

REPRODUCCIÓN ASISTIDA Y RIESGO GENÉTICO

(guía para indicaciones y asesoramiento)



Lic. Germán Darío Galaverna

Director (Genetista)

La Rioja 1067. Villa María (5900).

Córdoba. Argentina.

TEL/FAX: +54 (0353) 4611-574

www.biogenomic.com.ar

Actualmente, conocemos numerosas causas que provocan que una pareja presente dificultades para procrear. Muchas de ellas son consecuencia del efecto de agentes ambientales (como las infecciones, ciertas sustancias químicas, las radiaciones, algunos accidentes), como así también determinadas enfermedades crónicas, defectos anatómicos y alteraciones fisiológicas y hormonales. Pero otros factores etiológicos, no menos frecuentes, presentan una base genética y consecuentemente, se genera una lógica preocupación sobre el riesgo de transmitir alguna de estas alteraciones hereditarias a la tan deseada descendencia.

Para reducir este riesgo potencial, existen diversos métodos de diagnóstico para detectar aquellos individuos portadores de defectos genéticos, y consecuentemente, ayudarlos en la elección de una mejor estrategia terapéutica. No obstante, los resultados utilizando el diagnóstico prenatal y el seguimiento pediátrico, que ya lleva estudiado a más de 5000 niños y niñas nacidos de técnicas de reproducción asistida de alta complejidad, no son altamente preocupantes. Observándose, que las malformaciones mayores se presentan con la misma frecuencia que en aquellos niños procreados por métodos naturales. Y se destacan como consecuencias adversas, una mayor tendencia a perder los embarazos, un incremento en el riesgo de transmitir la infertilidad al descendiente del mismo sexo, y un leve aumento en las anomalías de los cromosomas, con respecto a la población general.

Es importante aclarar, que la causa de este incremento, no debe ser entendida como consecuencia propia de la técnica utilizada, sino como una característica inherente de las parejas infértiles. Ya que debemos asumir que la presencia de un problema genético como causa de la infertilidad, proporciona un escenario de riesgo diferente que estará en función de las reglas de la herencia, y sin lugar a dudas, será superior a la presente en el resto de las parejas. Por lo tanto, la recomendación de un análisis genético permitirá un apropiado asesoramiento, posibilitando conocer la causa de su infertilidad y si su descendencia también lo será.

Entre los análisis Genéticos más utilizados por los especialistas en Reproducción se destacan los siguientes.

Cariotipo (Estudio Cromosómico)

Toda la información genética que nos define como individuo se encuentra almacenada en cuarenta y seis unidades de una molécula muy especial, *el ADN*. Estas unidades discretas son llamadas cromosomas y solo pueden verse usando un microscopio. Cada especie tiene un número definido y un aspecto estructural preciso y reproducible de generación en generación.

El Cariotipo es el análisis de los cromosomas de un individuo. Y debido a que no variará con el tiempo, solo se efectuará una vez. Este se realiza para detectar anomalías cromosómicas estructurales y numéricas, que caracterizan a los individuos con problemas reproductivos. Las anomalías se dividen en dos tipos, específicas o inespecíficas. Las anomalías cromosómicas específicas son características de síndromes conocidos como el Sme. de Turner, Sme. de Klinefelter, Sme. XYY, etc.; las inespecíficas se producen al azar dentro de los cromosomas y el individuo obtiene así una serie de síntomas clínicos que no concuerda con ninguno de los síndromes descriptos; como por ejemplo, abortos recurrentes, fallas en la ovulación o producción de espermatozoides. A pesar de que muchos de estos trastornos están bien definidos, la gran mayoría de ellos son difíciles de

diagnosticar basándose únicamente en las características clínicas del paciente, es por ello que se torna necesario la realización de este estudio para confirmar o descartar ciertos diagnósticos en los que se sospecha una base genética (ver indicaciones). Además, las indicaciones se sostienen en la ya demostrada evidencia científica, que indica que la población infértil presenta una incidencia de dichos trastornos cromosómicos, diez veces aumentada con respecto a la población general (6% vs. 0,6%). Finalmente, es importante destacar que el resultado del análisis aportará valiosa información para un adecuado asesoramiento genético, pudiéndose determinar el pronóstico del paciente, el tratamiento más apropiado, el riesgo de recurrencia en futuras generaciones y el riesgo de haber heredado el trastorno otros miembros de la familia.

Indicaciones:

- *Trastornos puberales en hombres y mujeres (amenorrea primaria y secundaria).*
- *Hombres con azoospermia u oligospermias severas y moderadas.*
- *Mujeres con falla ovárica y mala respuesta a tratamientos de estimulación ovárica.*
- *Parejas con abortos recurrentes (2 o más abortos espontáneos).*
- *Hombres y mujeres estériles, infértiles o subfértiles que irán a tratamientos de Reproducción Asistida de Alta Complejidad (ICSI).*
- *Antecedentes en familiares de portadores de anomalías cromosómicas.*
- *Hijos de individuos con anomalías cromosómicas estructurales.*

FISH en espermatozoides

Sin lugar a dudas, es muy importante evaluar los cromosomas de cada individuo de una pareja con problemas reproductivos, pero más aún, es analizar la verdadera contribución de las gametas (ovulo y espermatozoide) en las futuras concepciones, mediante el análisis directo de los cromosomas de estas células. Pero, a pesar de la masiva utilización y el enorme desarrollo de los análisis cromosómicos, existen ciertos materiales biológicos, como las gametas y embriones, donde su empleo resulta sumamente dificultoso. No obstante, a principios de los 90' se desarrolló una técnica que combina metodologías que son propias de la "Citogenética" y la "Genética Molecular". Esta se llamó Hibridación in situ con Fluorescencia (FISH) y representa desde entonces el método más directo de visualización de porciones específicas del ADN distribuidos sobre los cromosomas de cualquier célula. Debido a la facilidad en obtener espermatozoides para analizar, esta técnica se ha extendido más en la evaluación masculina. De todos modos, hoy sabemos que la frecuencia promedio de anomalía cromosómica numérica en el óvulo de una mujer sana es del 15% al 25% (variando con la edad de la misma), mientras que en los espermatozoides, estaría cercana al 6,4% cuando el hombre tiene parámetros seminales normales y fertilidad comprobada. Sin embargo, cuando cualquiera de estos es infértil, esta frecuencia es superior y ampliamente variable (15-70%), y suele estar asociada a las características del semen, factores genéticos (cromosomas y genes) y/o ambientales (quimio-radioterapia y fármacos anti-retrovirales).

Los resultados obtenidos por esta técnica permiten conocer la causa de sus dificultades o fracasos reproductivos, evaluar su pronóstico frente a un tratamiento y asesorar sobre

los riesgos empíricos y/o reales de concebir o gestar un descendiente con anomalías cromosómicas.

Indicaciones:

- *Cualquier paciente con parámetros seminales severamente afectados: OAT, AT "severa"*
- *Cualquier paciente con abortos recurrentes sin causa aparente*
- *Cualquier paciente portador de una anomalía cromosómica*
- *Cualquier paciente con historia previa de tratamientos para cáncer*
- *Cualquier paciente sometido a tratamientos anti-retrovirales. (HIV - Hepatitis C)*
- *Cualquier paciente de una pareja con ESCA.*

Falla de Fertilización (Estudio Citogenético en ovocitos no fecundados)

Como es sabido, no todos los ovocitos obtenidos de los pacientes de un programa de reproducción asistida completan exitosamente la fecundación e inician el proceso de embriogénesis (desarrollo). En este análisis se investigan los ovocitos clasificados como 'no fecundados' luego de FIV e ICSI, haciendo un screening de cada uno de los pacientes para dilucidar las causas de falla de fecundación y/o fecundación demorada. La fecundación es el proceso que culmina con la unión del material genético materno y paterno dentro del ovocito activado y la primera división celular (mitosis) del embrión temprano (cigoto). La capacidad del espermatozoide de penetrar al ovocito depende de un balance finamente coordinado entre ambas gametas. Cualquier desajuste en tal balance puede ser responsable de una falla en la fecundación y puede ser también la explicación de muchos casos de infertilidad sin causa aparente. Desde hace años han sido estudiados un gran número de eventos potencialmente relacionados con fallas de fecundación. La mayoría de estos estudios se concentraron en la genética del ovocito, sugiriendo que las anomalías en la fecundación provienen principalmente de la alta tasa de desórdenes cromosómicos observada en los ovocitos humanos. Estas investigaciones se centran en el elevado porcentaje de ovocitos que presentan alteraciones en los cromosomas al tiempo de la penetración espermática, presumiblemente debido a defectos ocurridos durante la maduración natural o inducida. Sin embargo muchos defectos y alteraciones que pueden causar una detención precoz del desarrollo, ocurren inmediatamente después de la interacción espermatozoide-ovocito, por desajustes en el proceso de activación a nivel molecular, y los resultados de dicho método puede darnos indicios de esto.

Indicaciones:

- *Ovocitos no fecundados provenientes de parejas de FIV, ICSI o ICSI-after que mostraron dos cuerpos polares y no mostraron pronúcleos entre las 20-40hs post incubación/inyección.*

Aborto Espontáneo (Cariotipo en Material de Aborto)

El riesgo relativo de presentar un aborto espontáneo en la población general es de aproximadamente 15%. Este asciende a 23% cuando ha existido un aborto previo, a 29% con dos abortos previos y a 38% con 3 abortos previos. Las pacientes abortadoras secundarias (que han logrado tener al menos un hijo vivo), tienen un riesgo global de repetir un aborto de 30%, independientemente del número de abortos previos. El Cariotipo en el material de aborto permite detectar anomalías numéricas y estructurales asociadas a los cromosomas. Estas se encuentran presentes en el 50% de los embarazos detenidos durante el 1º Trimestre, en el 15% del 2º Trimestre y en el 6% del 3º Trimestre. El resultado obtenido debe contemplarse en asociación con la edad materna al momento del embarazo. Y debido a procesos apoptóticos que sufren las células fetales, el análisis resulta informativo en el

60-75% de las muestras analizadas. No obstante, la detección de una anomalía cromosómica en el material de aborto, proporciona un escenario preciso para un adecuado asesoramiento genético y sienta un precedente en la historia reproductiva de la pareja.

Indicaciones:

- *Todos los Abortos espontáneos (con o sin antecedentes previos y/o familiares)*

Ausencia Congénita de Vasos Deferentes

Esta enfermedad es un defecto genético que provoca azoospermia obstructiva. Ocurre aproximadamente en un 2% de los hombres que presentan infertilidad. En estos pacientes entre un 59-82%, se halla por lo menos una mutación en el gen llamado CFTR (Regulador de la permeabilidad celular), que dan lugar a la fibrosis quística (FQ). En nuestro país, aproximadamente 1 cada 3000 niños nacen con esta enfermedad y la frecuencia de portadores asintomáticos es de 1 cada 30 individuos de la población general. En consecuencia 1 cada 900 familias está en riesgo de tener un niño afectado. Cuando un paciente presenta azoospermia obstructiva con agenesia de los vasos deferentes, se recomienda su análisis. Si el resultado es positivo, confirmando el diagnóstico, debe analizarse a su pareja, con el propósito de realizar un adecuado y preciso asesoramiento.

Indicaciones:

- *Cualquier paciente con Azoospermia obstructiva que desea saber la etiología sobre su ausencia de espermatozoides en el semen.*
- *Cualquier paciente con Azoospermia obstructiva que será sometido a tratamiento de ICSI y desea considerar el riesgo de que su futuro hijo sea afectado por fibrosis quística y/o infertilidad.*
- *Cualquier paciente con antecedentes familiares de Fibrosis Quística y/o problemas reproductivos que desea considerar el riesgo de que su futuro hijo sea afectado por fibrosis quística y/o infertilidad.*

Microdeleciones del Cromosoma Y (AZFa, b y c)

De los cuarenta y seis cromosomas que presenta la especie humana, a un par de ellos se los llama, cromosomas sexuales. Una mujer esta definida por presentar dos cromosomas X (XX) y un hombre por portar un cromosoma X y un cromosoma especial, que se llama Y. Las microdeleciones del cromosoma Y son *desórdenes estructurales* que involucran a grupos de genes localizados en el brazo largo de este *cromosoma*. La región donde ocurren estas deleciones se llama AZF (Azoospermic Factor) y está subdividida en tres áreas: AZFa, AZFb y AZFc (Vogt, 1996). AZFb y AZFc tienen una parte solapada. La pérdida de varios genes presentes en estas regiones, están relacionados con la gametogénesis y pueden provocar diferentes efectos en la espermatogénesis y en la histología testicular, que van desde una completa ausencia de células germinales (Síndrome de Sertoli Only - SSO-) pasando por la incipiente y/o escasa formación de espermátidas maduras, hasta la disminución significativa en el recuento de espermatozoides (oligospermia severa). Las microdeleciones del cromosoma Y son la segunda causa genética más frecuente de falla espermática en los hombres estériles. Se hallan presente en un 12-18% de los varones (46,XY) con azoospermia no obstructiva y en el 5-8% de aquellos con oligospermias severas. Este análisis permite detectar aquellas anomalías sub-microscópicas que afectan un área definida del cromosoma Y, por ello se recomienda indicar simultáneamente un análisis de citogenética para evaluar el resto de los cromosomas.

Indicaciones:

- *Cualquier paciente con Azoospermia secretora u oligospermia severa que desea saber la etiología de su producción disminuida de espermatozoides.*

- *Cualquier paciente que será sometido a TESE, ya que las deleciones completas de la región AZFa ó AZFb ó AZFb+c son incompatibles con la recuperación de espermatozoides por TESE.*
- *Cualquier paciente con Azoospermia secretora u oligospermia severa que será sometido a tratamiento de ICSI y desea considerar el riesgo de infertilidad de su futuro hijo.*

Screening Prenatal (1º y 2º Trimestre)

Estos métodos permiten detectar, aquellas pacientes que presentan mayor riesgo de estar gestando un bebé con algún defecto congénito, con el propósito de establecer la necesidad de recurrir a métodos de diagnóstico confirmatorios (Amniocentesis o Biopsia de vellosidades coriales). No existen limitaciones para su indicación aunque es particularmente útil en mujeres menores de 35 años y sin factores de riesgo asociados. El análisis se realiza utilizando la edad materna, como estimador del riesgo basal de un embarazo con problemas, y diversos marcadores (bioquímicos y/o ecográficos) que pueden ser medidos en etapas diferentes de la gestación. La combinación apropiada de éstos, proporciona importantes niveles de certeza.

Indicaciones:

Screening Primer Trimestre (NT-Plus)

(tasa de detección aproximada para Sme. de Down: **85%**)

Marcadores: Translucencia nucal / free-bhCG / PAPP-A

- Cualquier mujer embarazada entre las semanas 10-14 de gestación

Screening Segundo Trimestre (Triple Test)

(tasa de detección aproximada para Sme. de Down: **70%**)

Marcadores: AFP / hCG / Estríol no conjugado

- Cualquier mujer embarazada entre las semanas 15-20 de gestación

Screening de Donantes de Gametas (Femeninas y Masculinas)

En Medicina, los métodos de Screening son estrategias diseñadas para detectar aquellos individuos con mayor riesgo de desarrollar o padecer un problema de salud, para sí asistirlos precozmente evitando las consecuencias o al menos minimizarlas. Debido a que muchos de los trastornos genéticos no tienen la posibilidad de revertirse, y todos ellos pueden ser transmitidos a su descendencia respetando ciertas reglas de la herencia, puede resultar importante para una pareja, conocer la existencia de los mismos y así tomar decisiones conscientes sobre los riesgos que enfrentarán al reproducirse. Es habitual incluir en listas de donantes de ovocitos a pacientes perteneciente a programas de reproducción asistida. Esto no es objetable, si dichas personas son evaluadas adecuadamente con anterioridad, y se respetan ciertos algoritmos que permiten clasificarlas como personas sin riesgo aparente para enfermedades hereditarias, infecciosas, etc. Pero, cuando un miembro de la pareja es reemplazado por un donante de gametas, suelen surgir interrogantes sobre el status genético del mismo. El propósito del Screening de Donantes es proporcionar un escenario que libere de complicaciones genéticas frecuentes que afectan a todos los seres humanos. No debe entenderse esto como un proceso de selección genética de la pareja receptora, sino como una actitud médica responsable al ofrecer dichos procedimientos.

Indicaciones:

- *Individuos pertenecientes a listas de Donantes de Gametas*

Otras indicaciones

· Coagulopatías / abortos recurrentes
(Mutaciones en Factor V Leiden, Factor II Protrombina, Hiperhomocisteinemia)

· Falla ovárica Precoz
(Pre-mutaciones en FraX)
