



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES

HOSPITAL ESPAÑOL DE MEXICO

Frecuencia de cromosopatías en embriones sometidos a diagnóstico
pre implantación

TESIS

SE PRESENTA PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD MEDICA
EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA.

DR. JOSE CARLOS SALAZAR TRUJILLO

ASESORES

DR. SERGIO TÉLLEZ VELASCO

PROFESOR TITULAR DEL CURSO

DR. JUAN MANUEL MEDINA LOMELI

CIUDAD DE MEXICO 2018



HOSPITAL ESPAÑOL



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A MIS PADRES, ROSA MARIA Y CARLOS GERARDO POR SER MI EJEMPLO
A SEGUIR, POR RECIBIR SU APOYO Y CARIÑO INCONDICIONAL .

A MIS HERMANOS BRUNO, LUIS GERARDO Y GONZALO.

A MIS ABUELOS ROSA MARIA, MANUEL, CARLOS Y MARIA EUGENIA
POR SIEMPRE ESTAR CONMIGO.

A MIS AMIGOS ESPECIALMENTE A FELIPE POR SU APOYO
INCONDICIONAL.

A MIS MAESTROS.

INDICE

Agradecimientos.....	2
Resumen	4
Marco Téorico.....	9
Justificación.....	20
Pregunta de investigación	21
Objetivos.....	22
Materiales y Métodos.....	23
Resultados.....	25
Discusión y Conclusiones.....	45
Bibliografía.....	46

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

La Reproducción asistida, a partir de su primer caso en 1978, con el nacimiento de Louise Brown ha tenido una evolución colosal. Desde los esquemas de estimulación, los tipos de medicamento (recombinantes), métodos diagnósticos. Una de las áreas que ha visto más avances, es el diagnóstico genético preimplantacional (DGP); se utiliza principalmente en aquellas parejas que presentan alguna condición genética que dificulta lograr concebir. Tomando en cuenta que existen una gran proporción de embarazos tempranos que se llegan a perder, se comenzó a utilizar el DGP para así poder transferir solamente embriones euploides, alcanzado con esto una mayor tasa de nacidos vivos. Es importante mencionar la diferencia entre el estudio de diagnóstico y tamizaje preimplantación la cual radica en que el primero busca de manera específica una mutación genética siendo alguno de los padres el portador, mientras que el tamizaje preimplantación realiza búsqueda de mutaciones de novo en cromosomas específicos.

El diagnóstico genético preimplantación se realiza una vez que se logra la fecundación de un óvulo con el esperma, ya sea con la técnica de *In vitro* tradicional (FIV) o con la inyección del esperma directamente al interior del óvulo (ICSI). Posteriormente se toma una muestra celular, esta se puede realizar en los días 2-3 de desarrollo en este caso se extrae una blastomera o durante la etapa de Blastocisto (día 5), acá se puede tomar una mayor muestra del trofoectodermo. Posterior a esto se envía para el análisis cromosómico; se puede observar un número específico de cromosomas o se puede realizar el estudio a todos los cromosomas. Tomando en cuenta el desarrollo morfológico y con el análisis genético, logras definir cual de los embriones es el que presenta mayor posibilidad de conseguir un embarazo sano.

OBJETIVOS

Se analizaron los casos de pacientes sometidas tratamiento de alta complejidad en la clínica de reproducción asistida del Hospital Español de la Ciudad de México (HISPAREP) y que cuentan con un diagnóstico genético preimplantacional. Se evaluó la frecuencia de cromosopatías previo a transferencia embrionaria; así como la tasa de implantación, tasa de abortos y los resultados perinatales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio descriptivo transversal, en el cual se estudian los embriones de parejas infértiles que se sometieron a tratamientos de reproducción asistida de alta complejidad y que cuentan con diagnóstico genético preimplantacional mediante la técnica de FISH (hibridación fluorescente in situ); en la clínica de reproducción asistida del Hospital Español de la Ciudad de México (HISPAREP) entre enero de 2015- junio de 2018.

Se realizó diagnóstico genético preimplantacional mediante la técnica de FISH (hibridación fluorescente in situ) en busca de aneuploidías. Posteriormente se transfirieron embriones euploides midiendo hCG- β , con la técnica habitual de preparación endometrial. Se utiliza valerato de estradiol, iniciando en el 2º día del ciclo, con mediciones seriadas del grosor endometrial, hasta alcanzar una medida mayor de 6.5 mm y un endometrio trilaminar. Se agrega hCG urinaria una dosis en el día 12 del ciclo y se inicia progesterona micronizada vía vaginal en el día 14º del ciclo a una dosis de 600 mg cada 24 horas. Se hace la transferencia con catéter soft pass (Cook medical), bajo guía ultrasonográfica. Se miden los niveles hormonales (estradiol, progesterona y hCG) a los 7 y 14 días posterior a la transferencia.

Al obtener una cuantificación de hCG positiva, se continúa medicación hasta que se corrobora vitalidad cardíaca por medio de ultrasonido transvaginal. Una vez obtenido los datos clínicos y de laboratorio, se realizó el análisis estadístico mediante el programa SPSS Statistics versión 25 y se calcularon las medidas de tendencia central.

RESULTADOS

Se obtuvo una muestra de 93 parejas con infertilidad que se sometieron a ciclos de reproducción asistida, de los cuales se analizaron un total de 382 embriones con diagnóstico genético preimplantacional, de los cuales se reportaron: 157 embriones cromosómicamente sanos (euploides) y 225 embriones alterados (aneuploides).

Se identificaron las aneuploidías más frecuentes; siendo la de mayor frecuencia las monosomías específicamente 45 X correspondiente a Síndrome de Turner y en segundo lugar las triploidías en específico XXY, siendo las de mayor prevalencia en esta población.

Al final 38 pacientes se sometieron a transferencia embrionaria con un total de 61 embriones transferidos siendo no más de 3 embriones por pacientes, se valoró la tasa de implantación y la tasa de recién nacido vivo.

Se confirmaron 25 embarazos reportando hasta el momento del estudio 7 abortos, del total de embarazos, 18 de estas pacientes habían presentado nacimientos con recién nacidos únicos vivos, y 4 pacientes continúan con embarazo.

Las edades de las pacientes sometidas a este procedimiento fluctuaban entre los 25 años (paciente más joven) hasta los 45 años de edad siendo esta la de edad más avanzada.

En cuanto a los recién nacidos vivos hasta el momento no presentaron ninguna complicación al nacimiento así como patología asociada esta técnica, no se reportaron malformaciones gruesas, alteraciones placentarias (estados hipertensivos del embarazo, vasa previa, placenta previa, restricción en el crecimiento uterino, etc.), de igual manera no se asocia ruptura prematura de membranas ni embarazos pretérmino.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El número de tratamientos de alta complejidad se han incrementado considerablemente. Debido a esta situación y con la finalidad de disminuir las complicaciones de dicho tratamiento, es necesario mejorar las técnicas que se ofrecen actualmente. Dos de las principales complicaciones de la reproducción asistida son: el embarazo de alto orden fetal y el síndrome de hiperestimulación ovárica. Mediante el mejoramiento de las técnicas de diagnóstico genético preimplantacional, es posible actualmente decidir la transferencia de embrión único sin sacrificar las tasas de embarazo.

Se identificaron las diferentes cromosopatías, de las cuales la más frecuente fue la monosomías 45 X (Síndrome de Truner), sabemos por diversos estudios, que el Síndrome de Turner es una de las principales causas de aborto temprano.

Los resultados de este estudio demuestran que el someter a los embriones a un diagnóstico genético preimplantacional ha permitido aumentar las tasas de embarazo, pero sobre todo de nacidos vivos, ya que al transferir embriones euploides, las probabilidades de un tratamiento exitoso son mucho mayores.

Al ser una técnica relativamente nueva y en constante evolución, aun no se identifican de manera concreta todas las implicaciones que tienen sobre los embriones.

Cabe mencionar que está pendiente llegar a un consenso sobre las indicaciones actuales, o si realmente deberá ser un requisito antes de la transferencia; está plenamente demostrada su utilidad en pacientes de más de 40 años. También es importante mencionar las causas sociales, como selección de sexo.

MARCO TEORICO

Se estima que alrededor de 7.5 millones de mujeres en Estados Unidos presentan dificultad para lograr embarazo. En México se estima que afecta a 1 de cada 6 a 10 parejas ²⁵.

Con el advenimiento de nuevas técnicas de reproducción asistida se han visto avances importantes específicamente en el área de diagnóstico genético prenatal, se estima que más de 5 millones de nacimientos se han logrado gracias a técnicas de reproducción asistida específicamente en Fecundación in vitro (FIV) así como en Inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) ²³.

Actualmente no se sabe que complicaciones pueden estar relacionadas a estas técnicas de reproducción asistida, sin embargo si se cuenta con algunas revisiones en las cuales se reporta asociación específicamente con ICSI y FIV⁹, con un mayor riesgo de eventos adversos obstétricos (Alteraciones en la placentación, Estados hipertensivos del embarazo así como restricción de crecimiento intrauterino) así como neonatales.

Se cuenta con información insuficiente que relacione las técnicas de reproducción asistida con malformaciones gruesas, embarazos pretérmino, bajo peso para edad gestacional^{21,22}, sin embargo probablemente la relación con estas complicaciones obstétricas se deban a las características de la población y no a estas técnicas, ya que en la mayoría de estas parejas hay una mayor incidencia de cromosopatías⁹.

El diagnóstico genético preimplantación (PGD) se introdujo en 1990 en Dinamarca por Handyside et.al; en específico se introdujo para buscar enfermedades ligadas al cromosoma X en dos parejas con alto riesgo de retardo mental así como adrenoleucodistrofia, el primer reporte se realizó de una blastómera reportando como resultado dos embarazos obtenidos posterior a la transferencia de estos embriones sanos.

Es importante señalar cuando referimos a PGD se realiza la búsqueda de una condición genética en específico, ya sea anomalías estructurales, enfermedades con mecanismo de herencia ya sea recesiva o dominante, así como enfermedades ligadas al X, siendo alguno de los dos padres portador.

En la siguiente tabla se enumeran las principales enfermedades donde se utiliza el DGP.

Diagnóstico Genético Preimplantación		
Enfermedades Autosómicas Recesivas	Enfermedades Autosómicas Dominantes	Ligadas X
<p>Atrofia Muscular Espinal Fibrosis Quística β-Talasemia Defecto de la Glicosilación (CDG1A) Sordera congénita neurosensorial no sindrómica Poliquistosis renal (ARPKD) Leucodistrofiametacromática Deficit 21-Hidroxilasa Enfermedad Gaucher Tirosinemia tipo 1 Linfocitosis familiar Acidemiapropiónica A Acidemiapropiónica B Mucopolisacaridosis IIIA (SanFilippo A) Displasia hidrótica ectodérmica, Síndrome de Clouston Déficit L-CHAD Osteopetrosis, Inmunodeficiencia combinada severa, alinfocítica</p>	<p>Distrofia Miotónica, Steinert Huntington Poliquistosis Renal, AD. Ligada a PKD1 Neurofibromatosis tipo 1 Charcot-Marie-Tooth 1A Ataxia Espinocerebelar, SCA1, SCA3 Esclerosis tuberosa tipo 1 Exostosis múltiple hereditaria Neoplasia Múltiple Endocrina 2A Cáncer colon hereditario, no polipósico (S. Lynch) Poliposisadenomatosa familiar Esclerosis tuberosa tipo 2 Síndrome Von HippelLindau Paraparesia espástica familiar Poliquistosis Renal, AD. Ligada a PKD2 Retinosis Pigmentaria</p>	<p>Síndrome de X frágil Hemofilia A Distrofia Muscular Duchenne/Becker S. Alport Incontinencia Pigmenti Déficit OrnitinTranscarbamilasa Enfermedad de Norrie Mucopolisacaridosis II Mucopolisacaridosis IIIA</p>

La búsqueda de estas aneuploidias se realiza en los cromosomas X,Y,13,16,18,21 y 22 siendo estos los estudiados de manera rutinaria, por medio de tamizaje genético, ya que las alteraciones de estos genes corresponden al 72% de los abortos espontáneos de causa genética².

La diferencia principal entre el Diagnóstico preimplantación (PGD) y el Tamizaje preimplantación (PGS) radica en la búsqueda de enfermedades específicas, en ambos casos son exámenes genéticos, sin embargo de diagnóstico preimplantación va encaminado a la identificación específica de alteraciones genéticas de las cuales alguno de los padres es portador, mientras que el Tamizaje genético tiene como rol el poder identificar alteraciones de novo ya sea deleciones, duplicación de material genético así como alteraciones estructurales, en padres cromosómicamente normales.

El PGS debe de ser ofrecido a pacientes con factores de riesgo principalmente con pérdida gestacional recurrente (PGR) ya que una de las principales causas es la genética llegando a aparecer hasta en el 5% de las pacientes con PGR ²⁴. Así mismos en pacientes con edad materna avanzada y aquellas portadoras de factor masculino severo.

Sin embargo aún esta en discusión si todas las parejas deben de ser sometidas a ciclos de reproducción asistida, debido a los dilemas éticos que representa, por ejemplo actualmente la sociedad europea de endocrinología reproductiva (ESHRE) no recomienda hacer estas pruebas de manera rutinaria en pacientes con diagnóstico de PGR, refieren que estas pruebas se deben de reservar para pacientes en los cuales uno de los padres sea portador de un cariotipo alterado ²⁴.

Para poder realizar este tipo de pruebas es necesario someter a la paciente a un ciclo de reproducción asistida de alta complejidad ya sea para *fertilización in vitro* convencional(FIV) o inyección espermática intracitoplasmática (ICSI) , la cual consiste en la estimulación ovárica con una posterior fecundación de estos ovocitos para así obtener los embriones a los cuales se les realizara la toma de biopsia para análisis del material genético ya de cuerpos polares, actualmente cayendo en deshuso o en células embrionarias en día 3 o 5, siendo esta ultima la que actualmente se prefiere.

Se prefiere realizar la transferencia embrionaria en día 3 a aquellas pacientes en las cuales se les realizara transferencia en fresco, ya que se ha visto que la viabilidad del embrión en medios de cultivo durante este periodo de tiempo es del 50%, sin embargo por lo mismo este grupo de pacientes no podran ser sometidas a los estudios de material genético.

Mientras que las pacientes sometidas a transferencia en día 5-6 la supervivencia embrionaria llega a ser 25%, observando embriones de buena calidad, posterior a la toma de biopsia de material genético este sera sometido a criopreservación o vitrificación en espera de resultados. Asi mismo esta tecnica ha tenido mejores resultados que la transferencia en fresco representados en la tasa de nacidos vivos, asi como disminución en las complicaciones obstetricas resultado de transferencia de 1 a 2 embriones.

La obtención del material genético se realiza por medio de distintas tecnicas ya sea en etapa de blastocisto en día 3-5 obteniendo trofoectodermo ó en etapa blastomérica donde se toma el cuerpo polar para valoración de material genético.

El material genético es obtenido por medio de una perforación a la cápsula del embrión (zona pelucida) ya sea de manera mecánica por medio de punción (pipeta), química (ácido de tiroides) o física (láser).

Biopsia de Cuerpo Polar

Consiste en el retiro del primer y segundo cuerpo polar previo a la división embrionaria, a diferencia de las otras técnicas, no se realiza retiro de células, es por eso que una de las principales desventajas que muestra esta técnica es el estudio del material genético de la madre, no permitiendo analizar el material genético paterno. Se debe de realizar este tipo de biopsia en situaciones en las cual se considera que el origen de la aneuploidia se produce durante la primera división meiótica.

La extracción de los cuerpos polares se pueden llevar a cabo en el día 0-1. Se debe de realizar por medio de perforación mecánica la apertura de la zona pelucida, ya que de manera química se han observado alteraciones en las fibras del huso meiótico.

Así mismo el material genético obtenido por este tipo de biopsia es limitado por lo que en la actualidad no se debe de realizar, reservado solo en países cuyas normas no permitan el estudio del embrión.

Toma de biopsia en día 3 en estado de cigoto hasta morula avanzada

Ya en periodo de división embrionaria se realiza la obtención de 1 a 2 blastómeras en un embrión compuesto de 6-8 células, la decisión de extraer una o dos células dependerá específicamente del número de células que compongan al embrión siendo la principal indicación.

La ventaja que ha demostrado este tipo de biopsia sobre la biopsia de cuerpo polar se basa en la evaluación de ambos materiales genéticos tanto materno como paterno, sin embargo la cantidad de material genético que se obtiene con esta técnica continua siendo limitado, la extracción de dos blastómeras para su análisis se ha relacionado con deficiencia en el potencial de desarrollo en etapa prenatal.

Una de las limitantes más importantes vas encaminado a la frecuencia de mosaicismos con este tipo de técnica se puede llegar a identificar hasta un 60% de mosaicos ¹¹ si se realiza el estudio de material en embriones en día 5 esta se ve disminuida, probablemente esto se deba a los mecanismos de restauración celular.

El riesgo de presentar mosaicismos se basa, en la obtención de una célula trofoblástica sana y mientras que puede llegar a presentarse en otras células alguna alteración genética específicamente en células de la masa interna ya que el contenido genético de las células trofoblásticas no es igual.

Así mismo se ha observado y demostrado que el realizar la biopsia en esta etapa se relaciona con un decremento en la capacidad de llegar a etapa de blastocisto así como una disminución en la tasa de implantación y de embarazo.

Toma de biopsia en día 5-6 o estadio de blastocisto

Esta técnica es relativamente nueva, se describió el primer nacimiento posterior a esta en 2005 por Kokkali. En esta etapa de blastocisto el embrión está compuesto de alrededor 300 células, se puede identificar la presencia de una cavidad o blastocele, así como el trofoectodermo y la masa celular interna.

En esta técnica se obtiene trofoectodermo para su análisis, este se obtiene como se había comentado anteriormente por medio de una apertura de la zona pelucida en este caso la técnica preferida es por laser para lesionar en menor manera el material genético obtenido por medio de pipeta por succión.

Se extraen entre 5-8 células para evitar una disrupción placentaria, actualmente se sabe que se puede llegar a obtener entre 2 a 3 docenas de células de trofoblasto sin comprometer la viabilidad de el blastocisto, por lo que permite obtener una mayor cantidad de material genético así como de mejor calidad es por eso que esta técnica es la de elección actualmente.

Así mismo esta técnica se ha visto relacionada con aumento en la tasa de implantación, y es la más utilizada en la actualidad por los centros de reproducción asistida ya que ofrece mayor exactitud en la detección de anomalías genéticas, sin embargo la presencia de mosaicos continúa estando presente aunque en una menor proporción.

Una deficiencia de esta técnica es el no poder realizar la transferencia del embrión debido al tiempo necesario que lleva cultivar al embrión por lo que no es posible la transferencia en el mismo ciclo, lo que da como resultado la vitrificación embrionaria que puede llegar a provocar lesiones o alteraciones embrionarias inherentes a este procedimiento.

Tipo Biopsia	Cantidad Material Genético	Células	Mecanismo obtención
Cuerpo polar	Mínimo	0	Punción
Dia 3	Mínimo	1-2	Físico químico y punción
Dia 5	Adecuado	5-8	Físico químico y punción

En la siguiente tabla se realiza la comparación de las distintas técnicas de biopsia embrionaria para realizar examen genético.

Análisis Celular

En cuanto a las técnicas de análisis de material genético encargadas del estudio de DNA por medio de su amplificación las más utilizadas son FISH, proteína C reactiva (PCR) y hibridación genética comparativa (CGH).

Las dos técnicas más utilizadas son FISH específicamente para la detección de aneuploidias así como para selección de sexo embrionario y PCR en el cual se utilizan amplificaciones en la secuencia de DNA observando así mutaciones específicas, descrita inicialmente para Fibrosis Quística.

El FISH es el método más frecuente de análisis en países de tercer mundo o en centros sin acceso a técnicas de nueva generación, para realizar esta técnica se utiliza sondas de DNA marcadas con fluorocromos específicos permitiendo identificar los cromosomas a analizar, ya sea para X ó Y. Por lo que este es utilizado para la selección de sexo y sondas específicas en caso de translocaciones. Una de las desventajas que presenta esta técnica es precisamente la identificación de algunos cromosomas o regiones específicas de un gen.

En los últimos años han aparecido nuevas técnicas como Análisis de microarreglos, incluyendo polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) o la Hibridación Genética Comparativa que actualmente esta debería de ser la técnica de preferencia, esta se puede obtener de manera comercial sin embargo esta empieza a ser reemplazada por técnicas de secuenciación de nueva generación para identificación de aneuploidias, translocaciones (balanceadas o no balanceadas) así como anomalías estructurales.

La Hibridación Genética Comparativa busca la identificación de alteraciones cromosómicas, el DNA obtenido de la célula a estudiar es marcado con fluorocromo y mezclado con DNA de una muestra control sana posteriormente estas son comparadas. La ventaja sobre métodos como FISH es que se puede analizar todos los cromosomas, sin embargo no permite detectar poliploidías ni translocaciones ¹⁰.

Específicamente no se ha visto alguna relación entre las técnicas de obtención de material genético para su análisis con alteraciones o complicaciones tanto maternas o en etapa perinatal, sin embargo hay pocos estudios que se han tomado a la tarea de buscar estas relaciones ⁹.

Sin embargo, hay cierta preocupación ya que se trata de un método invasivo para la obtención de muestra y su estudio genético siendo aún más invasivo que las técnicas de reproducción asistida .

La relación entre el desarrollo trofoblástico y el diagnóstico preimplantación posterior a técnicas de reproducción asistida no ha sido estudiado eficientemente, sin embargo se tienen estudios donde se ha visto relación entre técnicas de reproducción asistida y alteraciones en la placentación.

Es importante mencionar que el factor determinante para una adecuada evolución gestacional es una adecuada implantación placentaria y adecuado desarrollo placentario ya que esta última es probablemente la etiopatogenia de múltiples enfermedades.

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad es reconocido el uso de métodos de diagnóstico prenatal dentro de los cuales la toma de biopsia para tamizaje pre implantación en embriones es el más frecuente en ciclos de reproducción asistida.

Sin embargo el realizar esta técnica en pacientes sanos no es inocua ya que puede relacionarse con disrupciones placentarias así como modificaciones en la capacidad de crecimiento embrionario.

Algo que tenemos que tener en cuenta es que al realizar este tipo de prueba no exime el realizar pruebas de tamizaje en el periodo prenatal específicamente la amniocentesis.

Este trabajo busca identificar las cromosomopatías mas comunes en nuestro medio así como tasa de embarazo posterior a esta.

Buscara justificar el realizar este estudio a toda la población sometida a ciclos de reproducción asistida de alta complejidad o en pacientes con factores de riesgo, así mismo evaluará la presencia de complicaciones en etapa perinatal que puedan estar relacionadas a este procedimiento.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Se debe de realizar tamizaje pre implantación a todas las pacientes sometidas a ciclos de reproducción asistida de alta complejidad así mismo cuál es la frecuencia de cromosomopatías en embriones sometidos a estas pruebas?

OBJETIVO PRIMARIO

Se evaluará la frecuencia de cromosomopatías en pacientes sometidas a ciclos de reproducción asistida de alta complejidad posterior a la toma de biopsia para tamizaje pre-implantación en etapa embrionaria, previo a transferencia.

OBJETIVO SECUNDARIOS

- Se evaluará la presencia de alteraciones en la placentación
- Se evaluará la complicaciones del recién nacido en período perinatal.
- Se evaluará la tasa de embarazo así como su evolución.
- Se evaluará la presencia de malformaciones gruesas.
- Se evaluará la evolución materna durante el embarazo y en puerperio inmediato.

MATERIAL y MÉTODOS

Se trata de un análisis descriptivo transversal, en el cual la población a estudiar esta compuesta por pacientes infértiles sometidas a tratamientos de reproducción asistida de alta complejidad específicamente ICSI y FIV en la clínica de reproducción asistida del Hospital Español, HISPAREP entre Enero de 2015- Junio de 2018.

Se obtuvieron embriones por medio de ICSI y FIV minimizando así el riesgo de contaminación de la muestra, posteriormente estos embriones se sometieron a PGS en día 5 , realizando el hatching asistido en zona pelúcida con laser obteniendo así 5-8 células trofoblásticas.

Se analizaron las células en busca de aneuploidías así como el sexo cromosómico. Se analizó la muestra con técnica de Hibridación in situ Fluorescente (FISH) empleando sondas de ADN específicas para los cromosomas 13,15,16,17,18, 21, 22, X e Y únicamente en 2 pacientes se analizó la muestra con PCR.

El resto de información se obtuvo en la base de datos de Maternidad del Hospital Español así como de los expedientes de los respectivos médicos tratantes.

Se analizaron un total de 93 pacientes de las cuales se obtuvieron 382 embriones sometidos a PGS identificando 157 embriones euploides y 225 aneuploides, en los cuales se identificaron las alteraciones genéticas más comunes. Se transfirieron un total de 38 pacientes, se obtuvieron 115 embriones euploides, transfiriendo un total de 61 embriones, corroborando 22 embarazos bioquímicos con posterior identificación de 25 embriones con actividad cardíaca por ultrasonido, de los cuales 19 correspondieron a

embarazos únicos y 3 embarazos de alto orden fetal unicamente reportados gemelares.

Se definió la presencia de embarazo bioquímico en aquella paciente que presentara niveles de HCG elevados tomando como referencia niveles de > 15 UI/ml, corroborandose a la 7 semana la presencia de actividad cardíaca con lo cual se calculo la tasa de embarazo.

Se calculó la frecuencia de cromosopatias, tasa de implantación por embrión transferido la cual se definio como el numero de sacos gestacionales con presencia de actividad cardíaca dividido entre el total de embriones transferidos.

Se calculó la tasa de recién nacido vivo en la cual se incluyeron a las pacientes con presencia de embarazo para este momento, 4 pacientes aún embarazadas o que hayan presentado nacimientos de recién nacidos vivos dividiendose entre el total de embriones transferidos se reportaron 7 abortos no especificados.

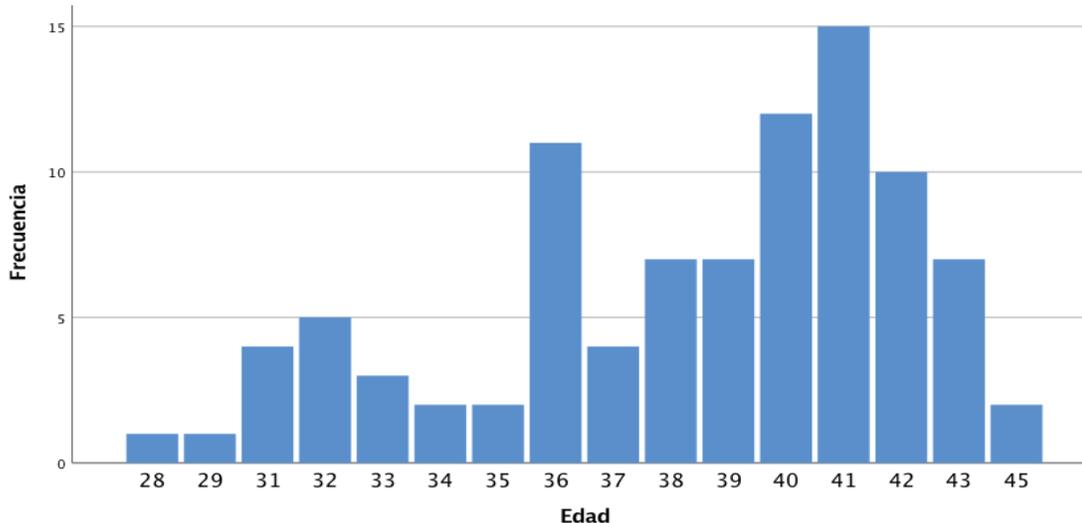
RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 93 pacientes sometidas a ciclos de reproducción asistida, de estas pacientes se lograron por estimulación ovárica un total de 382 embriones, los cuales se sometieron a prueba genética de tamizaje pre implantación, con un promedio de edad de 38.3 años, ver tabla 1.

Edad por paciente				
	N	Edad Mínima	Edad Máxima	Media
Pacientes	93	28	45	38.35

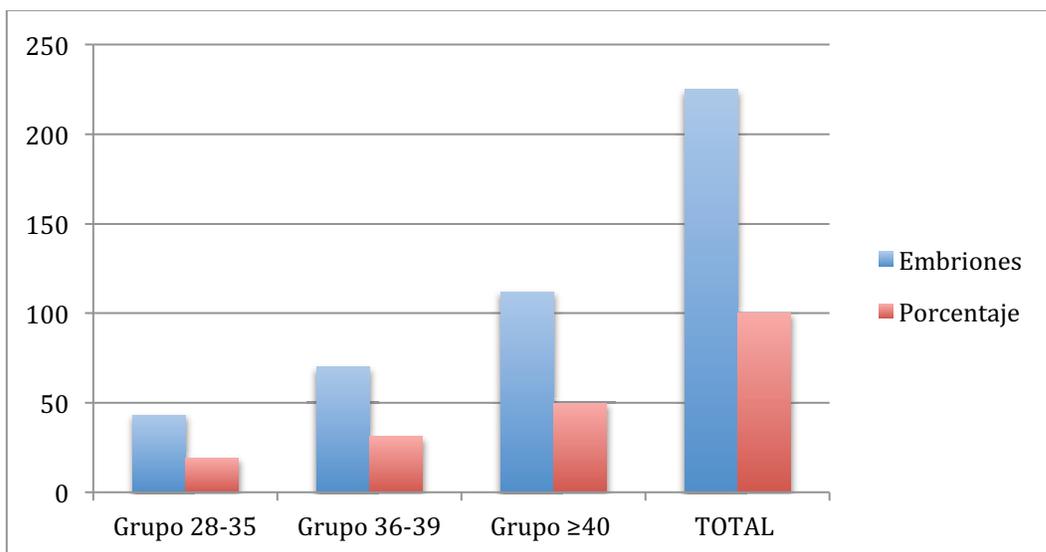
Tabla 1. Se observa la cantidad de pacientes así como la edad mínima y máxima por paciente.

Se observó una mayor frecuencia de pacientes con edad materna avanzada tomando como corte los 35 años de edad como se puede observar en la grafica 1.



Grafica 1 se puede observar como el mayor numero de pacientes se encuentra concentrado dentro del el grupo de pacientes mayores a 35 años.

De los 382 embriones los cuales corresponden al total, el 100% se sometió a tamizaje pre implantación, posteriormente se calculo el promedio de embriones obtenidos por ciclo de estimulación por paciente como se observa en la tabla 2.

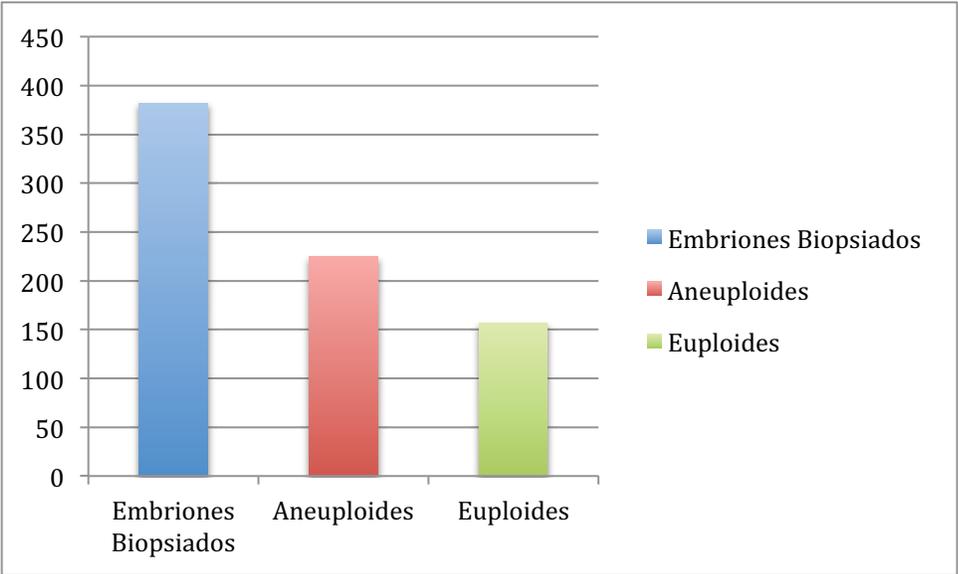


Grafica 2. Se observa que el mayor numero de embriones obtenidos se encuentra dentro del grupo de pacientes de edad materna avanzada.

Embriones biopsiados				
	N	Mínimo embriones por paciente	Máximo embriones por paciente	Media
Pacientes	93	1	13	4.11

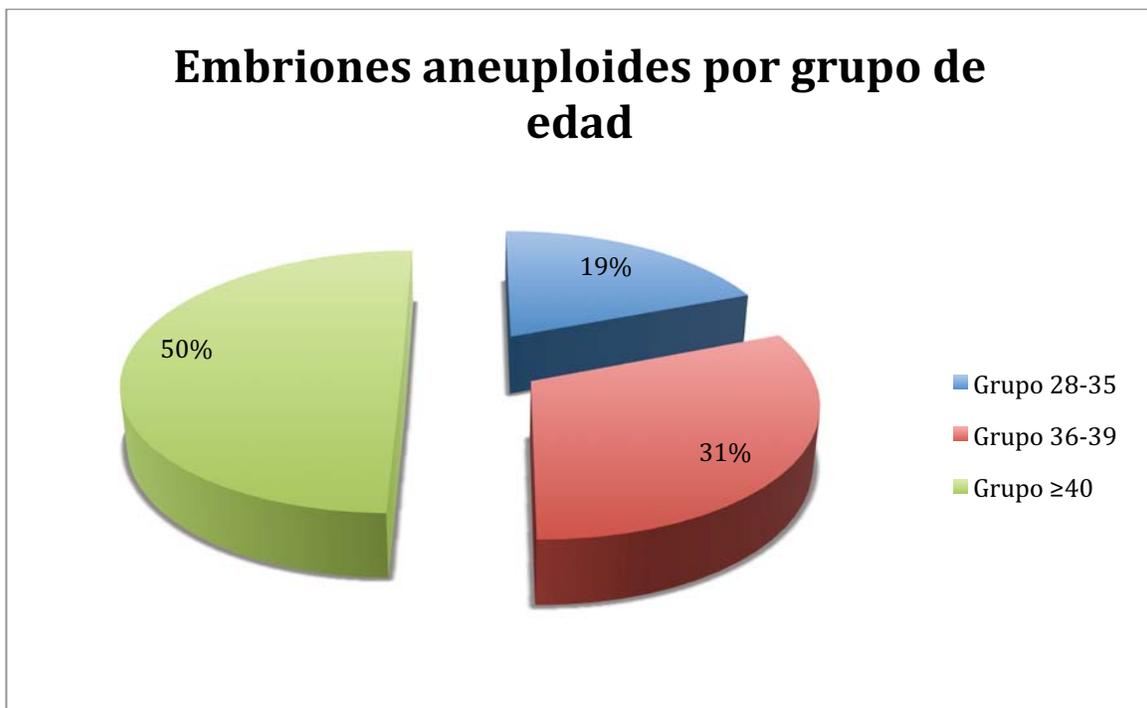
Tabla 2. En la siguiente tabla se puede observar el minio y el máximo de embriones obtenidos por pacientes así como la media de embriones obtenidos.

Se identificaron un total de 157 embriones euploides y 225 embriones aneuploides, como se demuestra en la gráfica numero 3. El análisis cromosómico de estos embriones se realizó por medio de FISH.



Grafica 3. Se puede observar que el mayor numero de embriones correspondió a aneuploides, probablemente secundario a que el mayor numero de embriones fue obtenido en pacientes de edad materna avanzada.

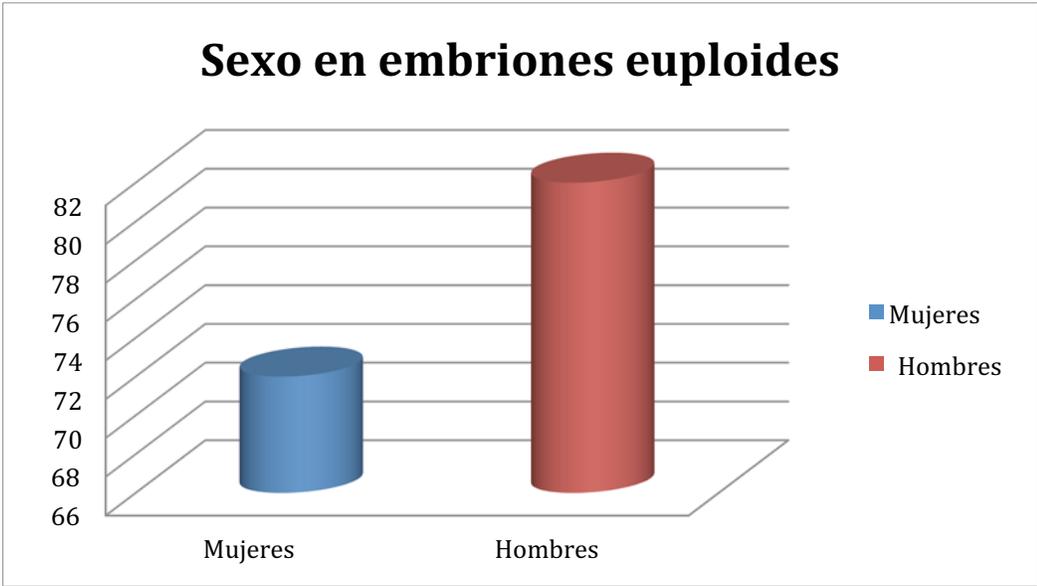
De igual manera se calculó el porcentaje de aneuploidias por embrión dividiendo las pacientes en 3 grupos, Grupo A pacientes con edad entre 28 a 34 años de edad , Grupo B pacientes con edad entre 35 a 39 años, Grupo C pacientes con edad mayor o igual a 40 años. Se puede observar como la mayor incidencia y porcentaje de alteraciones se encuentran en el grupo de pacientes mayores a 40 años de edad .



Grafica 4. Se puede observar que el mayor numero de embriones aneuploides se encontró en el grupo de pacientes de 40 años y mayores.

Se analizó de igual manera el sexo cromosómico en embriones euploides como se puede observar en la grafica numero 5, obteniendo 73 embriones femeninos y 84 embriones masculinos.

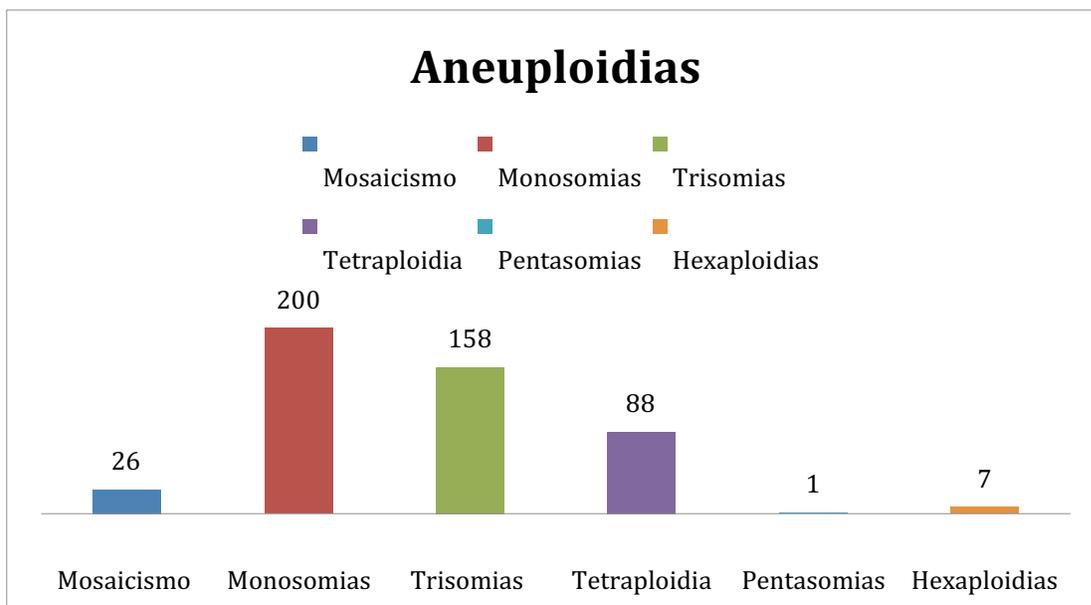
Grafica 5. Se puede observar las proporciones identificando un mayor numero de embriones correspondieron a embriones del sexo masculino



Se catalogaron dentro del grupo de embriones aneuploides aquellos en los cuales posterior al estudio de los cromosomas 13,15,16,17,18, 21, 22, X e Y, por medio de FISH, se identificó alguna alteración.

Se realizó búsqueda de aneuploidías, siendo la más común las Monosomías en específico el Síndrome de Turner (Monosomía X).

Grafica 6. Se puede observar la mayor frecuencia de alteraciones cromosómicas correspondio a las monosomias y en segundo lugar a las trisomias



Alteraciones genéticas por embrión

Cromosoma con Monosomía	Numero de Embriones
13	32
14	8
15	14
16	13
17	10
18	19
20	1
21	29
22	15
X	54
Y	5

Tabla 3. Se puede observar la presencia de monosomía por cromosomas y el numero de embriones afectados.

Cromosoma con Trisomía	Numero de Embriones
9	2
13	20
14	2
15	13
16	16
17	16
18	13
21	12
22	19
XXY	21
XXX	15
XYY	9

Tabla 6. Se puede observar la presencia de trisomía por cromosomas y el numero de embriones afectados.

Cromosomas con Hexaploidía	Numero de Embriones
13	1
15	1
16	1
17	1
18	1
21	1
22	1

Tabla 4. Se puede observar la presencia de hexaploidía por cromosomas y el numero de embriones afectados.

Cromosoma con Tetraploidía	Numero de Embriones
13	11
15	11
16	11
17	12
18	11
21	11
22	11
X	8
XXYY	2

Tabla 5. Se puede observar la presencia de tetraploidía por cromosomas y el numero de embriones afectados.

Cromosomas con Pentasomía	Numero de Embriones
x	1

Tabla 7. Se puede observar la presencia de pentasomía por cromosomas y el numero de embriones afectados.

Cromosomas con Mosaicismo	Cromosomas con Mosaicismo	Numero de Embriones
13	Normalidad	1
15	Normalidad	1
16	Normalidad	1
17	Normalidad	1
18	Normalidad	1
21	Normalidad	3
22	Normalidad	1
XXY	Normalidad	4
Y	Normalidad	1
X	YY	1
XXY	Tetraploidia	1
XXY	XXY	1
XXXX	Normalidad	1
XYY	Normalidad	2
XXYY	Normalidad	1
XXXX	6	1
XXXX	18	1
18	21	1
21	XX	1
X	XXX	1

Tabla 7. En la siguiente tabla se enumeran la cantidad de mosaicos y los cromosomas afectados.

Posterior a este análisis se seleccionaron finalmente 38 pacientes las cuales se sometieron a transferencia embrionaria, presentando de este grupo de 38 pacientes, 115 embriones euploides, de los cuales se transfirieron únicamente 61.



Diagrama 1. Se puede observar el total de pacientes y el numero de embriones transferidos.

La edad media de las pacientes sometidas a transferencia fue de 36.9 años, a las cuales se les transfirió un total de 61 embriones, transfiriendo no más de 3 embriones por paciente.

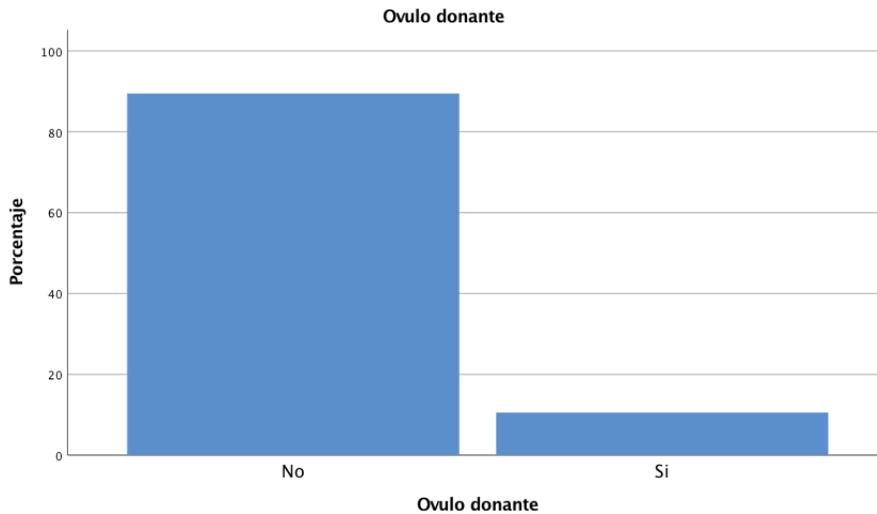
Edad de pacientes transferidas					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación
Edad	38	29	43	36	4.05
N válido (por lista)	38				

Tabla 8. Se puede observar el numero total de pacientes y el rango de edades de pacientes sometidas a transferencia embrionaria.

De las pacientes transferidas se utilizó donación ovocitaria en 4 pacientes , en las restantes 34 se utilizaron óvulos propios.

		Óvulos de donante		
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Donante	No	34	89.5	89.5
	Si	4	10.5	10.5
	Total	38	100.0	100.0

Tabla 9. Se puede el porcentaje de pacientes sometidas a transferencia embrionaria con ovodonación.

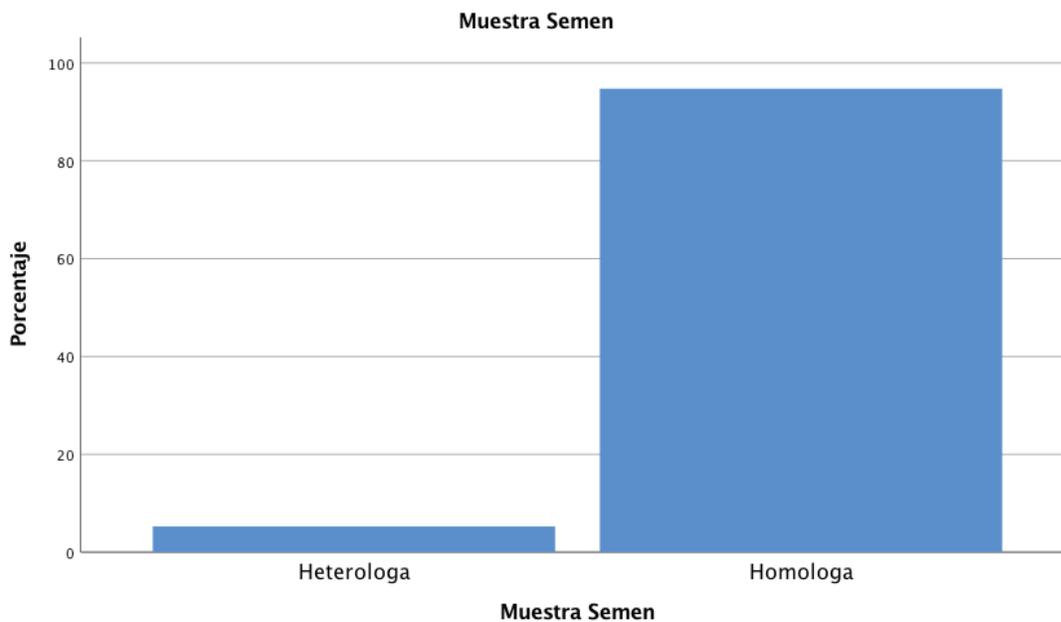


Grafica 7. Se puede observar la diferencia entre las pacientes que utilizaron ovodonación y las que fueron transferidas con óvulos propios.

Así mismo se utilizó muestra de semen homóloga en 36 pacientes mientras que en 2 se utilizaron muestras heterólogas.

		Muestra Semen			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	Heteróloga	2	5.3	5.3	5.3
	Homóloga	36	94.7	94.7	100.0
	Total	38	100.0	100.0	

Tabla 10. Se puede observar el porcentaje de muestras homologas vs heterologas utilizadas en los embriones transferidos.



Grafica 8. Se puede observar la diferencia entre las pacientes que utilizaron donación espermática y las que fueron transferidas con semen propio.

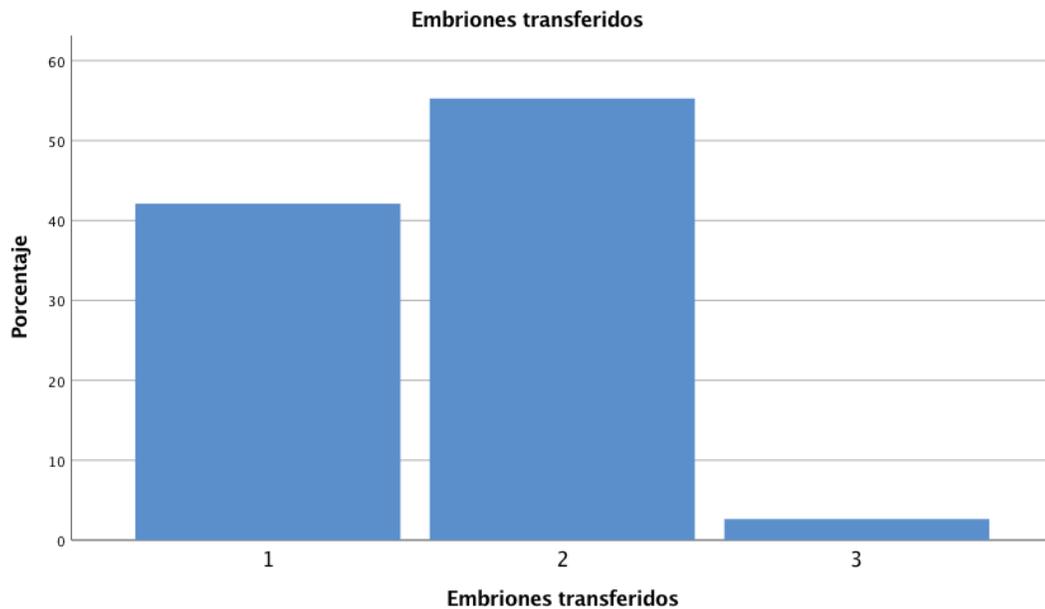
Se transfirieron un total de 61 embriones no siendo mayor de 3 la cantidad de embriones transferidos, secundario a las probabilidades de embarazo de alto orden fetal. A continuación se describe la cantidad de embriones transferidos por pacientes.

Embriones transferidos

N	Pacientes	38
	Perdidas	0
Embriones		61

		Embriones transferidos		
		Numero de pacientes	Porcentaje implantación	Porcentaje válido
Embriones	1	16	42.1	42.1
	2	21	55.3	55.3
	3	1	2.6	2.6
	Total	38	100.0	100.0

Tabla 11. Se observa el porcentaje de embriones transferidos y el porcentaje de implantación por grupo.

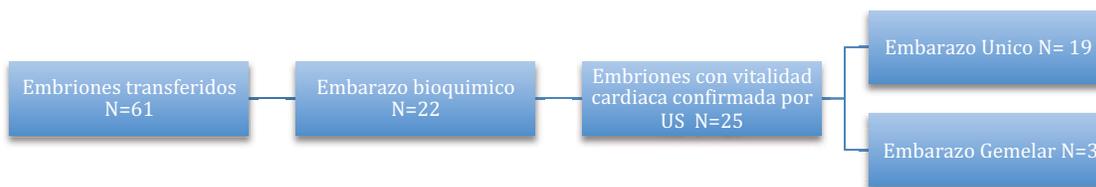


Grafica 9. Se observa la proporción de embriones transferidos por paciente, correspondiendo a > 50% al grupo de dos embriones transferidos.

Posteriormente se valoró la tasa de implantación por embrión transferido definida como el número de sacos gestacionales con presencia de actividad cardiaca por ultrasonido transvaginal dividido entre el total de embriones transferidos, la cual posteriormente se observara.

De igual manera se calculó la tasa de recién nacido vivo en la cual se incluyeron a las pacientes con presencia de embarazo o que hayan presentado nacimientos de productos vivos dividiendose entre el total de embriones transferidos.

Presentaron embarazo bioquímico 22 pacientes, tomando en cuenta un corte de hCG- β de 15 IU/ml, realizada entre los días 7 y 14 posterior a transferencia.



Estadísticos hCG-β

N	Pacientes	38
	Perdidos	0

		hCG-β		
		Paciente	Porcentaje	Porcentaje válido
Válido	Positiva	22	57.9	57.9
	Negativa	16	42.1	42.1
	Total	38	100.0	100.0

Tabla 12. Se observa el porcentaje total de pacientes sometidas a transferencia así como de pacientes con resultados positivo y negativo para hCG-β

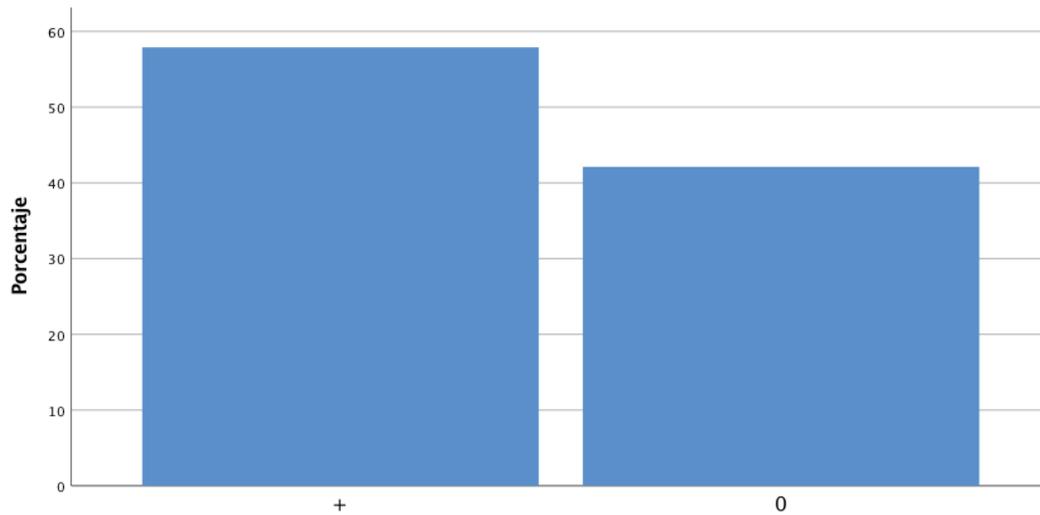


Grafico 10. En la siguiente grafica podemos observar el porcentaje de hCG-β positivo vs negativo observando una proporción mayor en los positivos.

Se confirmó presencia de embarazo en pacientes por medio de ultrasonido trans-vaginal en primer trimestre identificando latido cardiaco embrionario, en algunos casos se presentaron 3 embarazos gemelares. De las 38 pacientes transferidas, 2 de estas no acudieron posteriormente para realizar ultrasonido de seguimiento y verificar vitalidad cardiaca por lo cual únicamente se evaluaron 36 pacientes, confirmando embarazo en 25 de estas pacientes.

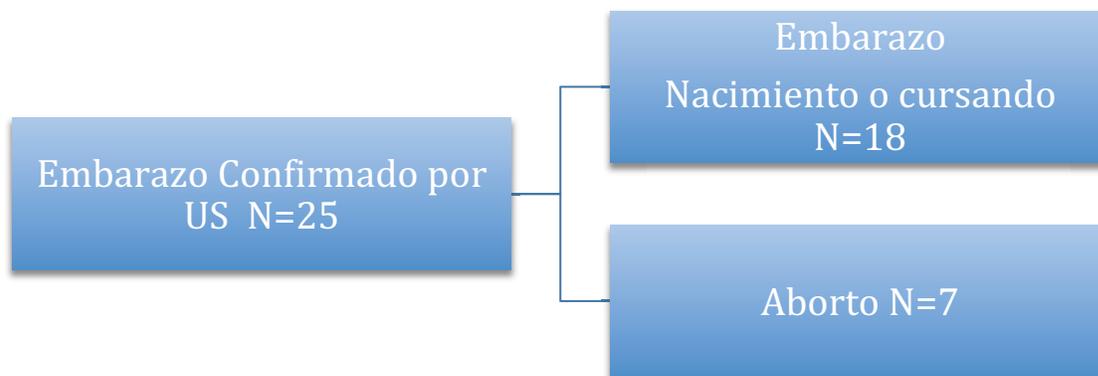


Diagrama. Se confirmaron presencia de 25 embarazos de los cuales 7 sufrieron aborto y 18 de ellos continuaron con seguimiento de embarazo.

De un total de 25 pacientes con presencia de embrión vivo se reportaron 7 abortos no se especifico el subtipo, ni semanas de gestación. Hasta el momento del estudio únicamente se habían presentado nacimientos con recién nacido únicos, así como 1 paciente con recién nacido con peso bajo para edad gestacional. Actualmente de las 18 pacientes 4 continúan con embarazo.

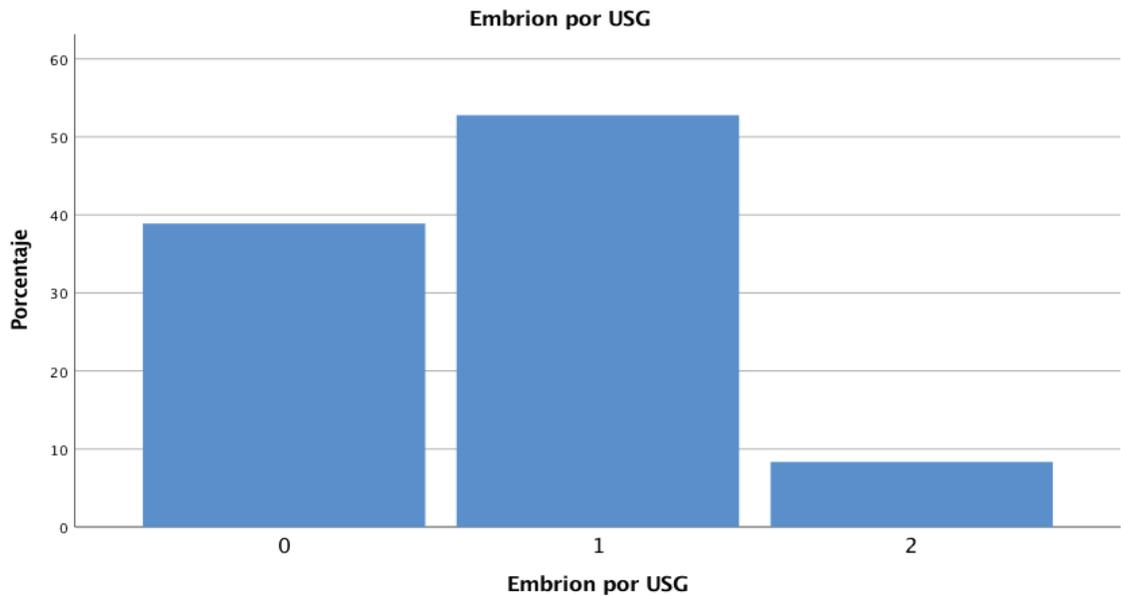
Pacientes estudiadas

N	Pacientes	36
	Perdido	2
Suma		38

Número de embarazos confirmados por ultrasonido

		Embarazos	Porcentaje
Numero de embriones	1	19	76.0 %
	2	3	12.0 %
	Total	25	100 %

Tabla 13 . Se observa el porcentaje de embarazo así como los embarazos confirmados por ultrasonido.



Grafica 11. Se observa porcentaje de embriones detectado por ultrasonido.

TASA DE IMPLANTACIÓN

N=38	Válidos	36
	Perdidos	2
Media embriones		4.58

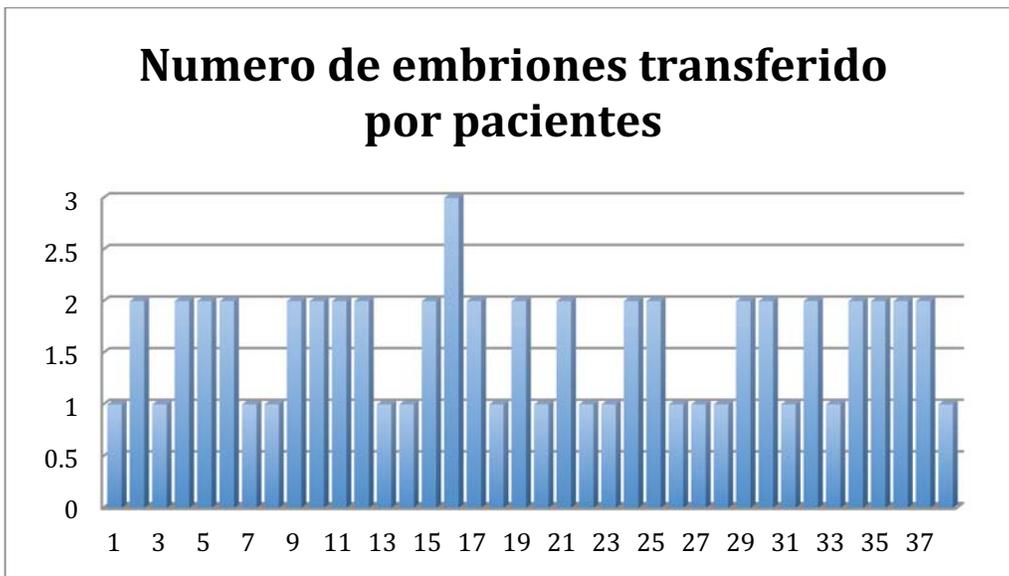
Tasa de implantación por numero de pacientes transferidos

PORCENTAJE DE IMPLANTACIÓN

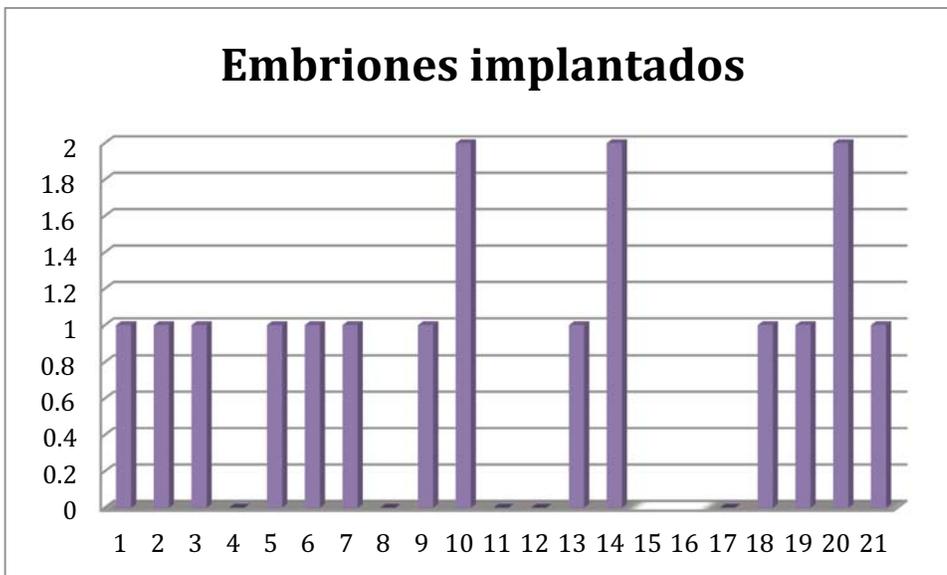
		Pacientes	Porcentaje	Porcentaje válido
Embriones	0	14	36.8	38.9
	1	11	28.9	30.6
	2	11	28.9	30.6
	Total	36	94.7	100.0
Perdidos	Total	2	5.3	
Pacientes totales		38	100.0	

Tabla 14. Porcentaje de implantación por numero de embriones transferidos por paciente.

Es importante recalcar que se transfirieron en 21 pacientes dos embriones, de las cuales dos de estas pacientes no continuaron con su seguimiento como antes se menciona, por lo que en las 19 pacientes restantes se diagnosticaron 17 embarazos, de las cuales 11 reportaron implantación de un solo embrión, 3 pacientes reportaron implantación de ambos embriones y 3 pacientes no se logro embarazo como se puede observar en la siguiente grafica.



Grafica 12. Se puede observar que el numero de embriones transferidos en las 38

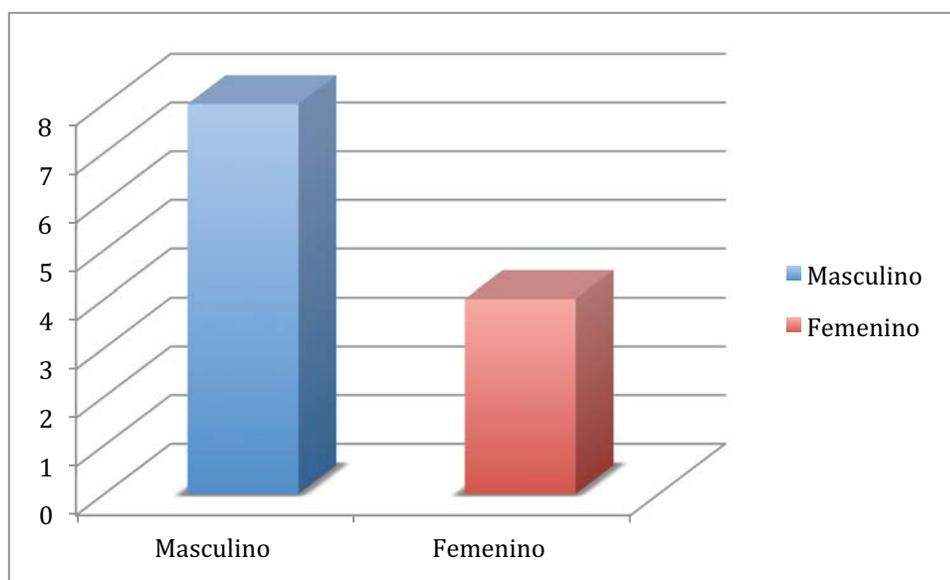


Grafica 13. Se observa la presencia de implantación embrionaria en las pacientes sometidas a transferencia de dos embriones.

En cuanto a los recién nacidos vivos hasta el momento no presentaron ninguna complicación al nacimiento, excepto 1 producto con bajo peso para edad gestacional, no se reportaron malformaciones gruesas, alteraciones placentarias (Estados Hipertensivos del Embrazo, Vasa Previa, Placenta Previa) ni Presencia de Ruptura Prematura de Membranas.

Producto	Promedio
Peso Promedio	2908 gr
Apgar 5 minutos	9
Apgar 10 minutos	9
Talla	47.53cm

Tabla 15. Porcentaje de peso , apgar y talla de recién nacidos vivos.



Gráfica 14. Porcentaje de recién nacido vivo masculino vs femenino

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Es importante hacer énfasis que al ser una prueba de tamizaje se enfocará a la parte pronóstica y no terapéutica.

Los resultados de este estudio demuestran que el someter a los embriones a este método no afecta la tasa de embarazo, sin embargo aumentar las probabilidades de un éxito cuando está relacionado a técnicas de reproducción asistida ya que se tiene un mejor control de calidad lo que conlleva en una mejoría en las tasas de embarazo y de recién nacidos vivos sanos.

Sin embargo en numero de embarazo obtenidos posterior a la transeferencia de dos embriones lleva a la discusión si se debe continuar con protocolos actuales de transferencia embrionaria o si se deben de adoptar en pacientes sometidas a ciclos de reproducción asistida con diagnóstico preimplantación a la transferencia de embrion unico.

Se trata de un estudio descriptivo, retrospectivo observacional y transversal con un Nivel de Evidencia II-3 de U.S. preventive service task force el cuál corresponde a una serie de casos.

Es un estudio que tiene como desventaja el no contar con grupo control y la aleatorización de las pacientes para este estudio.

Al ser una técnica relativamente nueva y que está en evolución constante para el análisis de material genético de una manera más eficiente, aún no se identifican de manera concreta todas las implicaciones que tienen sobre el embrión. Lo relevante de este estudio es que deja los cimientos para poder continuar con la investigación de las repercusiones realizando una cohorte prospectiva.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Bay, B., Ph, D., Ingerslev, J., Sc, D. M., Lemmen, G., Ph, D., ... Ph, D. (n.d.). Preimplantation genetic diagnosis : a national multicenter obstetric and neonatal follow-up study. *Fertility and Sterility*, 106(6), 1363–1369.e1.
2. Bustamante-aragonés, A., Fernández, E., Peci, A., Rueda, J., Ramos, C., Giménez, C., ... Rubio, C. (2016). Medicina Reproductiva y Embriología Clínica, 104–111.
3. Carlson, L. M. (2017). Prenatal Diagnosis Screening and Diagnostic Tools. *Obstetrics and Gynecology Clinics of NA*, 44(2), 245–256.
4. Evans, M. I., Andriole, S., & Evans, S. M. (2015). Genetics and Diagnosis, 42, 193–208.
5. Hasson, J., Limoni, D., Malcov, M., Frumkin, T., Amir, H., Shavit, T., ... Almog, B. (2017). Obstetric and neonatal outcomes of pregnancies conceived after preimplantation genetic diagnosis : cohort study and meta-analysis. *Reproductive BioMedicine Online*, 35(2), 208–218.
6. Jing, S., Sc, M., Luo, K., Ph, D., He, H., Sc, M., ... Ph, D. (2016). Obstetric and neonatal outcomes in blastocyst-stage biopsy with frozen embryo transfer and cleavage-stage biopsy with fresh embryo transfer after preimplantation genetic diagnosis / screening. *Fertility and Sterility*, 106(1), 105–112.e4.
7. Lindheimer, M. D., Taler, S. J., & Cunningham, F. G. (2008). Hypertension in pregnancy. *Journal of the American Society of Hypertension*, 2(6), 484–494.
<https://doi.org/10.1016/j.jash.2008.10.001>
8. Liebaers, I., Desmyttere, S., & Bonduelle, M. (2012). 12th International Conference on Preimplantation Genetic Diagnosis Advanced Topics in Clinical PGD. *Reproductive BioMedicine Online*, 26, S8.

9. Ludwig, M. (2005). Is there an increased risk of malformations after assisted reproductive technologies? *Reproductive BioMedicine Online*, 10(September 2003), 83–89.
10. Sellers, F., Llácer, J., & Pérez, B. (2016). Medicina Reproductiva y Embriología Clínica ¿ Puede la medicina reproductiva ayudar a comprender la etiopatogenia de la preeclampsia? Can reproductive medicine help to understand the aetiopathogenesis of pre-eclampsia? *Medicina Reproductiva Y Embriología Clínica*, 1–3.
11. Sullivan-pyke, C. (2018). Preimplantation Genetic Screening and Preimplantation Genetic Diagnosis. *Obstetrics and Gynecology Clinics of NA*, 45(1), 113–125.
12. Turkgeldi, E., Yagmur, H., Seyhan, A., Urman, B., & Ata, B. (2016). European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology Short and long term outcomes of children conceived with assisted reproductive technology. *European Journal of Obstetrics and Gynecology*, 207, 129–136.
13. Whiteford, M. L., & Cameron, A. D. (2014). Preimplantation genetic diagnosis, 67–73.
14. Roberts, J. M., Druzin, M., August, P. A., Gaiser, R. R., Bakris, G., Granger, J. P., ... Sibai, B. M. (2012). *ACOG Guidelines: Hypertension in pregnancy. American College of Obstetricians and Gynecologists*. <https://doi.org/doi:10.1097/01.AOG.0000437382.03963.88>
15. Practice Bulletin, A. (2002). Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol*, 99(12), 159–167.
16. Mammaro A, Carrara S, Cavaliere A, Ermito S, Dinatale A, Pappalardo EM, et al. Hypertensive disorders of pregnancy. *J Prenat Med*. 2009;3:1-5.
17. Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph KS. Epidemiology of preeclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011;25:391-403.

18. Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia. *Semin Perinatol.* 2012;36:56-9.
19. Ananth CV, Keyes KM, Wapner RJ. Pre-eclampsia rates in the United States, 1980-2010: Age-period-cohort analysis. *BMJ.* 2013;347:f6564.
20. Handyside, A.H., Kontogianni, E.H., Hardy, K., Winston, R.M., 1990. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 344, 768–770.
21. Hansen M, Bower C, Milne E et al. 2005 Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects – a systematic review. *Human Reproduction* 20, 328–388.
22. Rimm AA, Katayama AC, Diaz M, Katayama KP 2004 A metaanalysis of controlled studies comparing major malformation rates in IVF and ICSI infants with naturally conceived children. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 21, 437–443.
23. M.S.Kupka, A.P.Ferraretti, et, al. 2010 Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE *Human Reproduction*, Vol.29, No.10 pp. 2099–2113, 2014.
24. The ESHRE Guideline Group on RPL .R Bender, A. O.Bjarne et,al. *Reproduction Open*, Volume 2018, Issue 2, 1 February 2018, hoy004,
25. Vite J, Ortiz D. Análisis epidemiológico de la infertilidad en una población mexicana, *Ginecol. Obstet Mex*, 2005;73:360-4.