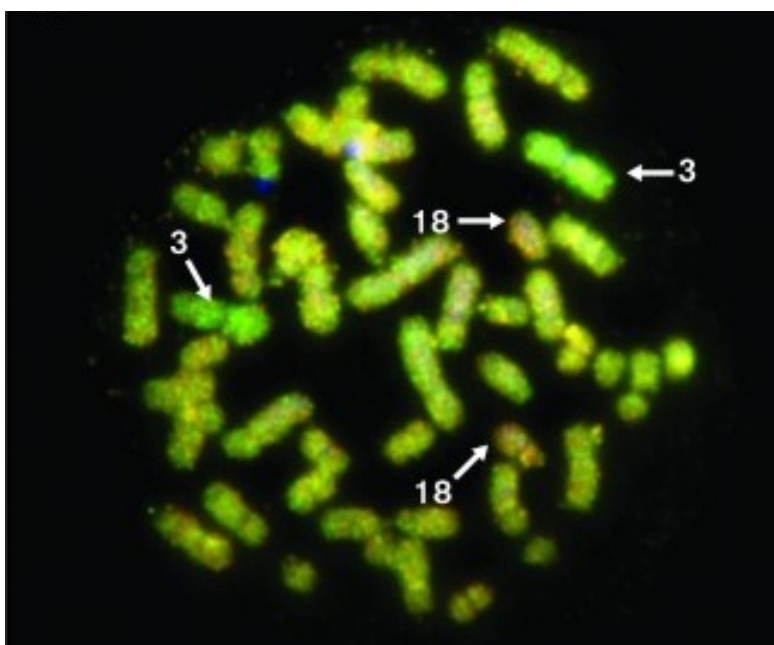


03/2011

## Diagnóstico genético preimplantacional con una técnica rápida de hibridación genómica comparada



En esta tesis doctoral se ha desarrollado una nueva variante de la Hibridación Genómica Comparada (CGH), que reduce drásticamente el tiempo de hibridación. Esta técnica, aplicada al Diagnóstico Genético Preimplantacional, ofrece un análisis completo de todos los cromosomas y permite obtener los resultados mucho más rápido y con la misma eficiencia que con la CGH convencional, de modo que los embriones cromosómicamente normales seleccionados pueden ser transferidos al útero materno en el mismo ciclo de la fecundación *in vitro* sin tener que criopreservarlos.

El Diagnóstico Genético Preimplantacional (PGD) permite seleccionar, dentro de un programa de fecundación *in vitro* (FIV), embriones libres de alteraciones cromosómicas para la

transferencia al útero materno. Actualmente, la metodología más frecuentemente utilizada para esta finalidad es el análisis de un blastómero de los embriones en el tercer día de su desarrollo mediante la Hibridación *in situ* Fluorescente (FISH), que sólo permite estudiar de manera rutinaria nueve de los 24 tipos diferentes de cromosomas existentes. Una técnica alternativa menos utilizada es la Hibridación Genómica Comparada (CGH), que permite hacer un análisis citogenético completo de todo el cariotipo. Se basa en establecer una hibridación competitiva entre un DNA control con cariotipo 46, XY y un DNA problema, en proporción 1:1 y marcados con fluorescencias verde y roja, respectivamente, sobre metafases de linfocitos euploides. Los resultados se evalúan con un programa informático que integra los valores de las fluorescencias hibridadas y permite determinar si hay ganancias o pérdidas de material cromosómico en el DNA estudiado. Esta metodología, sin embargo, es bastante compleja y requiere un tiempo mayor que la duración del ciclo de FIV para obtener los resultados, de manera que los embriones analizados se han de criopreservar y transferir en otro ciclo adicional, que en muchos casos afecta la viabilidad de los embriones biopsiados.

El objetivo de esta tesis doctoral ha sido desarrollar y aplicar una metodología de CGH rápida en que el tiempo de hibridación se ha reducido de 72 horas a 12 horas, de forma que no sea necesaria la criopreservación de los embriones analizados.

Para su puesta a punto, se han analizado fibroblastos aislados de líneas celulares con alteraciones cromosómicas conocidas, el resultado de CGH rápida de los cuales ha confirmado en todos los casos la presencia de estas alteraciones.

Una vez desarrollado el protocolo de CGH rápida, se ha adaptado y validado para el análisis de blastómeros, empleando embriones descartados de casos de PGD mediante FISH con nueve sondas para los cromosomas 13, 15, 16, 17, 18, 21, 22, X e Y (FISH-9-cr). Este análisis ha puesto de manifiesto que las discordancias entre los resultados de la CGH rápida y los de la FISH-9-cr son debidas principalmente a la existencia de mosaicismo, es decir, a la presencia de diferentes líneas celulares con respecto a su cariotipo en un mismo embrión, pero también a errores de la FISH.

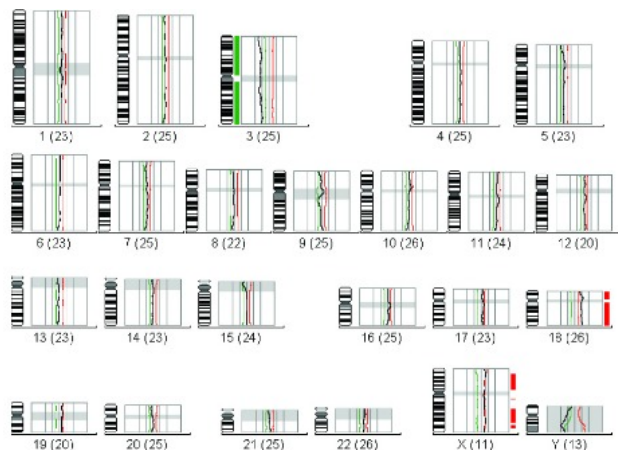
La CGH rápida también se ha utilizado para hacer el análisis de 22 embriones de pacientes de edad materna avanzada descartados del PGD con FISH-9-cr. Este estudio ha revelado la presencia de aneuploidías o errores cromosómicos numéricos (el 38,5% de los cuales no se habrían detectado mediante la FISH) y de errores cromosómicos estructurales (en el 31,8% de los embriones), así como de mosaicismo (en el 77,3% de los embriones) en los diferentes blastómeros analizados.

Una vez demostrada su fiabilidad, la técnica se ha aplicado clínicamente para el cribado de aneuploidías en casos de edad materna avanzada, de abortos de repetición y de fallos repetidos de implantación, en los que se ha obtenido una tasa de implantación de los embriones transferidos del 60%.

Previa comprobación de que la CGH rápida era capaz de detectar desequilibrios parciales de cromosomas con un límite de resolución de 10-20Mb, esta metodología se ha aplicado en el PGD de portadores de translocaciones cromosómicas Robertsonianas (tres casos, cuatro ciclos de FIV-PGD), recíprocas (dos casos, tres ciclos de FIV-PGD) y un caso de una doble translocación (tres ciclos de FIV-PGD), en los que se ha obtenido un elevado éxito de

diagnóstico y dos embarazos. En los casos de translocaciones, la CGH rápida permite estudiar la segregación de los cromosomas implicados en la reorganización, al tiempo que el resto de cromosomas de la célula.

La variante de CGH desarrollada, pues, permite estudiar todos los cromosomas de la célula y detectar tanto alteraciones numéricas como estructurales en un solo procedimiento que, debido a la reducción del tiempo de hibridación, es compatible con la transferencia en fresco los embriones seleccionados. Por lo tanto, su implementación puede incrementar la tasa de implantación de los embriones transferidos después del PGD.



*Análisis de CGH del cariotipo de un embrión femenino. La pérdida del cromosoma 3 y la ganancia del cromosoma 18 quedan reflejadas con la integración de las fluorescencias.*

**Mariona Rius i Mas**

[mariona.rius@uab.cat](mailto:mariona.rius@uab.cat)

## Referencias

"Hibridació Genòmica Comparada ràpida: aplicació al Diagnòstic Genètic Preimplantacional".

Tesis doctoral de Mariona Rius i Mas (2010). Directores: Joaquina Navarro Ferreté, Jordi Benet Català i Maria Oliver Bonet.

[View low-bandwidth version](#)