



TEST GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL. CONCEPTOS BÁSICOS.

Marina Espejo Romero

21/12/2023

1. INTRODUCCIÓN

El test genético preimplantacional (**TGP**), también conocido como **PGT** por sus siglas en inglés, es una técnica que se utiliza en reproducción asistida con la finalidad de detectar anomalías en el material genético de los embriones. Mediante esta técnica lo que se intenta, es obtener una o varias células de un embrión temprano (día +3) o un blastocisto con el fin de analizarlo genéticamente. Se trata, por tanto, de una técnica complementaria que ayudará a seleccionar el mejor embrión para transferir en un tratamiento de fecundación in vitro (**FIV**), y así seleccionar aquellos que no son normales en parejas que tienen un alto riesgo de herencia de enfermedad genética o cromosómica.

2. ¿QUÉ ES EL TEST GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL?

2.1. CONCEPTOS IMPORTANTES

Se ha diferenciado siempre entre cribado genético preimplantatorio o PGS que se utiliza para detectar aneuploidías, y diagnóstico genético preimplantacional (DGP) propiamente dicho, cuando se trata de analizar la presencia de mutaciones de enfermedades monogénicas o de alteraciones estructurales cromosómicas.

Esta clasificación cayó en desuso desde que, en 2017, la Asociación Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) publicó un glosario sobre términos asociados a la infertilidad. Actualmente distinguimos entre:

- **PGT-A:** Test genético preimplantatorio para estudio de aneuploidías.

- **PGT-M:** Test genético preimplantatorio para mutaciones de enfermedades monogénicas.
- **PGT-SR:** Test genético preimplantatorio para reorganizaciones estructurales cromosómicas.

En función de si se pretenden detectar alteraciones genéticas o cromosómicas en los embriones, las técnicas para el análisis del ADN embrionario serán diferentes.

2.2. ASPECTOS CONTROVERTIDOS

Aunque nadie pone en duda la utilidad de esta técnica cuando se trata de PGT-M o PGT-SR, desde la aparición de la misma en los años 90 se ha intentado encontrar una utilidad para mejorar los resultados de los programas de FIV utilizando el PGT-A, lo cual ha generado controversia y múltiples estudios a favor y en contra de la misma con esta aplicación.

Su uso como cribado en este tipo de procedimientos para mejorar las tasas de éxito sigue siendo controvertido. Puede tener cabida si consideramos que disminuye el tiempo y el número de transferencias necesarias para conseguir un embarazo, pero los pacientes deben de ser conscientes de las ventajas y limitaciones de la técnica, y por supuesto nosotros debemos de realizar una individualización cuidadosa en función del perfil del paciente.

El tratamiento de reproducción asistida con mayor éxito que existe hoy en día es la **ovodonación**, pero el análisis genético de los embriones ha conseguido aumentar considerablemente la tasa de embarazo por transferencia. Esto ha dado la oportunidad a mujeres con edad materna avanzada de poder quedarse embarazadas con sus propios óvulos.

Además, la FIV con PGT ha permitido disminuir el número de transferencias embrionarias destinadas al fracaso, lo cual supone una **ventaja** tanto **psicológica** como **económica**.

El **inconveniente** de todo esto, sin embargo, es que también aumenta el número de **ciclos cancelados** debido a que no se obtienen embriones sanos para la transferencia. El PGT encarece y hace el procedimiento más complejo.

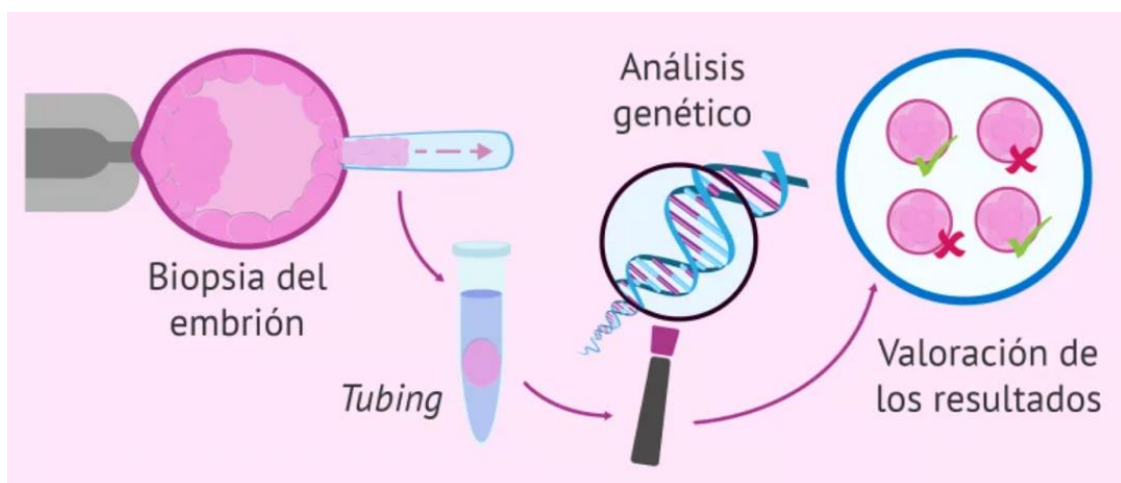
3. PROCEDIMIENTO

Se podrá realizar TGP a los embriones obtenidos por medio de estimulación ovárica y FIV. Por tanto, el primer paso sería hacer una **estimulación ovárica** que permita obtener un número elevado de óvulos para fecundar.

Tras la **punción ovárica** para la obtención de los óvulos, se procede a fecundarlos mediante la técnica de **ICSI** (microinyección intracitoplasmática de espermatozoides) para la obtención de embriones.

Los **pasos** para hacer el PGT en cada uno de los embriones son los siguientes:

1. Biopsia embrionaria: se hace un agujero mediante un láser o sustancias químicas en la zona pelúcida del embrión para extraer una o dos células, si el embrión tiene 3 días, o varias células del trofoectodermo en el caso de los blastocistos.
2. Tubing o entubado: las células extraídas se colocan en un tubo con mucha delicadeza. Posteriormente, se extraerá el material genético que contiene cada célula en su interior.
3. Análisis del ADN extraído: existen varias técnicas como el FISH, el array de CGH, la PCR o la secuenciación.
4. Valoración de resultados: se identifican los embriones genéticamente sanos y aquellos que presentan alteraciones en su material genético, valorando en cada caso qué embriones resultan aptos o no para la transferencia embrionaria.



Cabe destacar que la transferencia de embriones (**TE**) puede hacerse en fresco o en ciclo diferido. Esto dependerá del tiempo necesario para la obtención de los resultados del análisis genético, siendo bastante habitual que los embriones aptos se vitrifiquen y la TE se realice en diferido.

3.1. BIOPSIA EMBRIONARIA

La biopsia embrionaria es el proceso de extracción de una o varias células para analizar el material genético de dichos embriones.

La **viabilidad** del **embrión** puede verse comprometida con esta biopsia, ya que el hecho de perder una célula puede suponer demasiado estrés para él y que no sobreviva. Por ello, es necesario que esta extracción celular sea realizada por personal de laboratorio altamente especializado y con experiencia.

La biopsia embrionaria habitualmente suele hacerse **en día 3 o en día 5-6 de desarrollo embrionario**. En todos estos casos, es imprescindible que la fecundación tenga lugar a través de una ICSI, ya que, en la FIV convencional, hay espermatozoides y células de la granulosa adheridos a la zona pelúcida del embrión. Esto supone un riesgo de contaminación de las blastómeras extraídas y, por tanto, el TGP podría dar un resultado erróneo.

3.1.1 Biopsia de blastómera en día +3

Al tercer día de desarrollo embrionario, los embriones de buena calidad suelen tener **8 células** (entre 6 - 10 células en función de su ritmo de división).



Por esta razón, si la biopsia se hace en este preciso momento, solamente se extraerá **una sola célula** del embrión, o como máximo 2, con el fin de no comprometer su viabilidad.

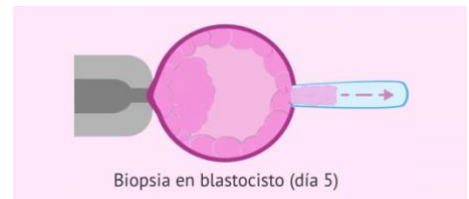
Durante el procedimiento, se realiza un **orificio en la zona pelúcida** del embrión mediante pulsos de láser o agentes químicos, como el ácido Tyrodes. Una vez realizado este orificio, se extrae la blastómera **por aspiración**.

Después de la biopsia embrionaria, existen dos **opciones** posibles para los embriones:

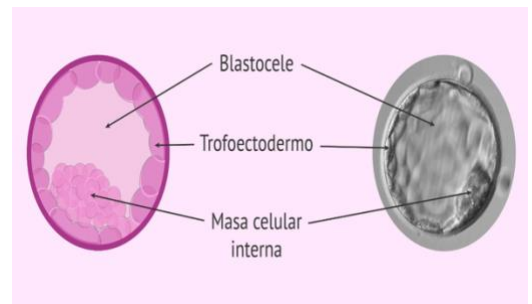
- Cultivo a blastocisto: los embriones se dejan en cultivo para que continúen su evolución mientras se esperan los resultados del análisis genético. Por tanto, la transferencia embrionaria será en estado de blastocisto. (En fresco o diferido).
- Vitrificación de embriones: los embriones se congelan después de la biopsia para ser transferidos en un ciclo posterior. (Diferido).

3.1.2 Biopsia de trofoectodermo en día +5

Al quinto día de desarrollo, el embrión ya se ha convertido en lo que se conoce como **blastocisto**. Éste es un embrión más grande, compuesto por multitud de células y con **3 partes diferenciadas**:



- Masa celular interna (MCI): da lugar al futuro **feto**.
- Blastocelo: es una **cavidad interna llena de líquido**.
- Trofoectodermo: es una capa externa que origina la **placenta** y otras **estructuras extraembrionarias**.



Aunque se trata de poblaciones celulares

diferentes, tanto las células de la MCI como del trofoectodermo tienen el mismo material genético. Por tanto, es posible extraer unas pocas células de esta capa externa para analizarlas.

En este caso, sí será necesario vitrificar los embriones después de la biopsia para transferirse en un futuro ciclo, ya que los resultados del análisis genético tardan varios días y no sería viable dejar los embriones en cultivo.

3.2. PGT- A

Las **aneuploidías** son las alteraciones en el número o en la estructura de los cromosomas, teniendo en cuenta que la dotación cromosómica normal del ser humano es de **46 cromosomas**. Por tanto, la ganancia o la pérdida de un cromosoma, así como cambios en su estructura, son anomalías que pueden dar lugar a embriones no viables o a recién nacidos con cromosopatías como el síndrome de Down.

Las principales pruebas genéticas utilizadas para su detección son:

- **Estudio FISH:** hibridación in situ fluorescente. Únicamente permite analizar ciertas regiones de 9 cromosomas (13, 15, 16, 17, 18, 21, 22, X e Y). A día de hoy está siendo reemplazada por otras técnicas que permiten un análisis genético completo del embrión.
- **Arrays de hibridación genómica comparada:** o A-CGH, que permite realizar un screening cromosómico completo, analizando los 23 pares de cromosomas en busca de regiones con alteraciones. Es más resolutive que la FISH, pero solo realiza comparaciones cuantitativas (duplicaciones o deleciones), sin detectar alteraciones como las inversiones o las traslocaciones.

3.3. PGT-M

Las enfermedades monogénicas son aquellas causadas por mutaciones en un **único gen** como, por ejemplo, la fibrosis quística, la hemofilia o el síndrome de X frágil.

Son enfermedades hereditarias que se transmiten **de padres a hijos**. Una vez localizada la mutación y determinado el tipo de herencia, es posible hacer un estudio a los embriones con las siguientes herramientas genéticas:

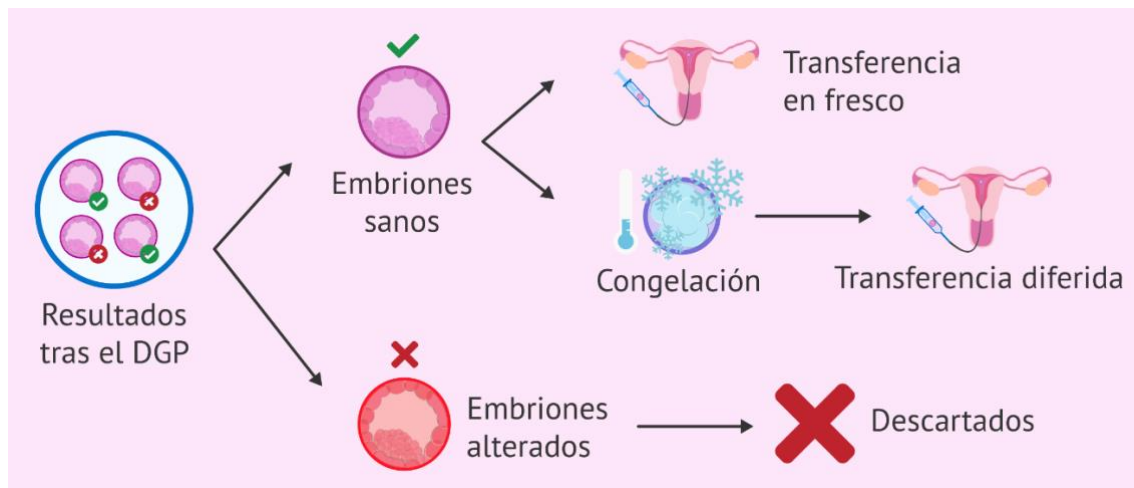
- **PCR:** reacción en cadena de polimerasa. Consiste en la amplificación de secuencias de ADN específicas para su posterior análisis y localización de las posibles mutaciones que dan lugar a las enfermedades monogénicas.
- **Secuenciación masiva** (o NGS por sus siglas en inglés): Permite estudiar los 23 pares de cromosomas con mayor resolución, y analizar más de 500 genes asociados a enfermedades hereditarias; además ocupa menor tiempo de análisis (esto en ocasiones evita tener que congelar los embriones) y permite analizar a la vez un alto número de muestras (lo que hace el coste del análisis más asequible).

3.4. TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

Una vez obtenidos los resultados, los **embriones “aptos”** serán transferidos al útero materno o vitrificados. Los embriones **“no aptos”** serán descartados.

En el caso de realización de biopsia en día 3 y tengamos los resultados del análisis en el mismo ciclo, la TE se realizará en **fresco**. En el caso de que la TE sea **diferida**, la preparación endometrial puede realizarse con ciclo **natural** o **sustituido**.

Actualmente la tendencia es a transferir **un solo embrión**.



4. ENFERMEDADES DETECTABLES

Cabe destacar que las alteraciones en el ADN de un ser humano pueden diferenciarse entre:

- Alteraciones genéticas: afectan a uno o varios genes.
- Alteraciones cromosómicas: afectan a uno o varios cromosomas.

4.1 ENFERMEDADES DE ORIGEN GENÉTICO

Las enfermedades genéticas son aquellas causadas por la mutación del genoma en la secuencia de un solo gen (alteraciones **monogénicas**) o de varios genes (alteraciones **poligénicas**).

Además, si la mutación está presente en las células germinales del ser humano, es decir, en los óvulos y/o espermatozoides, estas enfermedades serán **transmitidas** a la descendencia.

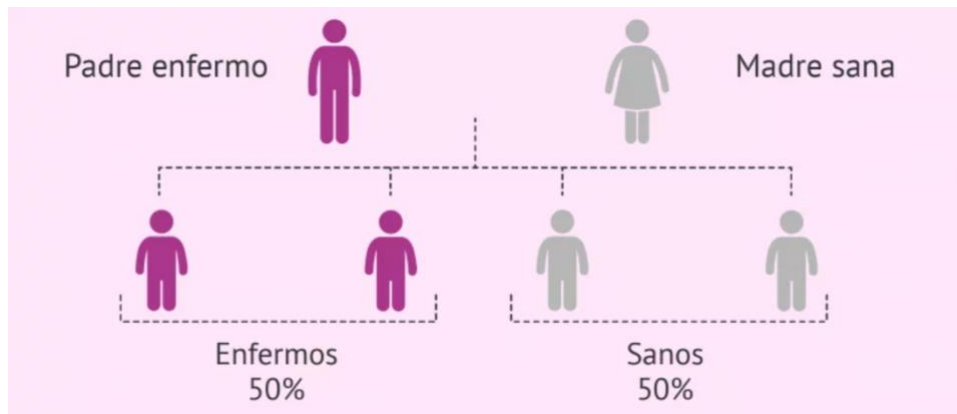
La probabilidad de heredar una alteración genética depende del tipo de herencia de cada patología:

4.1.1 Autosómicas dominantes

Son aquellas alteraciones que afectan a los cromosomas no sexuales. La persona sufrirá la enfermedad al heredar una sola copia del gen defectuoso por parte de uno de los padres, que será enfermo también.

La probabilidad de transmitir la enfermedad de un padre afectado a sus hijos es del **50%**.

Algunos **ejemplos** de las enfermedades autosómicas dominantes más características son la acondroplasia, la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, la esclerosis tuberosa, la poliquistosis renal ligada a gen PKD1-2, la retinosis pigmentaria, la distrofia miotónica de Steinert o los síndromes de Noonan y Von Hippel-Lindau...

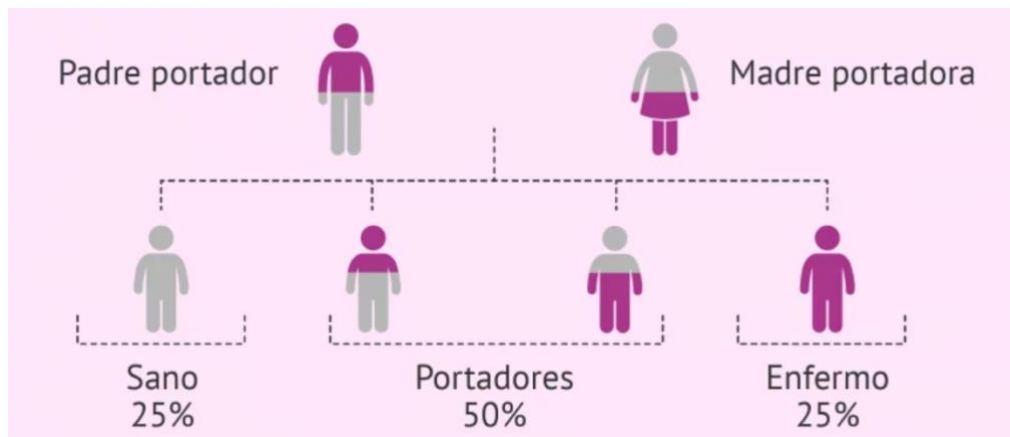


4.1.2. Autosómicas recesivas

Del mismo modo que el caso anterior, son alteraciones que afectan a los cromosomas no sexuales. En cambio, para que una persona sufra la enfermedad, debe heredar las dos copias del gen defectuoso, una del padre y una de la madre.

En caso de heredar una copia normal y otra defectuosa, será solamente portador de la alteración genética. Los portadores no padecen la enfermedad, pero sí la posibilidad de transmitirla a la descendencia.

La probabilidad de tener un hijo enfermo si los padres son portadores es del **25%**, mientras que existe un 50% de posibilidades de que sea portador de la mutación.



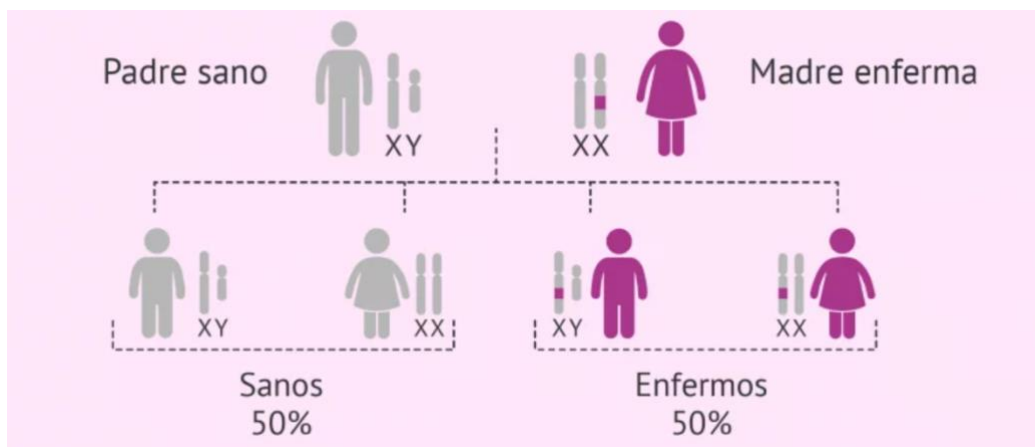
Algunos **ejemplos** de las enfermedades autosómicas recesivas más características son la ataxia de Friedrich, la anemia de Fanconi, la atrofia muscular espinal (AME), las talasemias, la fibrosis quística...

4.1.3. Ligadas a cromosoma X dominantes

Son mutaciones que afectan a genes localizados en el cromosoma sexual X. Al ser dominantes, estas enfermedades se manifiestan tanto en hombres como en mujeres.

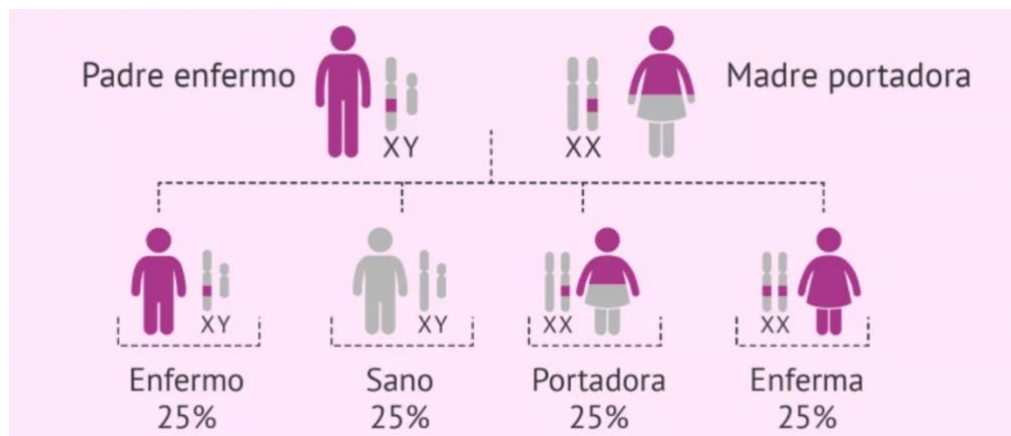
Las mujeres enfermas tienen una probabilidad del **50%** de transmitir la enfermedad a todos sus hijos e hijas. Los hombres afectados, en cambio, la transmiten **siempre** a sus **hijas**, mientras que los hijos varones serán sanos. Este tipo de herencia es muy poco frecuente. Algunas de las más frecuentes son el síndrome de Fabry o el síndrome de Rett.

La frecuencia de estas enfermedades es mayor en las **mujeres** que en los hombres debido al tipo de herencia. Sin embargo, la gravedad de los síntomas es mucho mayor en los **varones** por tener solo una copia del cromosoma X.



4.1.4. Ligadas a cromosoma X recesivas

También son mutaciones que afectan a genes localizados en el cromosoma sexual X. Al ser recesivas, será necesario que la mujer herede ambas copias defectuosas por parte de los padres para padecer la enfermedad. Si solo heredan una de las copias, las mujeres son portadoras de estas enfermedades. En cambio, como los hombres solamente tienen un cromosoma X, siempre presentarán la enfermedad, aunque solo reciban una copia.



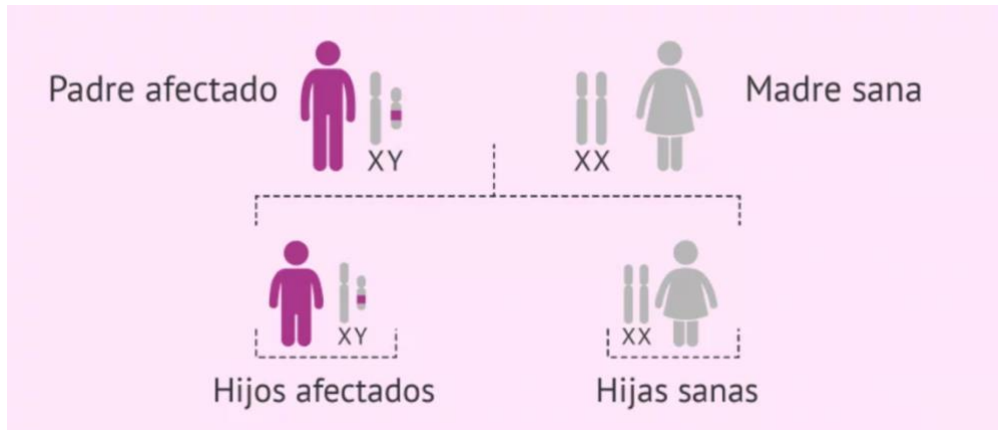
Entre las enfermedades ligadas al cromosoma X recesivas más frecuentes podemos encontrar la adrenoleucodistrofia, las distrofias musculares de Duchenne y Becker, la hemofilia, el síndrome de Alport, el síndrome de X frágil o el síndrome de Lesch-Nyhan.

4.1.5. Ligadas a cromosoma Y

Son mutaciones que afectan a genes localizados en el cromosoma sexual Y. Este tipo de herencia se conoce como **herencia holándrica**.

Como el cromosoma Y solo está presente en el sexo masculino, todos los hijos varones de padres afectados padecerán la enfermedad y tendrán riesgo de transmitirla a sus futuros hijos.

Son muy **raras**. Una de las más destacadas es la infertilidad por microdeleciones del cromosoma Y.



4.2. ENFERMEDADES DE ORIGEN CROMOSÓMICO

Las enfermedades cromosómicas, también llamadas **cromosomopatías**, son aquellas que afectan al número o a la estructura de los cromosomas.

Al igual que ocurría con las enfermedades genéticas, este tipo de anomalías pueden ser hereditarias. No obstante, también pueden ser producto de una meiosis defectuosa, lo cual resulta en ovocitos o espermatozoides anómalos.

Las causas de los defectos en la meiosis son varias: mujer mayor de 38 años, tratamientos contra el cáncer, drogas, etc.

Algunas alteraciones cromosómicas son compatibles con la vida, dando lugar a individuos con diferentes grados de afectación en función del cromosoma alterado. Otras, en cambio, son incompatibles con la vida y originarán embriones que no implantarán o que provocarán abortos recurrentes.

A continuación, vamos a comentar los tipos de alteraciones cromosómicas que existen:

4.2.1. Alteraciones numéricas

La dotación cromosómica del ser humano es de 46 cromosomas, 23 provienen de la madre y 23 del padre.

Las alteraciones en el número de cromosomas que presenta cada individuo se conocen como aneuploidías y existen los tipos siguientes:

- **Monosomías**: la persona presenta un cromosoma de menos. El caso más destacado es el **síndrome de Turner**, en el que la mujer sólo tiene un cromosoma sexual X (cariotipo 45, X0).

- **Trisomías:** la persona presenta un cromosoma de más. Los ejemplos más frecuentes son los siguientes: el **síndrome de Down** (tres cromosomas 21), **síndrome de Patau** (tres cromosomas 13), **síndrome de Edwards** (tres cromosomas 18), **síndrome de Klinefelter** (cariotipo 47, XXY).

Mientras que las cromosopatías que acabamos de comentar son compatibles con la vida, otras como la trisomía 15 o la trisomía 22 no lo son.

Hasta el 60% de los abortos en el primer trimestre de embarazo se deben a una aneuploidía, al igual que el 6% de los mortinatos.

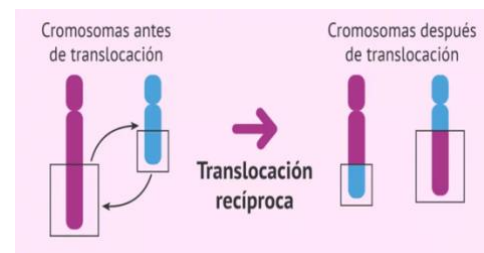
4.2.2. Alteraciones estructurales

Las alteraciones estructurales de los cromosomas son aquellas en las que ha habido una rotura y reorganización de fragmentos cromosómicos.

Los tipos que existen son los siguientes:

- **Translocaciones:** transferencia de un fragmento de un cromosoma a otro.

Las translocaciones pueden ser equilibradas, cuando el cambio en la estructura no produce pérdida ni ganancia de material genético, o desequilibradas, cuando hay pérdida o ganancia de ADN.



También existe un tipo de translocación, la

translocación robertsoniana, en la que dos cromosomas acrocéntricos se fusionan, lo cual implica un riesgo de transmitir trisomías.

- **Inserciones:** un fragmento de cromosoma se traslada al interior de otro cromosoma.
- **Inversiones:** implica un reordenamiento intracromosómico, es decir, un fragmento de cromosoma se invierte.
- **Cromosoma en anillo:** se rompen los extremos del cromosoma y éste se circula. Tiene efectos graves porque el cromosoma afectado puede quedar inactivo.

5. RESULTADOS PGT

Después de obtener el informe de resultados del PGT, el embriólogo se puede encontrar con las siguientes **situaciones:**

- Embrión apto: el embrión no tiene la alteración genética estudiada. Este embrión se puede transferir.
- Embrión no apto: el embrión presenta alguna aneuploidía o mutación genética. Este embrión no se puede transferir.
- Embrión mosaico: el embrión presenta algunas células sanas y algunas células enfermas. En función de los cromosomas implicados, del grado de mosaicismo y del número de embriones sanos disponibles, el médico valorará si transferir este embrión o no.
- Embrión no informativo: ha habido un fallo en el análisis genético y el embrión no se ha podido analizar. No se sabe si está sano o enfermo. El médico tendrá que valorar qué hacer con este embrión en función del número de embriones sanos disponibles.



El porcentaje de embriones sanos tras realizar el PGT va a depender de la alteración genética estudiada y del tipo de herencia.

5.1. RESULTADOS

La probabilidad de obtener una gestación tras PGT + TE, va a depender de los siguientes factores:

- **Experiencia del embriólogo** para realizar la biopsia embrionaria.
- **Número de células analizadas.** Con la biopsia de blastocistos se obtiene un mayor número de células para analizar y la fiabilidad del resultado es mayor.
- **Número de ovocitos extraídos.**
- **Número de embriones obtenidos.**
- **Técnica utilizada** para analizar el material genético de las células biopsiadas. La **secuenciación masiva** es la técnica más fiable hoy en día.

- **Calidad de los embriones analizados.** Los embriones de mejor calidad tienen una tasa mayor de supervivencia.
- **Capacidad de los embriones para recuperarse de la biopsia.** Los embriones en estado de blastocisto tienen una capacidad mayor de recuperación porque cuentan con un mayor número de células.
- **Transferencia de los embriones en fresco o vitrificados.**
- En el caso de enfermedades genéticas hereditarias, la probabilidad de obtener embriones genéticamente sanos va a depender del tipo de **herencia: dominante o recesiva.**
- Por último, al igual que en el resto de técnicas de reproducción asistida, el factor más importante que determinará el éxito del tratamiento es la **edad de la mujer.** Las mujeres más jóvenes tienen más probabilidades de obtener embriones cromosómicamente normales.

5.2. ESTADÍSTICAS

El PGT es una técnica complementaria que cada vez se está usando de forma más rutinaria en todos los laboratorios de FIV.

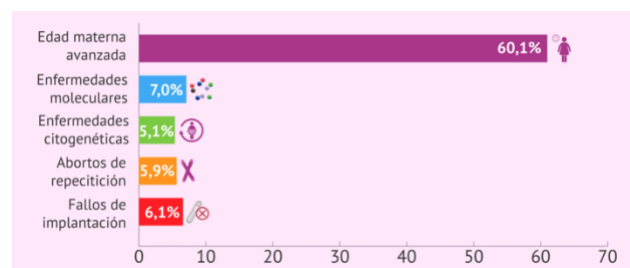
En el año 2021, tuvieron lugar en España 17.828 ciclos iniciados de FIV para PGT, 4.675 más que en el año 2020.

5.2.1. Indicaciones

No todas las parejas que se someten a una fecundación in vitro recurren al PGT. El aumento en las tasas de embarazo y parto se observa de forma más evidente en aquellas parejas que presentan una indicación.

En el año 2021, el registro de la Sociedad Española de Fertilidad publicado, recoge las principales **causas** de indicación de la FIV con PGT que, de mayor a menor, fueron las siguientes:

- **Edad materna avanzada** (60,2%).
- **Enfermedades moleculares** (7,0%).
- **Fallo de implantación** (6,1%).
- **Abortos de repetición** (5,9%).



- **Enfermedades citogenéticas** (5,1%).
- El porcentaje restante de los casos indicados de FIV con PGT es debido a **otras indicaciones** diferentes.

5.2.2. Porcentajes de éxito PGT

Existen muchas maneras de expresar las **tasas de éxito** de una técnica de reproducción asistida.

Según el último registro de la SEF en 2021:

- **Tasa de embarazo:** 52,9% (embarazos por transferencia embrionaria).
- **Tasa de parto:** 42% (partos por transferencia embrionaria).
- **Tasa de parto único:** 97,35% (partos únicos por número de partos totales).
- **Tasa de parto gemelar:** 2,5% (partos gemelares por número de partos totales).
- **Tasa de aborto:** 16% (abortos por número de embarazos, excepto gestaciones con evolución desconocida).

Por último, es importante tener en cuenta que el hecho de obtener embriones sanos en el PGT no asegura al 100% que estos vayan a implantar y dar lugar a una gestación, ya que aquí entran en juego otros factores, como el **estado del endometrio**.

6. CONCLUSIONES

En la actualidad, el PGT se ha convertido en una parte intrínseca de la medicina reproductiva y se suma a las opciones preventivas que se les ofrece a parejas con antecedentes personales o familiares de enfermedades hereditarias graves. También es útil como herramienta de mejora de las opciones reproductivas en grupos específicos de parejas con subfertilidad o riesgo incrementado para tener embriones con alteraciones cromosómicas.

El **futuro del PGT** busca integrar los nuevos conocimientos y desarrollos en metodologías de **alto rendimiento genético**, como las plataformas de **ultrasecuenciación** de nueva generación, junto con los avances en técnicas de

reproducción asistida (TRA) para conseguir mejorar las opciones reproductivas de todas las parejas que acuden a las clínicas de reproducción asistida.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Theobald R, SenGupta S, Harper J. The status of preimplantation genetic testing in the UK and USA. *Hum Reprod.* 2020;35(4):986-98.
2. Greco E, Litwicka K, Minas MG, Cursio E, Greco PF, Barillari P. Preimplantation Genetic Testing: Where We Are Today. *Int J Mol Sci.* 2020 Jun 19;21(12):4381.
3. Viotti M. Preimplantation Genetic Testing for Chromosomal Abnormalities: Aneuploidy, Mosaicism, and Structural Rearrangements. *Genes (Basel).* 2020;11(6):602.
4. De Rycke M, Berckmoes V. Preimplantation Genetic Testing for Monogenic Disorders. *Genes (Basel).* 2020;11(8):871.
5. Sociedad Española de Fertilidad. Registro Nacional de Actividad 2021-Registro SEF. Última consulta realizada: 12/12/2023. PDF disponible para descarga en: https://www.registrosef.com/public/docs/sef2021_IAFIV.pdf
6. Ley 14/2006 de 26 de mayo sobre Técnicas de Reproducción Asistida. Última consulta realizada: 12/12/2023. PDF disponible para descarga en: <https://cnrha.sanidad.gob.es/normativa/nacional.htm>
7. Lozano MD, García Lozano JC, Antiñolo G. PGD en el Sistema Sanitario Público Andaluz. Web SSPA, 2021. Última consulta realizada: 12/12/2023. PDF disponible para descarga en: https://www.huvn.es/archivos/cms/ginecologia-y-obstetricia/archivos/publico/actividad_docente_e_investigadora/curso_de_actualizacion_en_obstetricia_y_ginecologia/curso_2016/reproduccion/11_diagnostico_genetico_preimplantacional_sspa.pdf
8. Ferrando M. Lo esencial en Medicina Reproductiva. IV.5 DGP y PGT-A. 2021;(4)178-189.