

# Diagnóstico genético preimplantación: una alternativa hacia el futuro en el presente

Claudia Juliana Serrano Serrano, MD\*

## Resumen

El diagnóstico genético preimplantación (DGP) es una técnica novedosa que se promueve como una alternativa al diagnóstico prenatal y a la terminación voluntaria del embarazo para parejas con riesgo elevado de transmisión de enfermedades genéticas a su descendencia. Tras la aplicación de técnicas de reproducción asistida se realiza la biopsia en embriones evolutivos con la extracción de dos blastómeras para su análisis genético. Los embriones que se demuestran libres de la enfermedad genética son transferidos al útero materno. El DGP ha permitido estudiar varios aspectos del desarrollo temprano del embrión y la genética reproductiva, sin embargo también ha suscitado debates éticos en diferentes países a cerca de las técnicas en reproducción humana asistida. [Serrano C.J. *Diagnóstico genético preimplantación: una alternativa hacia el futuro en el presente. MedUNAB 2005; 8(2):82-88*].

**Palabras clave:** Diagnóstico genético preimplantación, Técnicas de reproducción asistida, Biopsia embrionaria.

## Summary

**Preimplantational genetic diagnosis: an actual alternative with future implications.** Preimplantational genetic diagnosis (PGT) is a new technique, promoted as an alternative for prenatal diagnosis and eventually for the voluntary termination of pregnancy when the couple is willing. Essentially, they are afraid that a genetic disease may be transmitted to their descendents. After the assisted reproduction techniques have been applied, an embryo biopsy is conducted, extracting two of the blastomeres, which are genetically analyzed. Those embryos free from genetic diseases are implanted in the mother uterus. PGT has also allowed the medical community to study different aspects of the early embryo development and the comprehension of reproductive genetics. However these new techniques have given rise to many ethical questions and debates about the moral consequences of routinely practicing PGT.

**Key Words:** Preimplantational genetic diagnosis; Assisted reproduction techniques.

## Introducción

El diagnóstico genético preimplantación (DGP) es un procedimiento diagnóstico clínico que aparece gracias a los avances en las técnicas de reproducción asistida (TRA), biología molecular y el desarrollo del proyecto genoma humano. El DGP es una forma muy temprana de diagnóstico prenatal: los oocitos o los embriones en su tercer día de desarrollo son biopsiados en cultivo *in vitro* y estas células (cuerpo polar en el caso de oocitos y dos blastómeras en el caso de embriones) son analizadas para alteraciones genéticas específicas.<sup>1,2</sup> Tras el diagnóstico, solo los embriones libres de enfermedad son transferidos a la madre. Recientemente esta misma tecnología ha sido aplicada para mejorar las tasas de embarazo en parejas con pérdida recurrente de la gestación o fallas repetidas de

implantación realizando un tamizaje de las aneuploidías más frecuentemente relacionadas a edad materna o aborto (DGP-SA screening aneuploidías).<sup>1</sup> Requiere de tecnología de punta y personal altamente calificado lo que lo hace costoso y técnicamente difícil.<sup>3</sup>

La primera aplicación clínica del DGP utilizando TRA, biopsia de embriones en desarrollo y análisis genético de una única célula fue reportado ya hace más de una década por Allan Handyside (1990). Se realizó para la selección de embriones femeninos libres de enfermedad en parejas con condiciones ligadas al sexo.<sup>4</sup> Modernas tecnologías han sido implementadas en el desarrollo de nuevas aplicaciones para el DGP. En 1992 se reportó el primer

\*Directora científica, Genetix Laboratorio de Genética Reproductiva.

**Correspondencia:** Dra Serrano, Calle 123 # 8-30 Consultorio 402-403, Bogotá, Colombia. E-mail: genetix@etb.net.co

Artículo recibido: 17 de abril de 2005; aceptado: mayo 28 de 2005.

nacimiento vivo y sano tras DGP para fibrosis quística.<sup>1</sup> Lucena y colaboradores en 1994 realizan el primer DGP en Colombia para una pareja con hemofilia A. Staessen y colaboradores (1999) introdujeron la hibridación *in-situ* fluorescente (FISH) en el DGP para determinar el sexo embrionario en condiciones ligadas al sexo demostrando mejores resultados que con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).<sup>5,6</sup> Se establecen criterios para calificar y evaluar las alteraciones numéricas en embriones analizados por FISH disminuyendo la probabilidad de error.<sup>7</sup> Con el advenimiento comercial de diferentes sondas de FISH<sup>8</sup> Munné y colaboradores (1999,2000) desarrollan protocolos para detección de translocaciones.<sup>5,9</sup> Asimismo, ocurren mejoras con la PCR, aparece la PCR-fluorescente y PCR-multiplex facilitando el diagnóstico de nuevas enfermedades monogénicas y mejorando la seguridad de las pruebas. Así pues, en la actualidad se recomienda la PCR como técnica para diagnosticar enfermedades monogénicas y el FISH para la determinación de alteraciones en número o estructura de los cromosomas así como para la determinación del sexo.<sup>2,6,10,11</sup> El DGP se ha venido implementado en un mayor número de países (20 hasta la fecha)<sup>5</sup> y es así como en 1997 se crea el consorcio de DGP de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE - *European Society of Human Reproduction and Embryology*) con el fin de realizar un estudio a largo plazo para evaluar eficacia y los resultados clínicos del DGP.<sup>4,5</sup>

Esta revisión pretende describir el estado actual del DGP y sus aplicaciones. Incluye algunas técnicas clínicas y moleculares pertinentes para el mejor entendimiento del lector. Además se revisa la recomendación ética de la aplicación de DGP realizada por el grupo de trabajo de ética de la ESHRE.<sup>12</sup>

## Procedimientos clínicos y embriología

**Estimulación ovárica y captación de oocitos.** La estimulación controlada de los ovarios con gonadotropinas exógenas lleva al reclutamiento de varios folículos y este proceso es monitoreado por ultrasonido. Cuando el tamaño y número de los folículos es el adecuado se induce la maduración hormonal de los mismos. Posteriormente, entre 34 y 38 horas más tarde, los oocitos son aspirados bajo guía ecográfica con el líquido folicular.<sup>13</sup> Los oocitos son recuperados y transferidos a un medio adecuado para ser inseminados o fertilizados por microinyección con espermatozoides (ICSI).<sup>14</sup> El ICSI está indicado en pacientes con espermograma anormal, fallos previos con TRA y en aquellos casos de DGP en los que la PCR sea la técnica empleada (enfermedades monogénicas) para impedir contaminación con ADN paterno proveniente de espermatozoides atrapados en la zona pelúcida evitando así un diagnóstico erróneo.<sup>14</sup> En los casos de DGP-SA o translocaciones se puede utilizar la fertilización *in-vitro*,<sup>2</sup> sin embargo en algunos centros se prefiere el ICSI para evitar fallos de fertilización. El día siguiente a la captación de los oocitos se evalúan los embriones en busca de dos pronúcleos que indiquen fertilización normal. Los

embriones continúan en cultivo *in vitro* y en tercer día de desarrollo aquellos morfológicamente normales y en evolución son biopsiados.

El patrón de herencia de las enfermedades monogénicas heredables, la calidad de los oocitos, la tasa de fertilización y el procedimiento de la biopsia embrionaria mejor influyen en la proporción de embriones no afectados a transferir por lo que un ciclo de DGP exitoso está relacionado con el número de oocitos captados.<sup>15</sup> Se estima que el 70-80% de los oocitos captados son fertilizados. De estos, el 80-90% evolucionan adecuadamente para ser biopsiados y en el 95% de los casos se obtiene un resultado inequívoco. Si además tenemos en cuenta por ejemplo, que en enfermedades con herencia autosómica dominante el 50% de los embriones están afectados, el número de embriones candidatos a transferir es muy bajo. Vandervorst y cols<sup>15</sup> reportan que aproximadamente el 20% de los oocitos captados dará lugar a embriones transferibles y que la posibilidad de un DGP exitoso aumenta si se captan más de 9 oocitos.

**Biopsia de cuerpo polar.** El oocito maduro se caracteriza por la presencia de un primer cuerpo polar que contiene el complemento de 23 cromosomas maternos bivalentes. Esta estructura permite analizar el oocito para aneuploidías y translocaciones maternas antes de la fertilización. Esta técnica presenta desventajas como;<sup>2</sup> (1) técnicamente es difícil porque son estructuras muy pequeñas y frágiles; (2) solo evalúa la contribución materna al genoma del embrión, y (3) su aplicación es limitada ya que exclusivamente se podría utilizar cuando la madre es portadora de una enfermedad autosómica dominante, una translocación o para DGP-SA.<sup>16,17</sup>

**Biopsia embrionaria.** Es esencial determinar el momento del desarrollo embrionario que permita la remoción del mayor número de blastómeras sin afectar el desarrollo futuro del embrión ni el potencial de embarazo. A partir del estadio de 16 células (Mórula - día 4) se empiezan a desarrollar uniones intercelulares (*tight junctions*) causando compactación celular haciendo imposible la separación de células individuales.<sup>18-20</sup> Además, las células han perdido su totipotencialidad y no se reconocería el tejido embrionario del extraembrionario. La biopsia en el estadio de 2-4 células produce una reducción notable de la masa celular interna del embrión causando efectos adversos en su potencial desarrollo.<sup>19</sup> Sin embargo, en el estadio de 8-12 células (día 3) las células son totipotenciales y tienen la capacidad de reemplazar 1 o 2 blastómeras.<sup>19,20</sup> En humanos la biopsia de 1 de 4, 2 de 8 o 3 de 8 blastómeras<sup>21</sup> no afecta el desarrollo *in vitro* hasta blastocisto siendo esta de 40%, sin embargo se desconoce la capacidad de implantación de embriones con masa celular reducida. En las figura 1 y 2 se observa un embrión en su tercer día de desarrollo y su evolución hasta blastocisto. Van de Velde y cols<sup>22</sup> en su estudio retrospectivo demuestran que la remoción de dos células de un embrión en estadio

>7 células no disminuye la tasa de embarazo (29.1%) ni la tasa de implantación (18.6%) después del DGP. Las tasas fueron similares a las obtenidas tras la remoción de una célula aunque aclaran que los ciclos no se pueden comparar ya no fueron aleatorizados. Así pues, abogan por la biopsia y análisis de dos blastómeras para mejorar las limitaciones de la PCR y FISH y ofrecer un diagnóstico más seguro y confiable, ya que solo hay transferencia cuando el resultado es concordante en ambas células.<sup>23-25</sup> Existen diferentes técnicas para realizar la biopsia.<sup>26-30</sup> La perforación de la zona pelúcida para la remoción de las blastómeras se realiza por medios químicos, mecánicos o láser. En la figura 3 se observa la zona pelúcida perforada y la extracción de una blastómera. Joris et al<sup>31</sup> realizan un estudio comparando el uso de ácido tyrodes vs. láser en el tratamiento de la zona pelúcida. Concluyen que el uso del láser para DGP es un procedimiento más sencillo y resulta en más blastómeras intactas. Se obtienen tasas similares de embarazo, sin embargo se requiere de más estudios para evaluar los efectos térmicos del láser.

**Criopreservación embrionaria después de la biopsia.**

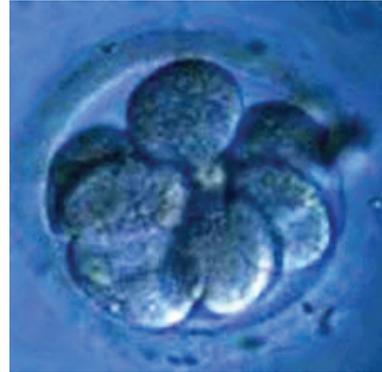
La criopreservación de los embriones no transferidos y de buena morfología es en la actualidad rutina en los centros de reproducción asistida. Sin embargo, la congelación de embriones biopsiados no es tan sencilla ya que la zona pelúcida ha sido perforada.<sup>32, 33</sup> En la actualidad existen reportes en la literatura de técnicas que permiten tasas de embarazo e implantación similares a las del DGP, aun así faltan más estudios que lo corroboren.<sup>34</sup>

**Aplicaciones clínicas del DGP**

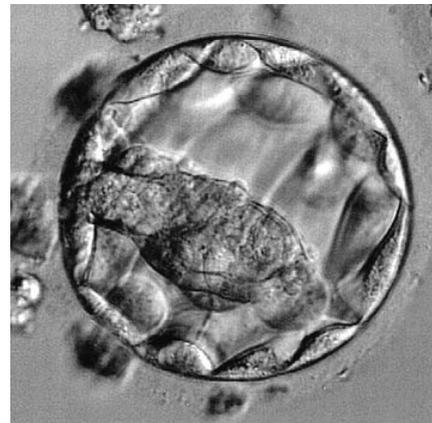
Según los datos recolectados por el consorcio de DGP de la Eshre, las causas más frecuentes de remisión para DGP son el riesgo genético elevado y objeción a la interrupción voluntaria del embarazo. Aproximadamente el 25% de las parejas que realizan ciclos con TRA lo combinan con DGP. Otras causas de remisión fueron la pérdida recurrente de la gestación o fallo repetido de implantación con TRA.<sup>4, 5</sup>

**Enfermedades monogénicas.** El DGP supone varias dificultades técnicas para realizar el diagnóstico ya que a diferencia del diagnóstico prenatal convencional la cantidad de ADN es limitada y muy poca (una única célula), no se pueden confirmar las pruebas ni repetir y el tiempo, los resultados se deben obtener en 12-48 horas ya que la transferencia debe realizarse en el día 5 de desarrollo en el estado de blastocisto. En la actualidad existen más de 30 enfermedades monogénicas que se pueden diagnosticar por DGP utilizando PCR. En la tabla 1 se exponen las enfermedades más frecuentes según los datos de ESHRE.

Las tasas de embarazo e implantación varían de acuerdo a la enfermedad y al tipo de herencia. De acuerdo a los datos recolectados por el consorcio de DGP durante tres años (1998-2000), en los casos de DGP el 65% de los oocitos fueron fertilizados, el 99% de los embriones fueron biop-



**Figura 1.** Embrión en estadio de ocho células. Las blastómeras se pueden diferenciar fácilmente en este momento, lo que facilita el procedimiento. Cortesía del IVI.



**Figura 2.** Blastocisto. El embrión continúa su desarrollo y división celular, líquido se acumula dentro del embrión formando la cavidad blastocélica. Esta se expande dando lugar al blastocisto expandido previo a la extrusión. Cortesía IVI.



**Figura 3.** Biopsia embrionaria en día 3 de desarrollo. La zona pelúcida es perforada por un haz láser o por un pequeño chorro de solución de ácido tyrodes. Se introduce una pipeta de aspiración y se extrae una sola blastómera por succión. Las blastómeras a analizar deben tener un solo núcleo y estar intactas. Cortesía IVI.

siados y en el 82% de ellos se obtuvo un diagnóstico claro. La tasa de embarazo fue 25% por embrión transferido. Se han reportado cinco diagnósticos errados utilizando PCR, de los cuales dos fueron por selección de sexo por lo que esta técnica es considerada obsoleta para este fin.<sup>24, 35</sup>

**Condiciones ligadas al sexo.** Cuando no existe un protocolo específico de PCR se considera apropiado hacerlo a través de la selección de sexo, se eligen embriones femeninos sanos o portadores de la enfermedad a través de FISH. Las condiciones más frecuentemente reportadas por la ESHRE están detalladas en la tabla 1. En promedio, el 50% de los embriones en un ciclo de DGP-selección de sexo no sería apto para ser transferido sobre la base del sexo solamente. Es importante tener en cuenta que sobre esta misma base el 50% de los embriones masculinos sería sano pero descartado, un hecho que suscita crítica y controversia. La tasa de embarazo es similar a la de enfermedades monogénicas, 23% por embrión transferido.<sup>5, 36, 37</sup>

**Translocaciones balanceadas.** Las translocaciones recíprocas, en las que ocurre intercambio de dos segmentos terminales entre dos cromosomas diferentes, son la alteración cromosómica más común y se presenta en 1 de cada 500 nacidos vivos.<sup>38</sup> Con muy pocas excepciones, la translocación es propia de la familia o el individuo que la presenta. Las translocaciones Robertsonianas,<sup>39</sup> fusión céntrica de dos cromosomas acrocéntricos, ocurren en 1 de cada 1.000 individuos. Munné y colaboradores<sup>9</sup> reportan una incidencia de 0,6% en parejas infértiles, 3,2% en parejas con >10 ciclos fallidos con TRA y aumenta hasta 9,2% en parejas con >3 abortos consecutivos en el primer trimestre. La mayoría de estos individuos son fenotípicamente normales y consultan por infertilidad, pérdida recurrente de la gestación o el nacimiento de un niño con

anomalías congénitas. El DGP para translocaciones reduce significativamente la tasa de aborto espontáneo en estos pacientes de 25% al 9%;<sup>9</sup> sin embargo, el problema es la cantidad de embriones disponibles para transferir ya que en la mayoría de los casos más del 50% de estos son anormales. La tasa de embarazo por embrión transferido puede llegar al 38%.<sup>23,36,37</sup> En la actualidad existen diferentes sondas de FISH disponibles comercialmente para analizar prácticamente cualquier translocación.

**Detección de aneuploidías – DGP-SA.** Esta es la principal indicación para DGP en el mundo sin embargo su verdadera utilidad clínica está por definirse.<sup>40-42</sup> Los estudios cromosómicos clásicos realizados en material de aborto espontáneo muestran una incidencia de anomalías cromosómicas que oscila entre el 50% y 70%. Así pues, los casos de edad materna avanzada, pérdida recurrente de la gestación y fallos repetidos en TRA podrían indicar que la infertilidad es causada por la producción aneuploide de gametos. Los embriones biopsiados son analizados con FISH para siete cromosomas (13,16,18,21,22, X y Y) en busca de alteraciones numéricas.<sup>43</sup> Gianaroli y colaboradores<sup>36</sup> reportan una tasa de embarazo de 29% por embrión transferido y 23% de bebe sano en casa por paciente en 828 ciclos de DGP-SA. El porcentaje de embriones anormales aumenta proporcionalmente a la edad materna, desde 63% en mujeres de 36-37 años hasta 81% en aquellas de 43 años y mayores. Asimismo, las tasas de bebé sano en casa disminuyen, de 25% a 7% en mujeres de 43 años. Las trisomías fueron la anormalidad más frecuente representando el 22% de ellas. La frecuencia de aneuploidía en los cromosomas 13,15, 16, 21 y 22 aumenta en relación con edad materna a diferencia de los cromosomas 18,X y Y que no guardan relación con la edad.<sup>44</sup> Las parejas con pérdida recurrente de la gestación evaluadas por Gianaroli mostraron 59% de sus embriones anormales y la distribución de las anormalidades cromosómicas fue diferente a el grupo de edad materna avanzada, con monosomías y defectos complejos que sugieren disfunción en los procesos o estructuras al inicio de la división del ciclo celular. Munné<sup>37</sup> concluye en su revisión que el DGP-SA reduce el riesgo de hijos trisómicos, aumenta las tasas de implantación y disminuye los abortos espontáneos. En el primer estudio randomizado y controlado de DGP por edad materna avanzada realizado por Staessen y cols<sup>45</sup> en 400 parejas demuestra que no existe beneficio claro del DGP-SA en mujeres mayores de 37 años cuando no existe restricción en el número de embriones a transferir, no encontraron diferencias significativas en las tasas de bebe sano en casa ni reducción en las tasas de aborto espontáneo.

**Tabla 1.** Indicaciones para DGP – PCR

Modo de herencia	Indicación
Autosómica dominante	Distrofia miotónica
	Enfermedad de Huntington
	Charcot Marie Tooth 1A
	Charcot Marie Tooth 2A
	Neurofibromatosis
	Esclerosis tuberosa
	Síndrome de Stickler
	Síndrome de Crouzon
	Osteogénesis imperfecta I y IV
	Autosómica recesiva
Beta talasemia	
Atrofia muscular espinal	
Anemia de células falciformes	
Enfermedad de Gaucher	
Epidermolisis bullosa	
Ligado al X	Distrofia muscular de Duchenne/Becker
	Hemofilia A
	Síndrome de X frágil
	Síndrome de Alport

## Embarazos y resultado perinatal

El número total de embarazos registrados durante el año 2000 por la ESHRE es 309, con 406 sacos gestacionales.<sup>5</sup> Reportan una tasa de aborto clínico de 11% durante el primer trimestre. Tres embarazos fueron terminados por

error en el diagnóstico confirmado durante estudios prenatales. Se presentaron complicaciones en el 33% de los embarazos y como era de esperar en mayor proporción en los múltiples. Las complicaciones más frecuentes fueron el parto Pretérmino y prematuro y la ruptura prematura de membranas (RPM). La mortalidad perinatal fue del 16 por 1.000 nacimientos, se explica tan elevada probablemente por los embarazos múltiples (30%). No existe un incremento de malformaciones congénitas, la incidencia fue de 3% comparable con la población general. Se confirmaron errores diagnósticos en el 1.8% de los casos, con una mayor incidencia en aquellos donde se empleo PCR (3.4%) que donde se utilizó FISH (0,9%).

## Consideraciones éticas del DGP

Dadas las dificultades en definir adecuadamente “enfermedad” y “anormalidad” y determinar lo que constituye un verdadero riesgo genético, la ESHRE recomienda un manejo multidisciplinario de esta tecnología, en donde la consejería genética debe ser parte integral de la misma.<sup>12</sup>

### **Principios éticos fundamentales. Bienestar del niño.**

Esta nueva tecnología puede justificarse refiriéndose al bienestar del niño, ya que se va a evitar una enfermedad discapacitante. *Principio de Autonomía.* La aplicación del DGP aumenta la autonomía de los padres ya que les ofrece una opción adicional, elegir una técnica que se ajuste mejor a sus principios morales y a sus necesidades disminuyendo la carga psicológica de otras opciones, y favoreciendo el bienestar y la salud de su futuro hijo. Los pacientes deben ser informados y recibir una asesoría adecuada previo a cualquier procedimiento, debe incluir las posibilidades de éxito y fracaso, tasas de embarazo y complicaciones.

**Problemas específicos.** Existen diferencias sustanciales en el control y regulación del DGP a nivel mundial. Estas están relacionadas con las diferentes posturas frente a la reproducción asistida, procedimientos invasivos en embriones humanos y la eugenesia en la selección de embriones sanos. El DGP apenas recientemente fue aprobado en Francia mientras que está prohibido en Alemania, Italia, Suiza y Taiwán, entre otros.<sup>46</sup> En los apartados siguientes se evalúan diferentes situaciones.

*1. Detección de portadores y transferencia embrionaria.* El argumento crucial para no transferir embriones portadores de enfermedad no es la eugenesia, es el deseo de evitarle al futuro hijo la toma de decisiones complejas como la que en el momento toman sus padres.<sup>47</sup> El riesgo para el niño depende del tipo de enfermedad. Si el niño es portador de una enfermedad autosómica recesiva, el riesgo de que sus hijos vayan a estar afectados es de 1%, a diferencia de los hijos de mujeres portadoras de condiciones ligadas al sexo que es del 50%. En últimas, la recomendación es que debe ser la pareja quien decida en caso de existir embriones portadores y sanos

que embriones se transfieren. En todas las ocasiones los embriones portadores no transferidos deben ser criopreservados al igual que los sanos.

- 2. Enfermedades de inicio tardío.* El DGP es aceptable para este tipo de enfermedades aunque existen dudas acerca del desarrollo de nuevas terapias en el futuro y durante el lapso de tiempo entre el nacimiento del niño y el comienzo de la enfermedad. Es importante tener en cuenta la severidad de la enfermedad y los efectos sobre la calidad de vida en el futuro.
- 3. DGP-SA.* El objetivo de esta técnica es mejorar las tasas de embarazo en mujeres con fallos repetidos de TRA, en mujeres mayores de 37 años y aquellas con abortos a repetición. Sin embargo, se requiere de estudios aleatorizados y controlados que demuestren claramente sus beneficios.
- 4. Tipificación de HLA.* La tipificación de HLA permitiría a los padres de un niño con una enfermedad hematopoyética letal tener otro hijo donante para salvar la vida de su primer hijo. Esta solución es moralmente aceptable si la única razón para tener este otro hijo no es la de ser donante y siempre que la intervención no ponga el riesgo a la vida del donante.
- 5. Transferencia de embriones afectados.* Existen casos de parejas que desean que su hijo tenga la misma condición que ellos para que se adapte mejor al medio. Sin embargo, esto no es aceptable ya que la adaptación a la sociedad se vería dificultada, además no cumple con el principio de beneficencia del niño ni con la finalidad del DGP.
- 6. Selección de sexo por razones no médicas.* En este punto la ESHRE no ha logrado llegar a un acuerdo. Existen dos posiciones, una en contra que lo considera discriminación sexual y otra posición a favor, que lo considera una opción para casos de balanceo familiar.<sup>48, 49</sup>

En conclusión, las técnicas de reproducción asistida y el DGP deben ser discutidos y la información debe ser dada al paciente para que sean ellos quienes tomen las decisiones. El DGP debe ser aplicado de forma segura y de acuerdo a las reglas de una práctica clínica buena.<sup>50</sup> Existe aun el debate ético. En el mundo coexisten países en donde no es permitido realizar DGP bajo ninguna condición, otros en donde hay algunas restricciones (selección de sexo) y otros donde no hay restricción o no hay legislación al respecto. En Colombia aún no está legislada la reproducción asistida ni el DGP.

## Conclusiones

El DGP es una forma muy temprana y especializada de diagnóstico prenatal. El análisis de los ciclos de DGP realizados hasta la fecha demuestra el valor clínico del DGP en: (1) prevención de enfermedades genéticas en parejas con riesgo de transmitir estas enfermedades a su descendencia; (2) reducción del riesgo de aborto en parejas con translocaciones; (3) mejora el pronóstico reproductivo con TRA en parejas de muy mal pronóstico y edad ma-

terna avanzada cuando existe restricción en el número de embriones a transferir, y (4) mejora el pronóstico reproductivo con TRA. Parece evidente que el aumento en la demanda del DGP será por parte de parejas infértiles que buscan aumentar sus posibilidades de embarazo con TRA, disminuyendo a la vez la probabilidad de un hijo con una aneuploidía relacionada con edad avanzada. Aún existen muchas limitaciones como el número de cromosomas evaluados y la cantidad de ADN para realizar las pruebas, el mosaicismo embrionario y nuevas técnicas de biología molecular que disminuyan el riesgo de error en el diagnóstico y mejoren las condiciones de los embriones en cultivo, entre otras. Es factible que en un futuro los avances en biología molecular nos permitan evaluar todo el complemento de cromosomas. El gran reto será poder regular las aplicaciones del DGP por razones médicas y limitar o prevenir su uso con propósitos eugenésicos.

## Referencias

- Braude P, Pickering S, Flinter F, Ogilvie CM. Preimplantation genetic diagnosis. *Nature Rev Genet* 2002; 3:941-53.
- Sermon K, Liebars I. Preimplantation genetic diagnosis. In: *Molecular biology in reproductive medicine*. Boston, Saunders, 2 ed, 1999:409-31.
- Lavery SA, Aurell R, Turner C, Taylor DM, Winston RM. An analysis of the demand for cost of preimplantation genetic diagnosis in the United Kingdom. *Prenat Diagn* 1999; 19:1205-8.
- ESHRE PGD Consortium Steering Committee. ESHRE Preimplantation genetic diagnosis consortium: preliminary assessment of data from January 1997 to September 1998. *Hum Reprod* 1999; 14:3138-48.
- ESHRE PGD Consortium Steering Committee. ESHRE Preimplantation genetic diagnosis consortium: data collection III (May 2001). *Hum Reprod* 2002; 17:233-46.
- Sato T, Ikuta K, Sherlock J, Adinolfi M, Suzumori K. Comparison between FISH and quantitative-fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) for the detection of aneuploidies in single blastomeres. *Prenat Diagn* 2003; 23:678-84.
- Munné S, Márquez C, Magli C, Morton P, Morrison L. Scoring criteria for preimplantation genetic diagnosis of numerical abnormalities for chromosome X, Y, 13, 16, 18 and 21. *Molecular Hum Reprod* 1998; 4:863-70.
- Manor D, Stein D, Itskovitz-Eldor J. Preimplantation genetic diagnosis by FISH: The Rambam experience. *J Assist Reprod Genet* 1998; 15:308-10.
- Munné S, Sandalinas M, Escudero T, Fung J, Gianaroli L, Cohen J. Outcome of preimplantation genetic diagnosis of translocations. *Fertil Steril* 2000; 73:1209-18.
- Verlinsky Y, Kuliev A. Preimplantation genetics. *Assist Reprod Genet* 1989; 15:215-8.
- McDonough P. Basic techniques in genetic analysis for molecular biology in clinical reproductive medicine. In: *Molecular biology in reproductive medicine*. Boston, Saunders, 2 ed, 1999:23-48.
- Shenfield F, Pennings G, Devroey P, Sureau C, Tarlatzis B, Cohen J; ESHRE Ethics Task Force. Taskforce 5: preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod* 2003; 18:649-51.
- Klingman I, Rosenwaks Z. Protocolos para estimulación ovárica controlada en reproducción asistida. En: Remohi J, Pellicer A, Simon C, Navarro J (eds). *Reproducción humana*. México, Mac Graw Hill-Interamericana, 2 ed, 2002:111-9.
- Romero J, Albert C, Zulategui J. La microinyección intracitoplasmática de espermatozoides como técnica de reproducción asistida. En: Remohi J, Pellicer A, Simon C, Navarro J (eds). *Reproducción humana*. México, Mac Graw Hill-Interamericana, 2 ed, 2002:116-21.
- Vandervorst M, Liebars I, Sermon K, Staessen C, DeVos A, Van de Velde H, et al. Successful preimplantation genetic diagnosis is related to the number of available cumulus- oocyte Complexes. *Hum Reprod* 1998; 13:3169-76.
- Verlinsky Y, Kuliev A. Progress in preimplantation genetics. *J Assist Reprod Genet* 1998; 15:9-11.
- Planchot M. Genetic analysis of the oocyte – a review. *Placenta* 2004; 24:S66-9.
- Harper J.C, Wells D. Recent advances and future developments in PGD. *Prenat Diagn* 1999; 19:1193-9.
- DeVos A, Steirteghem V. Aspects of biopsy procedures prior to preimplantation genetic diagnosis. *Prenat Diagn* 2001; 21: 767-80.
- Tarin J, Handyside A. Embryo biopsy strategies for preimplantation diagnosis. *fertil and steril* 1993; 59:943-52.
- Hardy K, Martin KL, Leese HJ, Winston RM, Handyside AH. Human preimplantation development *in vitro* is not adversely affected by biopsy at the 8-cell Stage. *Hum Reprod* 1990; 5: 708-14.
- Van de Velde H, DeVos A, Sermon K, Staessen C, De Rycke M, Van Assche E, et al. Embryo implantation after biopsy of one or two cells from cleavage-stage embryos with a view to preimplantation genetic diagnosis. *Prenat Diagn* 2000; 20:1030-7.
- Pickering S, Polidoropoulos N, Caller J, Scriven P, Ogilvie CM, Braude P. Strategies and outcomes of the first 100 cycles of preimplantation genetic diagnosis at the guy's and St. Thomas' Center. *Fertility and Sterility* 2003; 79:81-90.
- Vandervorst M, Staessen C, Sermon K, DeVos A, Van de Velde H, Van Assche E, Et al. The Brussels' experience of more than 5 years of clinical preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod Update* 2000; 6:364-73.
- Lewis C.M, Pinel T, Whittaker, Handyside A. Controlling misdiagnosis errors in preimplantation genetic diagnosis: a comprehensive model encompassing extrinsic and intrinsic sources of error. *Hum Reprod* 2001; 16:43-50.
- Han TS, Sagoskin AW, Graham JR, Tucker MJ, Liebermann J. Laser-assisted human embryo biopsy on the third day of development for preimplantation genetic diagnosis: two successful case reports. *Fertil Steril* 2003; 80:453-5.
- Wong B, Boyd C, Lanzendorf S. Randomized controlled study of human zona pellucida dissection using the zone infrared laser optical system: evaluation of blastomere damage, embryo development, and subsequent hatching. *Fertil Steril* 2003; 80: 1249-54.
- Veiga A, Sandalinas M, Benkhalifa M, Boada M, Carrera M, Santalo J, et al. Laser blastocyst biopsy for preimplantation diagnosis in the human. *Zigote* 1997; 5:351-4.
- 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; 15:302-6.
- Neev J, Gonzalez A, Licciardi F, Alikani M, Tadir Y, Berns M, Cohen J. Opening of the mouse zona pellucida by laser without a micromanipulator. *Hum Reprod* 1993; 8:939-44.
- Joris H, DeVos A, Janssens R, Liebaers I, Van Steirteghem A. Comparison of the results of human embryo biopsy and outcome of PGD after zona drilling using acid tyrode medium or a laser. *Hum Reprod* 2003; 18:1896-902.
- Marrs R, Greene J, Stone B. Potential factors affecting embryo survival and clinical outcome with cryopreserved pronuclear human embryos. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190:1766-72.

33. Edgar DH, Bourne H, Speirs AL, McBain JC. A quantitative analysis of the impact of cryopreservation on the implantation potential of human cleavage stage embryos. *Hum Reprod* 2000; 15:175-9.
34. Lalic I, Catt J, McArthur S. Pregnancies after cryopreservation of embryos biopsied for PGD. *Hum Reprod* 2001; 16:32.
35. Lissens W, Sermon K. Preimplantation genetic diagnosis: current status and new developments. *Hum Reprod* 1997; 12:1756-61.
36. Gianaroli L, Magli MC, Fiorentino F, Baldi M, Ferraretti AP. et al. Clinical value of preimplantation genetic diagnosis. *Placenta* 2003; 24:S77-S83.
37. Munné S. Preimplantation genetic diagnosis and human implantation – A review. *Placenta* 2003; 24:S70-S76.
38. Sampson JE, Ouhibi N, Lawce H, Patton PE, Battaglia DE, Burry KA, et al. The role for preimplantation genetic diagnosis in balanced translocation carriers. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190:1707-13.
39. Scriven PN, Flinter FA, Braude PR, Ogilvie CM.. Robertsonian translocations – Reproductive risks and indications for preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod* 2001; 16:2267-73.
40. Trounson A. Research must continue on preimplantation genetic diagnosis methodologies. *Fertil Steril* 2004; 82:299.
41. Hill D. Ten years of preimplantation genetic diagnosis-aneuploidy screening: review of a multicenter report. *Fertil Steril* 2004; 82: 300-1.
42. Verlinsky Y, Cohen J, Munne S, Gianaroli L, Simpson JL, Ferraretti AP, Kuliev A. Over a decade of experience with preimplantation genetic diagnosis. *Fertil Steril* 2004; 82:302-3.
43. Smith S, Toledo A, Massey J, Kort H. Simultaneous detection of chromosome X, Y, 13, 18 and 21 by FISH in blastomeres obtained from preimplantation embryos. *J Assist Reprod Genetics* 1998; 15:314-9.
44. Magli C, Gianaroli L, Munné S, Ferraretti A. Incidence of chromosomal abnormalities from a morphologically normal cohort of embryos in poor prognosis patients. *J Assist Reprod Genet* 1998; 15:297-301.
45. Staessen C, Platteau P, Van Assche E, Michiels A, Tournaye H, Camus M, et al. Comparison of blastocyst transfer with or without preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in couples with advanced maternal age: a prospective randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2004; 12:2849-58.
46. Meister U, Finck C, Stobel-Richter Y, Schmutzer G, Brahler E. Knowledge and attitudes towards preimplantation genetic diagnosis in Germany. *Hum Reprod* 2005; 1:231-8.
47. Snowdon C, Green J. Preimplantation diagnosis and other reproductive options: attitudes of male and female carriers of recessive disorders. *Hum Reprod* 1997; 12:341-50.
48. Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Preconception gender selection for nonmedical reasons. *Fertil Steril* 2001; 75:861-3.
49. Gleicher N, Karande V. Gender selection for nonmedical indications. *Fertil Steril* 2002; 78:460-3.
50. Gianaroli L, Plachot M, Kooij R, Al-Hasani S, Dawson K, DeVos A, et al. ESHRE Guidelines for good Practice in IVF laboratories. *Hum Reprod* 2000; 15:2241-6.