfocado en explicar las bases cromosómicas de la infertilidad masculina y femenina centrándose en alteraciones numéricas (aneuploidías) y anomalías estructurales observadas a través del cariotipo. Para ello se estudiaron 435 parejas con deseo gestacional que se sometieron a Diagnóstico Genético Preimplantacional. Se estudian los cariotipos de los progenitores obteniendo un 98,4% de cariotipos femeninos normales (46, XX) y un 1,6% con alteración. Respecto al cariotipo masculino, un 97,5% fue normal (46, XY) y un 2,5% anormal. Como alteraciones cromosómicas más frecuentes en mujeres encontramos las inversiones pericéntricas (43%) y en varones las translocaciones recíprocas (55%). La indicación más frecuente por la que los pacientes se someten a ciclos de DGP es por edad avanzada femenina. Se analizaron los resultados del estudio genético de los 1399 embriones biopsiados de las 435 parejas y se observó que los cromosomas con un mayor porcentaje de anomalía genética fueron los autosómicos, en concreto el 15, 16, 21 y 22 siendo la trisomía y la monosomía las alteraciones más frecuentes. En función de la anomalía cromosómica que presentaron las pacientes con edad avanzada se calculó según su edad, basándonos en la bibliografía, el porcentaje de embriones transferibles por ciclo de DGP. Se comparó con el porcentaje teórico esperado siendo necesario realizar más estudios para poder comprobar si existe una correlación.

Palabras clave: infertilidad, esterilidad masculina, esterilidad femenina, edad avanzada, cariotipo, anomalías cromosómicas, aneuploidías, anomalías estructurales, diagnóstico genético preimplantacional.

2. INTRODUCCIÓN:

2.1. Esterilidad y estudio básico de la pareja:

La esterilidad es una enfermedad del sistema reproductivo que se define como la imposibilidad de lograr un embarazo clínico tras 12 meses o más de relaciones sexuales regulares sin protección. Se estima que un 10-15% de las parejas que buscan una gestación tendrán problemas de esterilidad. Por otro lado, entendemos por infertilidad la incapacidad de conseguir un recién nacido vivo, siendo este el caso de las parejas que consiguen un embarazo, pero que posteriormente lo pierden (1).

De todas las parejas clasificadas como estériles, la esterilidad femenina representa alrededor del 40-50%; en el 30-40% de estas parejas la causa es masculina, mientras que el 10-30% restante se atribuye a esterilidad de ambos progenitores o a causas de origen desconocido (2).

Ante sospecha de esterilidad se debe realizar un estudio a ambos progenitores incluyendo una anamnesis completa, un historial detallado de esterilidad, una correcta exploración física, así como determinaciones analíticas de carácter bioquímico. En la mujer realizaremos estudio de reserva ovárica y ovulación, ecografía transvaginal y valoración de permeabilidad tubárica. En el varón, la prueba *gold standard* es el seminograma completo. En función de su resultado se pueden ampliar otras determinaciones como la fragmentación del DNA espermático y el FISH de espermatozoides. *A priori*, hasta aquí llegaría el estudio básico de esterilidad.

En muchos casos, a raíz de los hallazgos realizados en ese primer estudio o bien porque la pareja lleva consigo una indicación clara, a ambos progenitores se les puede solicitar el estudio citogenético (cariotipo) ya que ciertas anomalías cromosómicas son causa de esterilidad. Esas indicaciones serían, por ejemplo, un factor masculino severo, historia de abortos previos (aborto de repetición, AR), fallos recurrentes de implantación tras transferir embriones de buena calidad (fallo de implantación, FI) o una indicación de diagnóstico genético preimplantacional o PGT (como puede ser la edad materna avanzada o el conocimiento de una enfermedad o patología genética en los progenitores).

2.2. Citogenética y análisis cromosómico:

La Citogenética es el área de la genética que se dedica al estudio de los cromosomas, su estructura, su herencia y las enfermedades relacionadas con ellos, causadas por un número y/o una estructura anormal, produciendo las llamadas anomalías cromosómicas (3). El análisis cromosómico se ha convertido en un procedimiento diagnóstico muy importante en la medicina reproductiva debido a que las anomalías en los cromosomas son causas importantes de pérdidas gestacionales y defectos congénitos. Este análisis se realiza a través de la obtención del cariotipo, que se define como el conjunto de cromosomas de una especie. Cada especie tiene un cariotipo característico en cuanto al número y la morfología de sus cromosomas (3).

Debido a que en el ámbito de la clínica suelen ir ligados, el concepto de cariotipo se usa con frecuencia para referirse a un cariograma, el cual es una foto o dibujo de los cromosomas de una célula metafásica ordenados de acuerdo con su tamaño y homología (figura 1) (3).

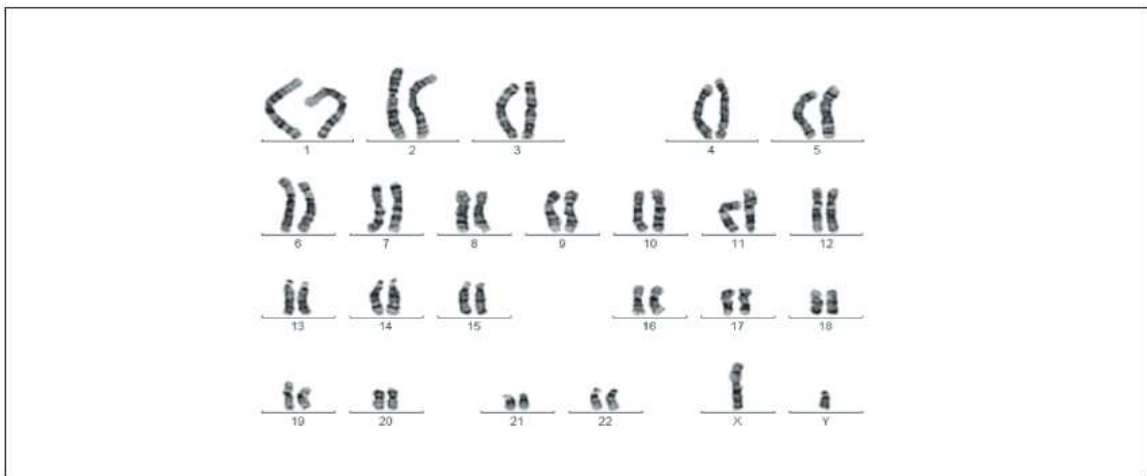


Figura 1. Cariograma de un individuo de sexo masculino cromosómicamente normal (46, XY). Fuente: *Conceptos básicos de citogenética clínica convencional. Análisis cromosómico constitucional.*

El momento más apropiado para estudiar la morfología de los cromosomas es durante la división del núcleo celular en metafase, ya que en ese momento su material nuclear, la cromatina (compuesta de ADN y una compleja serie de proteínas cromosómicas), pierde la apariencia relativamente homogénea característica de las células que no están en división y se condensa hasta tomar la apariencia de orgánulos en forma de

bastoncillo, los cromosomas. Estos cromosomas sólo son visibles en mitosis y presentan un empaquetamiento de ADN de hasta 1.000 veces más que en el núcleo en interfase (figura 2) (3).

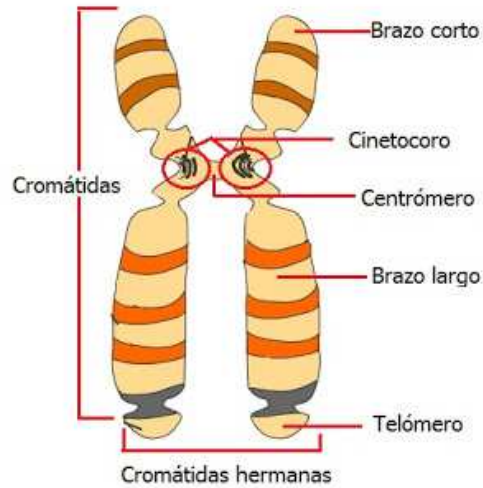


Figura 2. Estructura básica del cromosoma. En función de la posición del centrómero podemos hablar de diferentes tipos de cromosomas. Cromosomas **metacéntricos**: cuando el centrómero se ubica en la mitad del cromosoma, resultando ambos brazos con longitudes similares; serían los cromosomas 1, 3, 16, 19 y 20. Cromosomas **submetacéntricos**: tienen los brazos corto y largo de longitudes desiguales, con el centrómero más próximo a uno de los extremos; serían los cromosomas 2, 4-12, 17-18 y el cromosoma X. Cromosomas **acrocentricos**: tienen el centrómero muy cerca de un extremo, con un brazo corto muy pequeño; serían los cromosomas 13, 14, 15, 21, 22 y el cromosoma Y. El último grupo corresponde a los cromosomas **telocéntricos**, aquellos en los que sólo podemos apreciar un brazo porque el centrómero está situado en el extremo de la cromátida. Fuente: Shutterstock.

Cada cromosoma tiene un punto de constricción (centrómero) que lo divide en dos secciones o "brazos". El brazo corto del cromosoma es llamado el "brazo p", proveniente de pequeño en francés (petit), mientras que el brazo largo es llamado "brazo q". El centrómero es el punto donde se une el huso mitótico y desde el cual se lleva a cabo la segregación del cromosoma durante la división celular. Además, la localización del centrómero da al cromosoma su aspecto característico, permitiendo clasificarlo.

Otro término fundamental en genética reproductiva es el de gen. Los genes son las unidades de información genética, se codifican en el ADN cromosómico y se encuentran en orden lineal a lo largo de los cromosomas, de manera que cada gen posee una posición precisa o locus. El mapa génico es el mapa de la localización

cromosómica de los genes, siendo el mismo en todos los individuos de una misma especie (3).

Por otro lado, los diagramas (también llamados ideogramas) son básicamente un "mapa cromosómico" que muestra la relación entre los brazos corto y largo, el centrómero y, en el caso de cromosomas acrocéntricos, los tallos y satélites. En los ideogramas también se ilustran los patrones de bandas específicos; cada banda se numera para ayudar en la descripción de reorganizaciones (figura 3) (3).

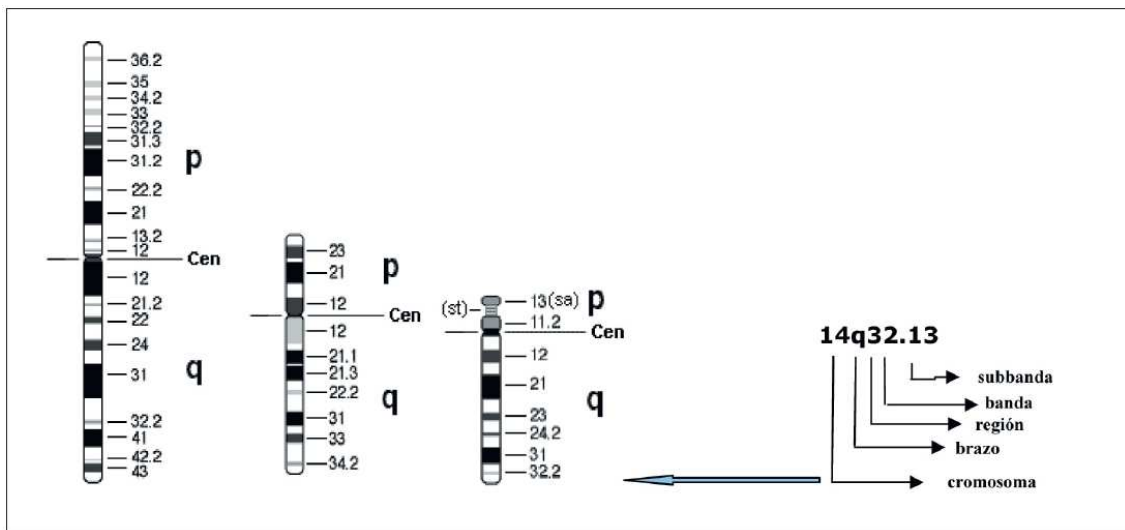


Figura 3. Ideograma de los cromosomas 1 (metacéntrico), 9 (submetacéntrico) y 14 (acrocéntrico) y significado de la numeración de las bandas. Fuente: *Conceptos básicos de citogenética clínica convencional. Análisis cromosómico constitucional.*

2.3. Tipos de patologías cromosómicas:

Las alteraciones cromosómicas más comunes encontradas en parejas infértiles incluyen, fundamentalmente, anomalías de dos tipos: numéricas y estructurales.

- **Anomalías numéricas:** se originan por errores durante la división celular, fenómeno conocido como no disyunción. Es un fallo en la separación de los cromosomas homólogos cuando están apareados en la placa metafásica, de manera que ambos cromosomas se desplazan hacia el mismo polo. Esto puede ocurrir en cualquiera de las dos divisiones meióticas (figura 4) (4).

Dentro de estas alteraciones encontraríamos algunas como el síndrome de Klinefelter, el cariotipo XYY o el síndrome de Turner y sus variantes; también reversiones del sexo (como varones XX o mujeres XY) (figura 5.)

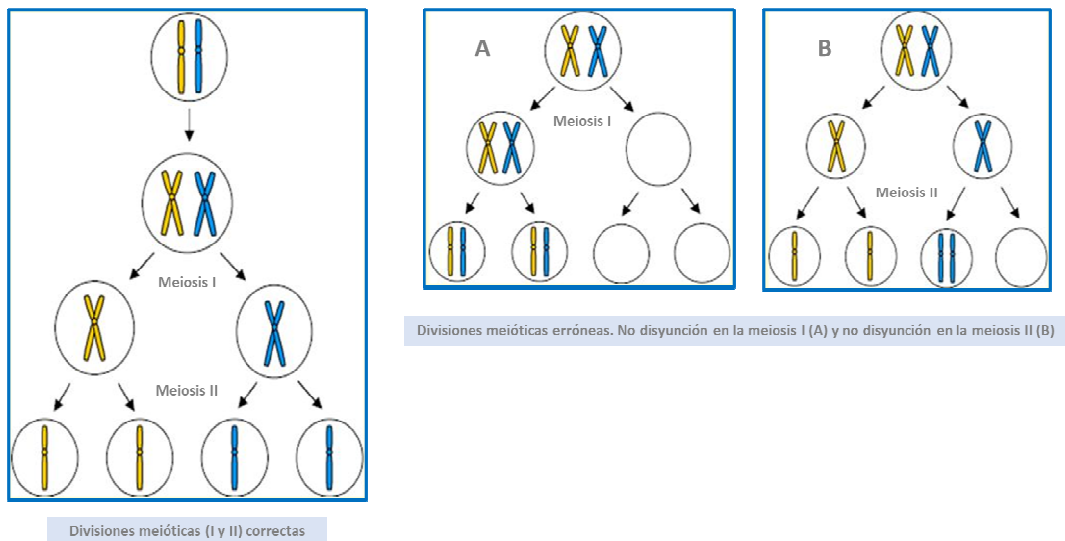


Figura 4. Representación gráfica de la no disyunción durante la meiosis.

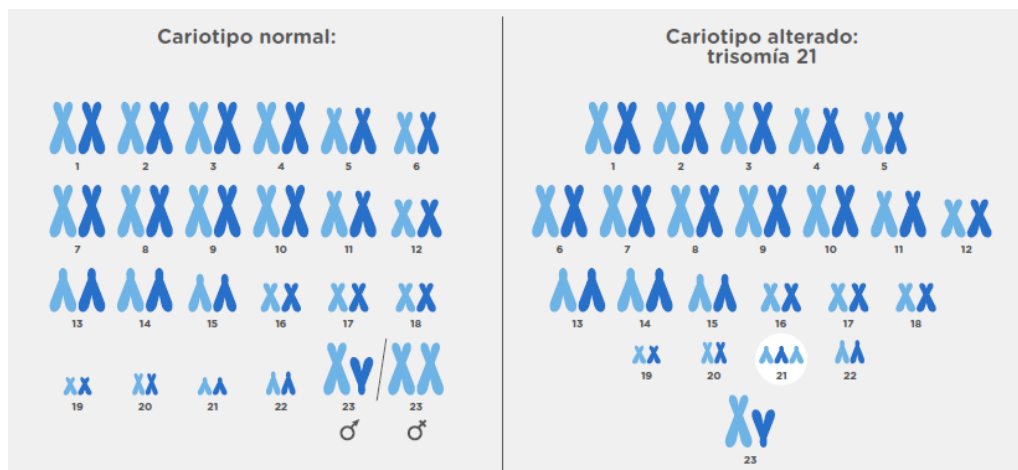


Figura 5. Alteraciones numéricas. Ejemplo de cariotipo normal (izquierda) y cariotipo alterado (derecha). En el cariotipo normal el número de cromosomas es de 46, divididos en 23 pares; 22 son los autosomas y 1 par son los cromosomas sexuales, siendo XX mujer y XY varón. En el ejemplo de cariotipo alterado, el número de cromosomas es anómalo: en lugar de 46 hay 47, porque el par 21 tiene tres copias, en lugar de dos. Por ese motivo se llama trisomía del cromosoma 21 y se corresponde con el Síndrome de Down. Fuente: IVI.

- **Anomalías estructurales:** pueden originarse debido al efecto mutagénico de los factores ambientales; estos producen roturas cromosómicas y eso conduce a un reordenamiento de los fragmentos resultantes. Pueden ser equilibradas (si no

afectan a la cantidad normal de información genética) o desequilibradas (si se altera el total de la información, sea mediante ganancias o mediante pérdidas) (4). Las más frecuentes son las translocaciones recíprocas y robertsonianas y las inversiones.

- Translocación recíproca: este fenómeno ocurre cuando dos fragmentos de dos cromosomas no homólogos se rompen y se intercambian. En este caso, si el cambio no implica ganancia o pérdida de los genes de ese cromosoma, pueden seguir funcionando: es equilibrada. Sin embargo, sí que puede repercutir en la dotación genética de la descendencia. Cuando sí se produce pérdida/ganancia de los genes de los cromosomas decimos que se trata de una translocación recíproca desequilibrada (4).
- Translocación robertsoniana: consiste en la fusión de dos cromosomas acrocéntricos (6). Supone un aumento de riesgo de trisomía de los cromosomas involucrados.
- Inversiones: las inversiones se producen por una doble rotura de un cromosoma y reunión de nuevo tras un giro (inversión de 180°). Pueden ser inversiones paracéntricas, si las dos roturas afectan aun mismo brazo cromosómico (no cambia la morfología del cromosoma), o pericéntricas si cada rotura afecta a un brazo cromosómico (cambia la morfología del cromosoma) (6).

Los portadores de translocaciones son fenotípicamente normales, pero tienen problemas reproductivos tales como oligospermia, en varones, y abortos e infertilidad en mujeres (4).

El motivo por el que una translocación puede ocasionar una reducción de la fertilidad se debe a las consecuencias derivadas del apareamiento de las secuencias homólogas. Los cromosomas implicados requieren adquirir una conformación especial durante dicho apareamiento (tetraivalente o trivalente) cuyo mecanismo y tiempo de formación puede obstaculizar el progreso de la meiosis. Por otro lado, la segregación de los cromosomas implicados en el tri o tetraivalente produce gametos desequilibrados genéticamente. La presencia de regiones sin sinapsis puede provocar un fallo de meiosis y eliminación de células germinales. Por último, los segmentos translocados tienden a un apareamiento precoz no homólogo con los

cromosomas sexuales X e Y, lo que impide la inactivación del cromosoma X produciéndose un efecto de dosis letal en la célula germinal (4).

En cuanto a su incidencia, las translocaciones recíprocas suponen el 0,2% en recién nacidos, mientras que las translocaciones entre los cromosomas 13 y 14 constituyen el 75% de las translocaciones robertsonianas (4).

Los efectos de las inversiones sobre la fertilidad dependen de la longitud del segmento invertido porque la frecuencia de recombinación de una región depende de la longitud de dicha región. Por tanto, las inversiones grandes suelen estar asociadas a mayor número de gametos aberrantes (y, como consecuencia, infertilidad) que las inversiones pequeñas (4).

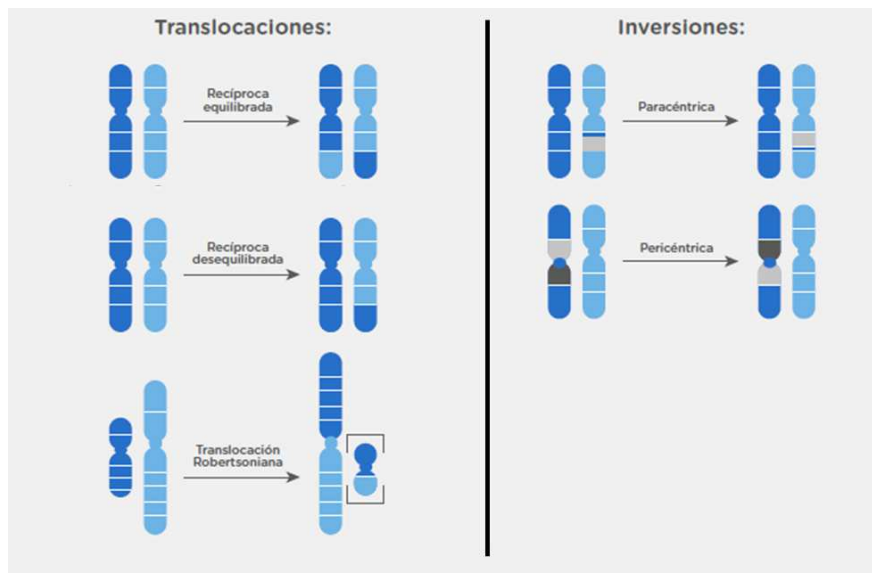


Figura 6.1. Alteraciones estructurales más frecuentes: translocaciones recíprocas, translocaciones robertsonianas e inversiones. Fuente: IVI.

Otras alteraciones estructurales serían las deleciones, anillaciones, duplicaciones e inserciones.

- **Deleciones:** una porción de uno de los cromosomas, al romperse y tratar de reconstruirse, se pierde de manera que los genes que estuviesen en esa zona se ven afectados.
- **Anillación:** un fragmento de uno de los cromosomas se rompe en sus extremos y se trata de reparar uniéndose entre sí, formando un anillo; en esa reparación se dejan fuera dos fragmentos con lo cual hay una pérdida

genética. Este tipo de anomalía estructural frecuentemente da lugar a enfermedad.

- Duplicación: ocurre cuando un segmento de un cromosoma se duplica, de modo que habrá una ganancia de los genes de esa región.
- Inserción: es el fenómeno por el cual se transfiere un segmento delecionado de un cromosoma a otro (3).

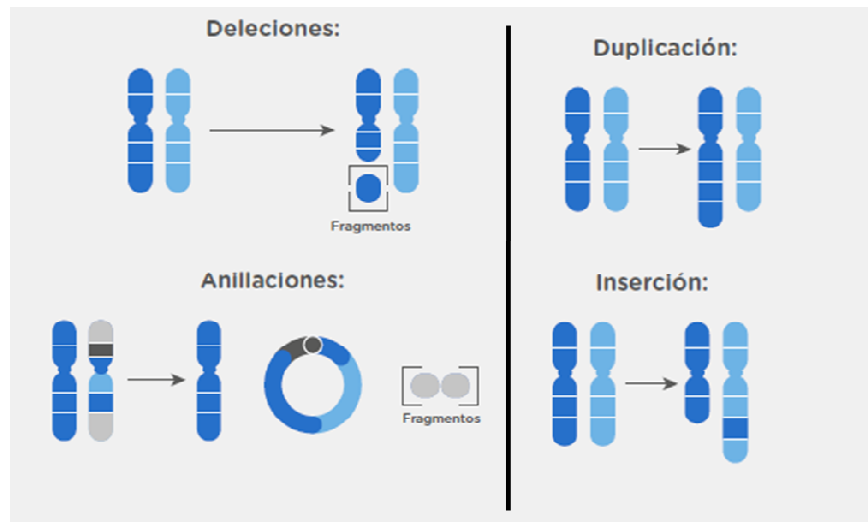


Figura 6.2. Otras alteraciones estructurales: deleciones, anillaciones, duplicaciones e inserciones. Fuente: IVI.

Las anomalías cromosómicas han demostrado estar presentes en un porcentaje pequeño pero significativo de parejas que consultan por esterilidad. Aunque algunas de estas anomalías cromosómicas pueden sospecharse clínicamente (como los síndromes de Klinefelter o Turner) ni los antecedentes familiares particulares ni los hallazgos clínicos patognomónicos permiten el diagnóstico clínico de la mayoría de ellas en pacientes infértiles que, por lo demás, son fenotípicamente normales (6). De ahí la importancia de realizar un cariotipo para su diagnóstico. Además, encontrar el origen cromosómico de la infertilidad en los pacientes también tiene un valor pronóstico porque ayuda a la gestión de los embarazos obtenidos (por ejemplo, realizando un diagnóstico prenatal), además de permitir el planteamiento más acertado del tratamiento de reproducción asistida previo. En cualquier caso, siempre que se solicite una prueba genética debe existir un compromiso de proporcionar

asesoramiento genético a la pareja una vez se hayan obtenido y evaluado los resultados, informando de la trascendencia de los hallazgos y de las opciones reproductivas de la pareja en cada caso.

2.4. Esterilidad masculina de origen genético:

Actualmente, se puede demostrar una causa genética en más del 20% de los pacientes que presentan azoospermia y oligozoospermia severa, lo que los convierte en candidatos obligatorios a cribado genético. Los estudios en familias de pacientes infértiles sugieren que la infertilidad masculina puede tener un componente familiar y se ha propuesto además un mecanismo de herencia autosómico (2).

Las anomalías en el cariotipo son más frecuentes en la población infértil que en la población general. Sabemos que un 5-6% de los varones infértiles tiene un cariotipo anormal en sangre. Y de los varones infértiles con cariotipo normal en sangre periférica, un 2-17% puede presentar anomalías meióticas que pueden dar como resultado alteraciones cromosómicas restringidas a la línea germinal, es decir, en los espermatozoides. Por lo tanto, se hace necesario el uso de distintas tecnologías para diagnosticar la presencia de anomalías cromosómicas y genéticas en los varones infértiles con cariotipo normal.

Entre las causas genéticas más conocidas y frecuentes de infertilidad masculina están las anomalías cromosómicas, las mutaciones del gen del receptor transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) y microdeleciones del cromosoma Y:

- Anomalías cromosómicas numéricas: una de las más frecuentes origina el síndrome de Klinefelter, también conocido como el síndrome XXY. Es una alteración que impide a los testículos producir espermatozoides, lo que da lugar a esterilidad por azoospermia (2). Afecta a 1 de cada 1000 varones nacidos vivos, aunque entre varones azoospermicos se ha encontrado con una frecuencia del 15%, esta frecuencia disminuye al aumentar el recuento espermático (4).
- Anomalías cromosómicas estructurales: son las alteraciones del cariotipo más frecuentes en la población. Estos varones son infértiles porque las anomalías

estructurales en el cariotipo pueden producir oligozoospermia y gametos desequilibrados, resultando en embriones con complementos cromosómicos anormales; en muchas ocasiones estos embriones sufren un bloqueo del desarrollo o, si son transferidos al útero de la paciente, conducen a fallos recurrentes de implantación. En numerosos casos estos embriones llegan a implantar, pero conducen a abortos espontáneos o abortos de repetición.

- Por otro lado, en los pacientes con azoospermia no obstructiva u oligozoospermia grave se debe estudiar la presencia de microdeleciones del cromosoma Y, que son una de las causas genéticas bien reconocidas de los fallos espermatogénicos que provocan infertilidad masculina (2). El grupo de genes ubicados en la región AZF (factor de azoospermia) son considerados factores determinantes de la azoospermia. En la actualidad se sabe que las microdeleciones en los tres loci significativos (denominados AZFa, AZFb y AZFc) y una cuarta región (denominada AZFd) producen alteraciones de distintos grados en el desarrollo del epitelio germinal. Los efectos sobre la fertilidad de estas alteraciones son muy variables: desde azoospermia a oligozoospermia leve. Estas alteraciones no se consideran tan graves como para desaconsejar los tratamientos de reproducción asistida, pero es necesario informar a los pacientes de que sus efectos se pueden manifestar con diversos grados en la descendencia.
- Los pacientes con azoospermia obstructiva son candidatos a las pruebas genéticas de mutaciones del gen CFTR, ya que pueden tener una malformación congénita de los conductos de Wolff, que son los precursores de los conductos deferentes, el epidídimo y las vesículas seminales durante el desarrollo fetal (2). En la mayoría de los hombres con ausencia congénita bilateral de los conductos deferentes, en la biopsia testicular con evaluación histológica encontramos espermatogénesis normal, lo que confirma el diagnóstico de azoospermia obstructiva; estos hombres tienen una alta probabilidad de tener descendencia mediante ICSI. Sin embargo, el riesgo de que el niño tenga fibrosis quística es mayor que el de la población general (2). Estas parejas serían candidatas para Diagnóstico Genético Preimplantacional o DGP.

En la siguiente tabla se resumen algunas de las anomalías cromosómicas masculinas más frecuentes y su efecto clínico.

	Cariotipo específico	Frecuencia	Seminograma	Tratamiento
Síndrome de Klinefelter	47, XXY	0,1% - 0,5% de los recién nacidos	Azoospermia en la mayoría de los casos	Micro – TESE – ICSI
Translocación recíproca balanceada	Varios patrones	0,123% de toda la población	Normozoospermia Azoospermia	Dependiendo del seminograma
Translocación robertsoniana	45,XY,rob(14q,15q)	0,9% - 3,4% de los varones infértiles	Normozoospermia OAT severa	Dependiendo del seminograma
Anomalías estructurales de cromosoma Y	46,XY,del(Yq)	Desconocida	Oligozoospermia Azoospermia	Micro – TESE – ICSI en caso de no existir deleciones en la región AZF
Varón XX	46, XX	0,005% - 0,001% de los recién nacidos	Azoospermia	Ninguno

Tabla 1. Características clínicas de las anomalías cromosómicas masculinas. Abreviaturas: AZF, factor azoospermico; Micro – TESE, microdissección testicular para la obtención de espermatozoides; OAT, oligoastenoteratozoospermia.

2.5. Esterilidad femenina de origen genético:

Respecto a la mujer, algunas de las principales causas de infertilidad de origen genético son las siguientes: alteraciones cromosómicas numéricas (constitucionales, en los gametos y en los embriones), alteraciones cromosómicas estructurales, trombofilias, fallo ovárico precoz y el síndrome de ovario poliquístico. A continuación, vamos a detallarlas una a una.

- Alteraciones cromosómicas numéricas constitucionales: una de las más frecuentes da lugar al **Síndrome de Turner (45, X)** con una incidencia de 1/5.000 niñas (4). Sus manifestaciones clínicas son variables, pero en lo que afecta a la reproducción presentan hipoplasia uterina y fallo ovárico prematuro

debido a una atresia de los ovocitos en la profase de la meiosis que impide que haya crecimiento folicular. Si la afección es más leve pueden sobrevivir algunos ovocitos y un 2-5% de las mujeres Turner pueden conseguir un embarazo de forma natural, pero tienen mayor probabilidad de que el embrión tenga anomalías cromosómicas, mayor tasa de aborto y más malformaciones fetales que el resto de las mujeres. Otro síndrome común causado por ganancia de un cromosoma X, es el **Síndrome Triple X** que tiene una incidencia de 1/1.000 niñas nacidas (4). Sus manifestaciones clínicas son variables y en lo que respecta a la fertilidad, no parece afectarla y no se ha confirmado el riesgo teórico de tener descendencia cromosómicamente anormal. Se ha descrito entre ellas un incremento en la probabilidad de fallo ovárico precoz que exige plantear adelantar el momento de la maternidad (4).

- Alteraciones cromosómicas numéricas en los gametos: la fertilidad comienza a decaer a partir de los 35 años en las mujeres. En este punto disminuye la reserva ovárica, coincidiendo con una bajada drástica en la calidad ovocitaria. Eso hace que en mujeres de edad avanzada aumente significativamente el riesgo de aneuploidías y así como la incidencia del fallo de implantación tras llevar a cabo un tratamiento de reproducción asistida. El proceso molecular parece ser una disfunción del huso meiótico, debido posiblemente a la disminución del pH intracelular, a un ambiente hipóxico o a alteraciones hormonales que comportan una segregación anormal de los cromosomas homólogos apareados durante la profase de la meiosis (bivalentes) y lleva a la producción de gametos aneuploides (4). Además, durante esta fase del ciclo celular también sucede el proceso de recombinación entre estos cromosomas bivalentes (quiasma) y existe una hipótesis que sugiere que una segregación anormal puede suceder por un menor número de recombinaciones o por la presencia de quiasmas más distales (4).
- Alteraciones cromosómicas numéricas en los embriones: se estima que el 15 – 20% de todas las concepciones terminan en un aborto detectable, pero esta cifra se eleva hasta un 50 – 60 % si consideramos que gran número de ellos

pasan desapercibidos. Las pérdidas fetales por causa genética o multifactorial pueden deberse a errores metabólicos o anomalías en la diferenciación de las estructuras embrionarias que afectan a la implantación o al desarrollo fetal, aunque muchos de estos factores están por determinar y su incidencia se desconoce (4). La mayoría de las parejas con abortos de repetición (tres o más abortos espontáneos consecutivos antes de las 20 semanas de gestación) tienen un cariotipo normal 46, XX y 46, XY. Sin embargo, encontramos anomalías cromosómicas en más de la mitad de los abortos espontáneos que suceden antes de la semana 28 de gestación. Los datos publicados demuestran una frecuencia del 38,5% en abortos espontáneos en las 6 – 25 semanas de gestación y un 60% antes de las 12 semanas (4). Por ese motivo, en parejas con más de dos pérdidas embrionarias o fetales además del análisis cromosómico a ambos debería incluirse sistemáticamente el estudio cromosómico de los restos abortivos.

Las alteraciones observadas con más frecuencia son las trisomías (52%). Aunque teóricamente pueden presentarse trisomías de los distintos pares cromosómicos, la del cromosoma 16 es la más frecuente (30%) y es siempre de origen materno (meiosis I). La monosomía X está presente en el 20% de las concepciones, aproximadamente, aunque solamente un 1% de los embarazos llegan a término. Las monosomías autosómicas se detectan raras veces. También son causa de abortos las poliploidías (18%), que pueden ser triploidías (69 cromosomas) o tetraploidías (92 cromosomas) (4). Las triploidías pueden resultar de una doble fecundación del óvulo (dispermia) o por un fallo en la extrusión del segundo corpúsculo polar del cigoto (diginia). Esta situación también puede originarse por la fecundación de un óvulo binucleado de mayor tamaño e incluso se han descrito mujeres susceptibles con riesgo de recurrencia para la triploidía (4).

Ante pacientes con abortos de repetición se deben realizar las siguientes pruebas además del cariotipo: estudios de anatomía uterina, determinación de anticoagulante lúpico, anticuerpos anticardiolipinas, factor V Leiden y TSH. Se debe tener precaución en la interpretación de un resultado anormal, ya que el factor identificado puede no ser el único causante de la pérdida gestacional.

- Alteraciones cromosómicas estructurales: son las alteraciones del cariotipo más frecuentes en la población. Pueden producir gametos desequilibrados, resultando en embriones con complementos cromosómicos anormales, que en muchas ocasiones conducen al bloqueo embrionario o fallos recurrentes en la implantación. También son causa de abortos espontáneos o abortos de repetición.
- Trombofilias: son alteraciones del sistema de coagulación que generan fenómenos trombóticos, debido a un exceso de producción de factores de coagulación o a cantidades demasiado bajas de proteínas anticoagulantes (4). Se han asociado con aborto recurrente, aunque no se conoce el mecanismo de base. Las trombofilias contribuyen a una serie de complicaciones como pérdida del feto al final del primer trimestre de la gestación, durante el segundo o tercer trimestre, desprendimiento de placenta y crecimiento insuficiente del feto. Las trombofilias también pueden causar una forma grave de preeclampsia, trastorno relacionado con el embarazo que puede presentar riesgos graves para la madre y el feto, y se caracteriza por presión arterial elevada y proteínas en la orina. Se cree que la mayoría de estos problemas dan como resultado coágulos en los vasos sanguíneos placentarios que causan cambios en la placenta y reducen el suministro de sangre al feto (4). Algunas de las trombofilias son: factor V Leiden, polimorfismo G20210A del gen de la protrombina, deficiencia de antitrombina III, deficiencia de proteína C, deficiencia de proteína S y mutación del gen de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR).
- Fallo ovárico precoz (FOP): la insuficiencia ovárica prematura se define como la aparición de la menopausia en las mujeres menores de 40 años y afecta, aproximadamente, a una de cada 1.000 mujeres (4). El FOP probablemente se debe al agotamiento de los folículos, lo que podría deberse a una disminución del número de ovocitos que se forman durante el desarrollo o a una mayor tasa de atresia de los ovocitos durante la vida reproductiva (4). Las causas de FOP son extremadamente heterogéneas debiendo realizarse el cariotipo en

pacientes con amenorrea primaria y en casos de FOP a una edad muy temprana. Existen diferentes causas que pueden provocar FOP pero a nivel genético las más comunes son las alteraciones moleculares relacionadas con la hormona folículo estimulante (FSH) ya que se han identificado varios genes y mutaciones tanto en la FSH, como en el receptor de la FSH (FSHR) y en la inhibina A, y las alteraciones en el cromosoma X (2). Estas últimas son más comunes en mujeres jóvenes e incluyen fundamentalmente translocaciones y deleciones. Su mecanismo de acción es que impiden el apareamiento correcto con su homólogo durante la meiosis y por tanto producen eventualmente una atresia folicular (4).

En la actualidad, la infertilidad de las pacientes con FOP no puede restablecerse si el diagnóstico se realiza después del agotamiento folicular completo, pero en algunos casos, el diagnóstico precoz mediante estudio genético puede llevar a aconsejar la concepción temprana o la punción y conservación de ovocitos.

- Síndrome del ovario poliquístico (SOP): se trata de una enfermedad endocrina compleja y heterogénea que afecta al 5 – 10% de las mujeres. Se caracteriza por hiperandrogenismo, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, anovulación crónica y está influenciado por la obesidad. A nivel molecular ocurre una interrupción del crecimiento del folículo antral, disminución de células de la granulosa e hipertecosis (hiperplasia de la teca interna del ovario) (4). Existen varios genes que controlan la función y el metabolismo de los ovarios que están asociados a una mayor susceptibilidad al SOP, pero ninguno es lo suficientemente fuerte como para correlacionarse por sí solo con la susceptibilidad a la enfermedad, o la respuesta a la terapia. En un gran número de estudios se han investigado los polimorfismos en el gen que codifica el receptor de la FSH (FSHR) y tanto las mutaciones inactivadoras como las activadoras del FSHR pueden dar lugar a efectos clínicos relevantes (2). Las mutaciones inactivadoras pueden dar lugar a amenorrea primaria o secundaria, infertilidad y FOP, mientras que las mutaciones activadoras pueden predisponer al síndrome de hiperestimulación ovárica como consecuencia de la administración exógena de FSH o incluso con una aparición espontánea (2).

Además de la influencia del genotipo del FSHR en la capacidad de respuesta ovárica, se han analizado otros factores genéticos que participan en la modulación de la sensibilidad ovárica a la FSH. Entre los genes candidatos podemos mencionar ER1 y ER2, así como los genes de la hormona anti-mülleriana (AMH) y del receptor AMH tipo II y el gen MTHFR (metilentetrahidrofolato reductasa) (2).

En la siguiente tabla se resumen algunas de las anomalías cromosómicas femeninas más frecuentes y su efecto clínico.

Alteraciones cromosómicas numéricas	Alteraciones cromosómicas estructurales	Fallo ovárico precoz (FOP)	Síndrome de ovario poliquístico (SOP)	Trombofilias
Constitucionales <u>Turner</u> : 45,X (1/5.000 niñas)	Las más frecuentes	Menopausia antes de los 40 años (1/1.000 mujeres)	5 – 10 % mujeres	Abortos de repetición
<u>Triple X</u> : 47,XXX (1/1.000 niñas)	Gametos desequilibrados	Agotamiento folículos	Anovulación crónica	Preeclampsia
Gametos Mujeres de 35 años en adelante	Embriones cromosómicamente anormales	Alteraciones moleculares: FSH/FSHR	Causas moleculares: FSHR	Factor V Leiden
Aumento de aneuploidías	Bloqueo embrionario, fallos de implantación	Inhibina A	ER1/ER2	Polimorfismo G20210A del gen de la protrombina
Fallos implantación	Abortos espontáneos	Translocaciones y deleciones del Cromosoma X	AMH	Deficiencia de antitrombina III
Embriones Trisomías (cr 16) Monosomía (X) Poliploidías	Abortos de repetición		MTHFR	Proteína C
				Proteína S
				MTHFR

Tabla 2. Causas de esterilidad femenina de origen genético. Abreviaturas: cr, cromosoma; FSHR, receptor de la FSH; AMH, anti-mülleriana; MTHFR, metilentetrahidrofolato reductasa.

Tras analizar los componentes genéticos que afectan tanto a nivel masculino como a nivel femenino, podemos decir que a través del análisis del cariotipo de cada miembro de la pareja podremos diagnosticar el problema de infertilidad y a su vez determinar anomalías cromosómicas que en caso de embarazo pudieran causar en el futuro hijo malformaciones congénitas o enfermedades hereditarias.

En cualquier caso, siempre que se detecte una anomalía cromosómica en uno o los dos miembros de la pareja será fundamental realizar un diagnóstico genético preimplantacional del embrión para asegurarse de que su dotación cromosómica carece de esa anomalía y el niño será sano.

2.6. Diagnóstico genético preimplantacional (DGP):

El diagnóstico genético se realiza para conocer la dotación cromosómica o génica del embrión antes de ser transferido al útero materno y evitar así una interrupción o pérdida del embarazo (7). Este diagnóstico puede ser:

- Preconcepcional: se realiza el análisis cromosómico o genético del primer corpúsculo polar del ovocito. El principal inconveniente es que sólo obtenemos información materna, ya que no analizamos la aportación genética del espermatozoide (7).
- Preimplantacional: se realiza el análisis cromosómico o genético de una o varias células del embrión en día 3 de desarrollo (D3) o de células del trofoectodermo en estadio de blastocisto. La información genética se obtiene antes de que el embrión se transfiera al útero y por tanto antes de la implantación (7).
- Prenatal: se realiza el análisis cromosómico del feto una vez está creciendo en el útero, con lo cual no evita el embarazo de embriones con alteraciones genéticas, sino que las detecta a lo largo del mismo (7).

El DGP permite seleccionar los embriones sanos o cromosómicamente normales que van a ser transferidos al útero. Es una alternativa al diagnóstico prenatal (realizado después de la implantación) en parejas con riesgo elevado de transmitir anomalías cromosómicas o genéticas a la descendencia. Así, hablamos de un método preventivo

que evita a muchas parejas tener que tomar la decisión de llevar a cabo un aborto en caso de detectarse que el feto está afectado por alguna patología (7).

En un ciclo de DGP, en primer lugar, la pareja debe someterse a un tratamiento de FIV en el que se realiza una estimulación ovárica controlada y se recuperan los ovocitos. Estos son inseminados mediante la técnica de ICSI para evitar contaminación de material masculino procedente de los espermatozoides que rodean la zona pelúcida o de células de la granulosa. Los embriones obtenidos se cultivan en el laboratorio y se lleva a cabo la eclosión asistida y la biopsia embrionaria, que puede ser de blastómeras o de trofoectodermo.

- Biopsia de blastómeras: el momento adecuado para realizar la biopsia es cuando los embriones presentan entre 6 y 8 células, en día 3 de desarrollo, en cuyo caso se extraen 1 ó 2 blastómeras sin afectar negativamente a su desarrollo hasta blastocisto (8).
- Biopsia de blastocisto: se realiza en día 5 ó 6 de desarrollo y es la que se utiliza más frecuentemente en los laboratorios de FIV. La principal ventaja es que se consigue aumentar el material disponible para realizar el análisis, tanto cromosómico como génico, en lugar de tener una única blastómera o a lo sumo dos como ocurre en la biopsia en D3 (7). Se biopsian de 4 a 6 células de trofoectodermo, quedando intacta la masa celular interna, por esto se considera menos invasiva. Otra ventaja de biopsiar en este estadio es que sólo se biopsian los embriones que han conseguido desarrollarse hasta blastocisto correctamente. Así se evita realizar el análisis de muchos embriones que acaban bloqueándose, dando a los pacientes una idea más exacta de las expectativas reales del ciclo. También se ha visto una tasa de mejora en la viabilidad del embrión cuando se transfieren embriones biopsiados en este estadio.

Respecto al método para realizar la biopsia, en primer lugar, es necesario acceder al interior del embrión perforando la zona pelúcida. Para ello se utiliza un láser infrarrojo que libera pulsos de láser a través del objetivo del microscopio, produciendo una rotura térmica provocada por la absorción de la energía del láser por la zona pelúcida. El efecto es muy localizado y el tiempo de exposición es muy breve (9). Cuando la biopsia se realiza en el estadio de blastocisto, la eclosión asistida o HA (de las siglas en inglés *Assisted Hatching*) se suele realizar en día 3 de desarrollo, de esta forma evitamos que el blastocisto se colapse con los pulsos de láser el día de la biopsia, además de facilitar su eclosión (7).

El mejor momento para realizar la biopsia de blastocisto es cuando el embrión está eclosionando, pudiéndose llevar a cabo también cuando haya eclosionado completamente. Para ello se sujeta el blastocisto con la pipeta *holding* teniendo localizada la masa celular interna, se aproxima la pipeta de aspiración al blastocisto y se aspiran suavemente de 4 a 6 células del trofoectodermo. A continuación, se dan varios pulsos de láser de forma tangencial a la porción de trofoectodermo a biopsiar. En este momento se puede soltar el blastocisto de la pipeta de *holding* y con un movimiento rápido a modo de cizalla entre la pipeta *holding* y la de aspiración se consigue cortar la porción a biopsiar por fricción del resto del blastocisto, técnica conocida como *flicking* (7). Otra opción consiste en sujetar el blastocisto con la pipeta *holding* y con el trozo aspirado en la pipeta de aspiración, estirarlo y darle con el láser varios pulsos en las uniones celulares para que se contraiga. Se sigue estirando hasta que se consigue desprender del embrión. Este método se conoce como *pulling* (7). Una vez finalizada la biopsia, se liberan las células de trofoectodermo biopsiadas de la pipeta de aspiración. El blastocisto se criopreserva a la espera de los resultados genéticos y el fragmento biopsiado se procesa mediante la técnica de *tubing* que consiste en el lavado y lisado de las células obtenidas para proceder al análisis genético de su ADN a través de secuenciación masiva (NGS) o Karyomapping y así obtener un diagnóstico sobre el embrión.

Una vez analizadas las células biopsiadas podemos diagnosticar embriones cromosómicamente normales o anormales, embriones mosaicos o, en ocasiones, el

análisis puede no ser informativo. Esto se puede producir cuando no hay suficiente cantidad de material genético para analizar, por fallos de la técnica etc. En el caso de alteraciones estructurales, en el diagnóstico se valorará también si el embrión es sano o sano – portador en cuyo caso el embrión también puede ser transferido al útero materno.

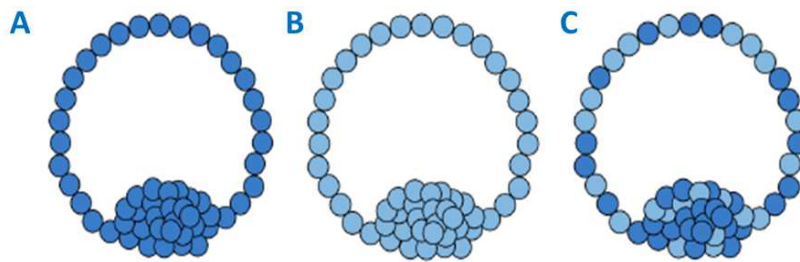


Figura 7. A) Embrión euploide (<20% aneuploidía), B) embrión aneuploide (>50% aneuploidía) y C) embrión mosaico (20 – 50% aneuploidía). Fuente: Máster Biología y Tecnología aplicada a la Reproducción Humana Asistida.

En la figura 7 podemos observar los tres tipos de diagnóstico concluyente una vez analizados los embriones. Los embriones con menos de un 20% de aneuploidía se consideran embriones normales; aquellos entre un 20% y un 50% se consideran embriones mosaicos y su viabilidad dependerá del/los cromosoma/s implicado/s; con más de un 50% suelen considerarse como embriones anormales (7).

Respecto a los embriones mosaico son aquellos que presentan células con diferente dotación cromosómica (unas aneuploides y otras euploides). Además, hay que tomar en consideración que existen diferentes grados de mosaicismo (figura 8).

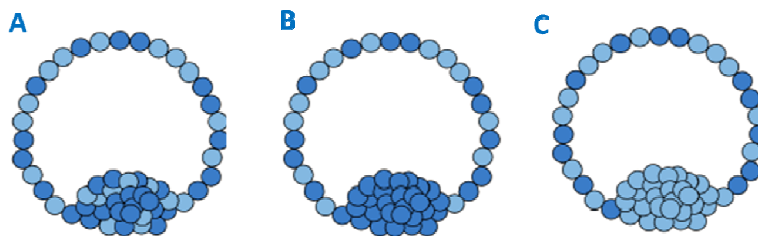


Figura 8. A) Mosaico en trofoectodermo y en masa celular interna. B) Mosaico en trofoectodermo y masa celular interna euploide. C) Mosaico en trofoectodermo y masa celular interna aneuploide. Fuente: Máster Biología y Tecnología aplicada a la Reproducción Humana Asistida.

Antes de transferir un embrión mosaico es necesario que se analice bien cada caso por un genetista experto en la materia. Este se encargará de realizar el asesoramiento genético a la pareja para que pueda conocer los riesgos en función de los cromosomas afectados y decidir si realizar la transferencia o no.

Como idea final de esta introducción al tema de estudio, para que un programa de DGP funcione, los beneficios de la selección de embriones cromosómica o genéticamente normales deben ser mayores que el posible perjuicio que se le pueda producir al embrión por la manipulación y el estrés a los que puedan ser sometidos durante el proceso de biopsia embrionaria. En los últimos años se ha incrementado la aplicación de esta tecnología y el número de pacientes que se pueden beneficiar de ella. Sin embargo, es una técnica invasiva que puede afectar a la viabilidad del embrión, por lo que hay una creciente preocupación en desarrollar una metodología de trabajo que permita una elevada eficiencia y certeza en el diagnóstico con el mínimo impacto posible en la viabilidad y la tasa de implantación embrionaria.

3. OBJETIVOS:

El objetivo principal de este trabajo consiste en evaluar la incidencia de alteraciones genéticas detectables en el cariotipo de los progenitores en tratamientos de Reproducción Asistida, así como su impacto sobre la descendencia.

Los objetivos secundarios son los siguientes:

- Calcular la incidencia de alteraciones genéticas por sexo.
- Clasificar las anomalías genéticas de los progenitores y calcular su incidencia en ambos sexos. En el caso de las mujeres también por indicación.
- Conocer cuál es la indicación más frecuente por la que se solicita un estudio de DGP.
- Calcular el porcentaje de las alteraciones observadas (*de novo* o heredadas) en cada cromosoma.

- Calcular el porcentaje de embriones normales/patológicos/mosaicos procedentes de pacientes que presentan alteraciones genéticas y comparar la información obtenida con la procedente de la bibliografía.

4. MATERIAL Y MÉTODO:

Se realiza un estudio observacional transversal en el que incluimos 435 parejas que han asistido a demanda a la Clínica IVI Madrid (Aravaca) para someterse a un tratamiento de Reproducción Asistida por la imposibilidad de conseguir un embarazo o recién nacido vivo. El período de reclutamiento fue el año 2019 y se incluyeron las parejas independientemente de su edad. En este estudio las pacientes se han sometido a tratamientos de ICSI y DGP. Se han recogido variables demográficas (edad, sexo), cariotipo, indicaciones principales por las que se han sometido al tratamiento, número de ovocitos recuperados, número de ovocitos maduros (MII), número de ovocitos fecundados, número de embriones biopsiados y resultado del análisis genético de los embriones a través del estudio de todos los cromosomas por NGS (algunos también a través de PCR). Estos datos se han recopilado a través de la plataforma SIVIS. El estudio citogenético se realizó en sangre periférica analizando 15 metafases con resolución de 400 bandas. Definimos cariotipos normales como 46, XX (mujer)/46, XY (hombre) considerándose anormal cualquier alteración estructural o numérica. Esta condición también se aplica a los embriones biopsiados, aquellos que presenten una alteración genética serán anormales. Por otro lado podemos obtener embriones mosaicos y no informativos. Una vez recogidas las variables en la base de datos, estas se categorizaron en cualitativas y se presentaron mediante porcentajes (IC 95%) y diagrama de sectores. El análisis estadístico se realizó con el *software SPSS Statistics 23.0*.

5. RESULTADOS:

5.1. Resultados obtenidos a través del cariotipo:

Se estudiaron los cariotipos de las 435 parejas (435 mujeres y 435 varones) obteniendo un porcentaje bajo de anomalía genética en ambos sexos. Se observa un mayor porcentaje de cariotipos anómalos en varones que en mujeres.

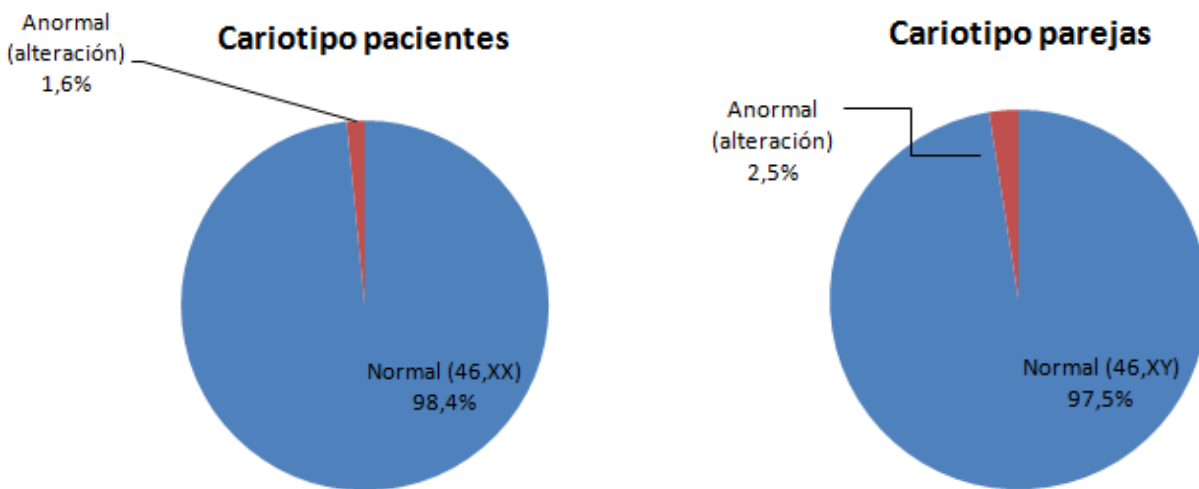


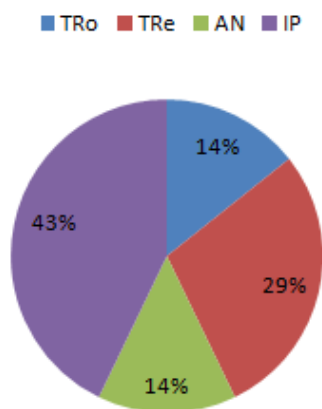
Figura 9. Incidencia de alteraciones genéticas por sexo.

Encontramos 7 pacientes y 11 varones que presentan anomalías genéticas. En ambos sexos se han diagnosticado, a través del estudio del cariotipo, las siguientes anomalías: translocaciones recíprocas, translocaciones robertsonianas, inversiones pericéntricas y anomalías numéricas. La alteración genética más frecuente en las pacientes es la inversión pericéntrica (43%) seguida de la translocación recíproca (29%). En los varones la alteración más frecuente es la translocación recíproca (55%) seguida de la translocación robertsoniana (18%).

Translocación Recíproca	Translocación Robertsoniana	Inversión Pericéntrica	Anomalía Numérica
46,XX,t(12;18)(p13.1;q23)	45,XY,der(13;14)(q10;q10)	46,XX,inv(9)(p12;q13)	45,X[3]/46,X[47] Síndrome de Turner
46,XX,t(7;9)(p21;p24.1)	45,XX,der(13;21)(q10;q10)	46,XX,inv(12)(p11.2;q13.3)	47,XXY/46,XY Síndrome de Klinefelter
46,XY,t(2;4)(q33;p15)	45, XY der (15,21)	46,XX,inv(9)(p12;q21.11)	
46,XY,t(14;18)(q24;q21.2)		46,XY,inv(2)(p11.2;q13)	
46XY,t(5,11) (q33;p15.5)		46,XY,inv(9)(p11;q21)	
46,XY,t(5;20)(q21;q13.3)			
46 XY, t (3:15)(q21;p11.2)			
46,XY,t(9;12)(p24;q22)			

Tabla 7. Alteraciones genéticas diagnosticadas a través del cariotipo en las mujeres y varones incluidos en el estudio.

Anomalías genéticas en pacientes



Anomalías genéticas en varones

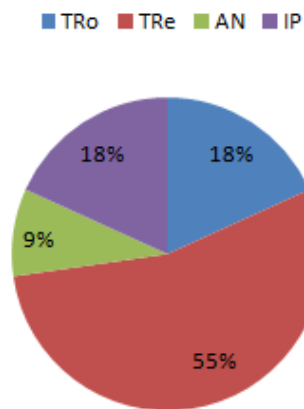


Figura 10. Clasificación de alteraciones genéticas por sexo. Se calcula la incidencia de cada anomalía. Abreviaturas: **TRo**: translocación robertsoniana; **TRe**: translocación recíproca; **AN**: anomalía numérica; **IP**: inversión pericéntrica.

5.2. Resultados obtenidos a través de DGP:

La indicación más frecuente para la realización del DGP es la edad avanzada de la paciente. En nuestro estudio, a 356 pacientes el DGP se les realiza por edad materna avanzada como primera indicación y, además, presentan una segunda indicación de peso para realizar el estudio:

- Aborto de repetición: 3,4%
- Fallo de implantación: 2,2%
- Factor masculino: 3,9%
- Anomalía genética de los progenitores: 1,4%
- Estudio de aneuploidías: 0,6%
- Cromosomopatía previa: 0,8%
- FISH anormal de espermatozoides: 0,8%
- PGT-M: 1,1%

El 51,7% de las pacientes que tenían una alteración genética presentaban edad avanzada como indicación para realizar DGP.

	Edad avanzada	Aborto de repetición	Fallo de implantación	Factor masculino	Anomalía genética	Aneuploidías
ALT SÍ	57,1%	0%	14,3%	0%	85,7%	14,3%
ALT NO	42,9%	100%	85,7%	100%	14,3%	85,7%

	Cromosomopatía previa	FISH Anormal	PGT-M
ALT SÍ	14,3%	0%	0%
ALT NO	85,7%	100%	100%

Tabla 8. Incidencia de alteración genética en el cariotipo en función de la indicación por la que se recomienda a las pacientes realizar el DGP.

A través del estudio genético de los 1399 embriones, por NGS, detectamos las anomalías cromosómicas (*de novo* o heredadas) embrionarias más frecuentes de autosomas y cromosomas sexuales:

- **Autosomas:** la trisomía y la monosomía son las alteraciones genéticas más frecuentes. Los cromosomas afectados por estas anomalías en mayor porcentaje son el 15,16,21 y 22, siendo este último el más afectado. Las deleciones y duplicaciones de los brazos q y p son alteraciones menos frecuentes.

	N%	Tri%	Mon%	-q%	+q%	-p%	+p%
C1	98,4	1	0,1	0,3	0	0,1	0,1
C2	96,3	1,6	1,1	0,3	0,2	0,2	0,2
C3	98,9	0,6	0,2	0,2	0	0	0,1
C4	97,2	0,9	1,4	0,2	0	0,2	0,1
C5	97,1	1	1	0,6	0,1	0	0,1
C6	98	1	0,5	0,2	0,1	0	0,2
C7	97	1,3	1,3	0,3	0,1	0,1	0
C8	96,9	0,7	1,9	0,2	0	0,2	0,1
C9	96,9	2	0,6	0	0,3	0,1	0,1
C10	96,5	1,5	1,4	0,3	0,2	0,1	0
C11	97,1	1,3	1,4	0,1	0,1	0	0,1
C12	97,6	1,0	1,1	0	0,1	0,2	0,1
C13	95,3	2,1	2,5	0,1	0,1	0	0
C14	96,3	1,5	1,9	0,1	0,1	0	0
C15	92,8	3,7	3,4	0,1	0	0	0
C16	91,2	4,4	4,1	0,2	0	0	0,1
C17	97,7	1,1	1,1	0	0	0,1	0
C18	94,4	2,2	2,7	0,2	0,4	0	0,1
C19	94,6	3,2	2,1	0	0,1	0	0
C20	97,3	1,4	1,2	0	0	0	0,1
C21	91,6	3,7	4,7	0	0	0	0
C22	87,2	5,5	7,2	0	0	0	0

Tabla 9. Anomalías genéticas observadas a través de NGS en los cromosomas autosómicos de los 1399 embriones. **N:** normal; **Tri:** trisomía; **Mon:** monosomía; **-q:** deleción del brazo largo; **+q:** duplicación del brazo largo; **-p:** deleción del brazo corto; **+p:** duplicación del brazo corto.

- **Cromosomas sexuales:** los cromosomas sexuales del 97,7% de los embriones son normales. La alteración más frecuente fue la monosomía del cromosoma X que da lugar al síndrome de Turner, seguida de la ganancia de un cromosoma X en varones (47, XXY) que da lugar al síndrome de Klinefelter.

	N%	XXY%	X0%	Y-q%	X+q%	X+p%	X-p%	X-q%
CXY	97,7	0,6	0,9	0,1	0,3	0,2	0,1	0,1

Tabla 10. Anomalías genéticas observadas a través de NGS en los cromosomas sexuales de los 1399 embriones. **N:** normal; **XXY:** cromosoma X adicional; **X0:** monosomía del cromosoma X; **Y-q:** delección del brazo largo del cromosoma Y; **X+q:** duplicación del brazo largo del cromosoma X; **X+p:** duplicación del brazo corto del cromosoma X; **X-p:** delección del brazo corto del cromosoma X; **X-q:** delección del brazo largo del cromosoma X.

A través del estudio de los cromosomas de cada embrión clasificamos a los embriones como normales, anormales, mosaicos o no informativos. Centrándonos en los embriones de parejas donde uno de los progenitores presenta una alteración genética calculamos el porcentaje de embriones normales, anormales, mosaicos y no informativos.

Miembro pareja con alteración	Embrión Normal %	Embrión Anormal %	Embrión Mosaico %	No informativo%	Total de embriones
46,XX,t(12;18)(p13.1;q23)		100			3
46,XX,t(7;9)(p21;p24.1)		100			1
46,XY,t(2;4)(q33;p15)	20	80			5
46,XY,t(14;18)(q24;q21.2)	37,5	62,5			8
46XY,t(5,11) (q33;p15.5)	27,3	72,7			11
46,XY,t(5;20)(q21;q13.3)	20	80			5
46 XY, t (3;15)(q21;p11.2)	100				1
46,XY,t(9;12)(p24;q22)	50	50			2
45,XY,der(13;14)(q10;q10)	40	40		20	5
45,XX,der(13;21)(q10;q10)	40	53,3		6,7	15
45, XY der (15,21)	50	50			2
46,XX,inv(9)(p12;q13)	50	50			4
46,XX,inv(12)(p11.2;q13.3)		100			3

46,XX,inv(9)(p12;q21.11)	50	50	2
46,XY,inv(2)(p11.2;q13)		100	2
46,XY,inv(9)(p11;q21)		100	1
45,X0[3]/46,XX[47]	50	50	2
47,XXY/46,XY	75	25	4

Tabla 11. Incidencia de embriones normales, anormales, mosaicos y no informativos de parejas que presentan alguna alteración genética en su cariotipo.

En función de la anomalía cromosómica que presentaron las pacientes de edad avanzada en el cariotipo y su edad calculamos, basándonos en la bibliografía, el porcentaje de embriones transferibles por ciclo de DGP esperado. Se compara con el porcentaje de embriones transferibles realmente obtenido.



Figura 11. Porcentaje de embriones anormales esperados según edad de la paciente. Fuente: IVI (resultados clínicos IVI 2020).

En la bibliografía (Simpson J.L, Bischoff F. Urol Clin N Am 29. 2002; Cytogenet Genome Res 111:281 – 290. 2005; Anton et al. Cytogenetic and Genome Research, 111 (3 – 4), 297 – 304) se han descrito los porcentajes esperables de embriones transferibles según el tipo de alteración genética de la mujer, que son los siguientes:

- **Translocaciones recíprocas:** 40% de embriones sanos o sanos portadores.
- **Translocaciones robertsonianas:** 50% de embriones sanos o sanos portadores.
- **Translocaciones pericéntricas:** 55% de embriones sanos o sanos portadores.

Edad	Anomalía genética	%Embriones normales según edad	Número de embriones biopsiados	%Embriones normales obtenido	%Embriones transferibles según alt. genética (% real)	%Embriones normales (Bibliografía)	%Teórico embriones transferibles según alt. genética (% teórico)
38	IP ¹	49	4	0,5	24,5	0,55	27,0
39	IP ²	44	3	0	0	0,55	24,2
41	IP ³	37	2	0,5	18,5	0,55	20,4
43	TRe	34	1	0	0	0,4	13,6

Tabla 12. Cálculo teórico de embriones transferibles (procedentes de mujeres con edad avanzada y alguna alteración genética) esperados y el número real obtenido. **IP:** inversión pericéntrica; **TRe:** translocación recíproca. ¹Inversión Pericéntrica: 46,XX,inv(9)(p12;q13); ²IP: 46,XX,inv(12)(p11.2;q13.3); ³ IP: 46,XX,inv(9)(p12;q21.11) ; ⁴Translocación recíproca: 46,XX,t(7;9)(p21;p24.1).

Se compara el porcentaje de embriones transferibles obtenido con el teórico de 4 pacientes que son las que presentan un cariotipo anormal y edad avanzada. Para realizar el cálculo nos basamos en los datos bibliográficos referenciados: el primer caso se trata de una mujer de 38 años con una inversión pericéntrica en su cariotipo. Para calcular el porcentaje de embriones transferibles teórico nos basamos en que a los 38 años el porcentaje de obtener embriones normales es del 49% y en mujeres con inversiones pericéntricas la probabilidad de obtener embriones transferibles es del 55% así que el porcentaje de embriones transferibles teórico es del 27% ($0.49 \times 0.55 = 27\%$). Por otro lado, para calcular el porcentaje real obtenido, nos basamos en la edad y en el cálculo del porcentaje de embriones biopsiados que fueron normales. En este caso ha sido de un 50% (de 4 embriones biopsiados 2 resultaron normales). De esta manera obtenemos un porcentaje de embriones transferibles real del 24,5% (0.49×0.5).

6. DISCUSIÓN:

La esterilidad es una enfermedad del sistema reproductivo que afecta entorno al 10 – 15% de parejas que buscan una gestación. Cuando se realiza el estudio de la pareja resulta necesario solicitar pruebas genéticas y moleculares a pacientes con ciertas indicaciones ya que algunas anomalías cromosómicas son causa de esterilidad. En

diversos estudios como el llevado a cabo por Costa M, et al. (10) se afirma que no se debe realizar el cariotipo a todas las parejas que acuden a consulta por problemas de esterilidad ya que, fuera de las indicaciones universalmente aceptadas, la incidencia de que alguno de los progenitores presente una alteración cromosómica es la misma que la de la población general. En este estudio se evalúa la incidencia de anomalías en el cariotipo en 7.196 parejas con problemas de infertilidad. Se obtienen 185 cariotipos patológicos: 120 corresponden a varones (1.66%) y 65 a mujeres (0.90%). En nuestro estudio también encontramos un número de cariotipos alterado bajo (18), obteniendo un porcentaje mayor de cariotipos alterados en hombres (2,5%) que en mujeres (1,6%). En el estudio realizado por Clementini E, et al. (11) se estudian los cariotipos de 2.078 parejas que se someten a técnicas de reproducción asistida obteniendo resultados anormales en el 2,02% de los varones y en el 1,92% de las mujeres. Artini PG, et al. (12) estudiaron el cariotipo de 1.762 parejas infértiles encontrando una incidencia de anomalía cromosómica en el 1,82% de los hombres y en el 1,53% de las mujeres.

En el estudio de Costa M, et al. las alteraciones cromosómicas más frecuentes fueron las translocaciones recíprocas tanto en hombres (24,16%) como en mujeres (36,92%). En nuestro estudio, las anomalías genéticas más frecuentes en varones también fueron las translocaciones recíprocas (55%), sin embargo, en mujeres fueron las inversiones pericéntricas (43%) seguidas de las translocaciones recíprocas (29%).

Por otro lado, se estudiaron los resultados del análisis genético de los 1399 embriones biopsiados de las 435 parejas. Los cromosomas que presentaron un mayor porcentaje de alteración fueron el 15, 16, 21 y 22 siendo la trisomía y la monosomía las alteraciones más frecuentes. Según Martínez MC, et al. en pacientes con abortos de repetición las alteraciones observadas con mayor frecuencia son las trisomías (52%), siendo la del cromosoma 16 la más habitual (30%). Las monosomías autosómicas se detectan raras veces, por lo que se asume que son embriones inviables que se pierden incluso antes de la implantación (4).

Se calculó la incidencia de embriones normales, anormales, mosaicos y no informativos de parejas que presentaron alguna alteración genética en su cariotipo (tabla 11). En función de la edad, la alteración genética que presenten los progenitores, el cromosoma afectado y la región implicada existirá una probabilidad

estimada de obtener embriones normales. En función de la anomalía cromosómica que presentaron las pacientes en el cariotipo y su edad calculamos, basándonos en la bibliografía, el porcentaje de embriones transferibles por ciclo de DGP esperados y se compara con el obtenido realmente (tabla 12). Nuestro estudio se realizó con 435 pacientes de las cuales 7 tienen una alteración genética. De estas 7 pacientes 4 (57,1%) presentan edad avanzada. Con los resultados del estudio genético de los embriones de estas pacientes, calculamos el porcentaje de embriones transferibles en función de su edad y la alteración genética que presentaron. Este porcentaje se compara con el teórico esperado calculado a partir de la bibliografía descrita. De las 4 pacientes, 3 presentaron inversiones pericéntricas y la restante una translocación recíproca. Comparando los porcentajes de embriones transferibles obtenidos, de mujeres que presentan inversiones pericéntricas, con los teóricos se observa que en 2 pacientes se obtienen unos porcentajes menores que los esperados teóricamente (24,5% frente a 27,0% ; 18,5% frente a 20,4%). La paciente restante no obtiene ningún embrión transferible de los tres que fueron biopsiados, sin embargo, el porcentaje teórico es de 24,2%. En el caso de la paciente que presenta una translocación recíproca, se espera un porcentaje de embriones transferibles del 13,6% y sin embargo su único embrión es anormal. Al contar con un número de pacientes de edad avanzada y alteraciones genéticas bajo, podemos concluir que es necesario aumentar el número de pacientes para poder comparar ambos resultados y ver si, efectivamente, se mantienen esas ratios teóricas.

7. CONCLUSIONES:

Cuando se realiza el estudio completo a una pareja con problemas de infertilidad, en el caso del varón, dependiendo de los hallazgos clínicos y los resultados del seminograma, puede necesitar evaluación genética. En pacientes con azoospermia u oligozoospermia severa se debe realizar un análisis del cariotipo y el estudio de microdeleciones del cromosoma Y para descartar anomalías cromosómicas estructurales, el síndrome de Klinefelter o alteraciones de la región AZF. A los pacientes infértiles con azoospermia obstructiva se les realizará el estudio a nivel molecular del gen CFTR.

Respecto a la mujer, algunas de las principales causas de infertilidad de origen genético son las alteraciones cromosómicas numéricas (constitucionales, en los gametos y en los embriones), alteraciones cromosómicas estructurales, trombofilias, fallo ovárico precoz y el síndrome de ovario poliquístico.

Este trabajo está enfocado en las bases cromosómicas de la infertilidad femenina y masculina, centrándose en alteraciones numéricas (aneuploidías) y anomalías estructurales observadas a través del cariotipo. Se estudió el cariotipo de 435 parejas (435 mujeres y 435 varones) que se sometieron a DGP por diferentes indicaciones siendo la más frecuente la edad avanzada de la mujer. Algunas de estas pacientes con edad avanzada presentaron una segunda indicación siendo las más frecuentes el factor masculino y abortos de repetición. Se estudian los cariotipos de los progenitores obteniendo un porcentaje bajo de anomalía genética en ambos sexos observándose un mayor porcentaje de cariotipos anómalos en varones que en mujeres. Como alteraciones cromosómicas más frecuentes en mujeres encontramos las inversiones pericéntricas y en varones las translocaciones recíprocas.

Se analizaron los resultados del estudio genético de los 1399 embriones biopsiados de las 435 parejas y se observó que los cromosomas con un mayor porcentaje de anomalía genética fueron los autosómicos, en concreto el 15, 16, 21 y 22 siendo la trisomía y la monosomía las alteraciones más frecuentes. Respecto a los cromosomas sexuales, la alteración más frecuente fue la monosomía del cromosoma X (45, X0), seguida de la ganancia de un cromosoma X en varones (47, XXY).

Se comparó el porcentaje de embriones transferibles que obtuvieron mujeres de edad avanzada con alguna alteración genética con el porcentaje teórico esperado. Al contar sólo con 4 pacientes con estas características es necesario realizar más estudios para poder comparar el porcentaje de embriones transferibles obtenido con el teórico y observar si existe una correlación. Es muy interesante tener en cuenta este porcentaje de embriones transferibles para conocer el porcentaje de embriones normales que pueden conseguir parejas que presentan alteraciones genéticas de este tipo.

8. BIBLIOGRAFÍA:

1. Ballesteros A, Izquierdo A, Casas A, Castellón G. Estudio de la pareja infértil. En Remohí J, et al, editores. Manual práctico de esterilidad y reproducción humana. Aspectos clínicos. 5a ed. Madrid: Editorial Panamericana; 2018. p. 63 – 75.
2. Kara E, Simoni M. Genetic screening for infertility: When should it be done?. Middle East Fertility Society Journal. 2010; 15, 139 – 145.
3. Simón García V. Conceptos básicos de citogenética clínica convencional. Análisis cromosómico constitucional. Programa de formación continuada a distancia. AEFA (Asociación Española del Laboratorio Clínico). 2013.
4. Martínez MC, Campos I, Nicolás M, Fernández L, Landeras J. Genética y tratamientos de reproducción asistida. En Remohí J, et al, editores. Manual práctico de esterilidad y reproducción humana. Aspectos clínicos. 5a ed. Madrid: Editorial Panamericana; 2018. p. 737 – 755.
5. L Harton G, G Tempest H. Chromosomal disorders and male infertility. Asian Journal of Andrology. 2012; 14, 32 – 39.
6. Chantot-Bastaraud S, Ravel S, Siffroi JP. Underlying karyotype abnormalities in IVF/ICSI patients. RBMOnline. 2008; 16 (4): 514 – 522. Disponible en: www.rbmonline.com/Article/3221.
7. Tejera A. Técnicas de biopsia embrionaria. En Díaz Gimeno P, et al, editores. Curso de Laboratorio de Diagnóstico Preimplantacional. Genómica Reproductiva. IVI Global Education; 2021.
8. Hardy K, Martin KL, Leese HJ, et al. Preimplantation development in vitro is not adversely affected by biopsy at the 8 – cell stage. Hum Reprod. 1990; 5: 708 – 714.
9. Boada M, Carrera M, De la Iglesia C, Sandalinas M, Barri PN, Veiga A. Successful use of a laser for human embryo biopsy in preimplantation genetic diagnosis: report of two cases. J Assist Reprod Genet. 1998 May; 15 (5): 302 – 7.

10. Costa M, Cavani S, Pisaturo V, Di Luca M, Geroldi A, Sozzi F, Anserini P. Routine karyotyping in infertile couples: is it really mandatory? Proposal from experience on 7196 infertile Italian couples. *It.J.Gynecol.Obstet.* 2017; 29: N.1.
11. Clementini E, Palka C, Iezzi I, Stuppia L, Guanciali – Franchi P, Tiboni GM. Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques: result of application of Italian Guidelines for the appropriate use of genetic test. *Fertil Steril.* 2005 Apr; 89: 800 – 808.
12. Artini PG, Papini F, Ruggiero M, Bartalini G, De Leo V, Scaravelli et al. Genetic screening in Italian infertile couples undergoing intrauterine insemination and in vitro fertilization techniques: a multicentric study. *Gynecol Endocrinol.* 2011 Jul; 27 (7): 453 – 7.

