

SELECCIÓN DE EMBRIONES HUMANOS. DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIÓN

SELECT EMBRYOS. PREIMPLANTATION GENETIC DIAGNOSIS

Natalia López Moratalla

*Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular.
Universidad de Navarra. E-mail: natalialm@unav.es*

Marta Lago Fernández Purón

Enfermera de Ginecología. E-mail: mlago@yohoo.es

Esteban Santiago

*Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular.
Universidad de Navarra. E-mail: esantiago@unav.es*

Resumen

La posibilidad de detectar defectos cromosómicos o genéticos en embriones *in vitro*, asociada a las técnicas de Reproducción Humana Asistida antes de su posible transferencia a útero para completar su desarrollo, se presentó como una alternativa al aborto eugenésico. Y una opción para mujeres de edad avanzada para procrear, de evitar embarazos de embriones con defectos cromosómicos. El diagnóstico genético previo a la implantación (DGP) y el cribado de los embriones *in vitro* (por las siglas en inglés, PSC), ofrecen la imagen de la persona con discapacidad como un individuo a excluir de la sociedad. Supone una experimentación humana directa, sin fines terapéuticos ni para el embrión que se manipula, se elige o descarta según el diagnóstico, ni para avance de la medicina perinatal. Dado que estas técnicas permiten disponer de varios embriones, se ha generado además una eugenesia «positiva», que busca seleccionar unos embriones en función de terceros, por tener unas determinadas características, sexo, o carecer de posibles predisposiciones a enfermedades. Varios aspectos exigen el deber ético ineludible de informar sobre esta forma de eugenesia que, además de

serlo y destruir directa e intencionadamente la vida de seres humanos en sus primeras etapas, no cumple los requisitos mínimos de rigor de una investigación científica o biotecnológica. No se han realizado las pruebas previas en animales para validar las técnicas por lo que existen serios errores en el diagnóstico con falsos positivos y falsos negativos. Recientemente se ha podido constatar que algunos embriones desechados pueden eliminar sus defectos con el desarrollo dos días después de la biopsia. Por otra parte, todo el estudio acerca de qué puede o no diagnosticarse es retrospectivo y los daños irreversibles. Y, de especial importancia, es el hecho de que no se conoce con seguridad los efectos que la biopsia a un embrión de pocos días lleva consigo para los diagnosticados.

Palabras clave: diagnóstico genético preimplantación, cribado genético preimplantación, daños de la biopsia.

Summary

The ability to detect chromosomal or genetic defects in embryos in vitro, associated with assisted human reproduction techniques before his possible transfer to the uterus to complete its development was presented as an alternative to eugenic abortion. And an option for older women to procreate, to avoid pregnancy of embryos with chromosomal defects. Genetic diagnosis before implantation (PGD) and screening of embryos in vitro (by the acronym, PSC), offers the image of the disabled person as an individual excluded from society. It assumes a direct human experimentation without therapeutic purposes or to manipulate the embryo that is chosen or discarded according to diagnosis or for advancement in perinatal medicine. Because these techniques can have multiple embryos, eugenics has also generated a «positive eugenics» that seeks to select embryos according to a third party, having certain characteristics, sex, or lack of predisposition to disease. Several issues demand unavoidable ethical duty to report on this form of eugenics, in addition to be directly and intentionally directed to destroy human life in its early stages, and does not meet the minimum requirements of rigorous scientific research or biotechnology. There have been no previous animal tests to validate the techniques so that there are serious errors in diagnosis with false positives and false negatives. Recently it has been shown that some discarded embryos can eliminate their detected defects two days after the biopsy. Moreover, the study about what may or may not be diagnosed is retrospective and unrecoverable damage. And, of particular importance is the fact that it is not known with certainty the effects that an embryo biopsy may cause to those diagnosed.

Keywords: preimplantation genetic diagnosis, preimplantation genetic screening, damage in biopsy.

1. Técnicas de diagnóstico para selección de embriones: 10 años de historia

El diagnóstico genético previo a la implantación (DGP) se desarrolla por primera vez en Inglaterra en 1990, como parte del progreso de la medicina reproductiva y la biología molecular. Se presenta como opción al diagnóstico prenatal invasivo previo al parto para aborto eugenésico, al analizar genéticamente a los embriones resultantes de Fecundación in vitro (FIV) antes de su implantación.

Esta tecnología permite seleccionar los embriones generados *in vitro*, mediante la técnica de inyección intracitoplasmática de un espermatozoide (ICSI), que posean determinadas características, antes de llevar a cabo la transferencia a útero para continuar el desarrollo embrionario, y rechazar los que pudieran heredar un defecto genético, una predisposición genética o un sexo no deseado¹.

La biopsia se realiza generalmente el día 3 de vida, cuando el embrión alcanza el estado de ocho células antes de su compactación. Como alternativa la biopsia del trofodermo² del embrión en fase de blastocisto, 5º o 6º día, a fin de acceder a

un mayor número de células para el diagnóstico. Este es un tejido que dará lugar a áreas extraembrionarias, por lo que puede quedar intacta la masa celular interna del embrión. No obstante, este tejido por madurar rápidamente en estos primeros días de vida puede tener características diferentes a conjunto ordenado de células aún inmaduras.

El análisis genético se lleva a cabo en una o dos células mediante la técnica de hibridación in situ con fluorescencia (FISH) para análisis el diagnóstico celular de anomalías cromosómicas y enfermedades ligadas al sexo, o mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para diagnóstico molecular de enfermedades monogénicas. El análisis genético del primer o segundo corpúsculo polar se usa para estudiar la aportación genética de la madre.

Las indicaciones para llevarlo a cabo son anomalías cromosómicas, como las translocaciones Robertsonianas o recíprocas, enfermedades ligadas al sexo como el síndrome frágil X, distrofia muscular de Duchenne y la hemofilia, y enfermedades ligadas a un solo gen, tales como la fibrosis quística, beta-talasemia, distrofia miotónica, o la enfermedad de Huntington. No obstante, los estudios de lo que ocurre en la división meiótica durante la fecundación y la primera división mitótica, ha puesto de manifiesto la necesidad de analizar no solo el corpúsculo polar sino también el embrión para asegurar el diagnóstico de aneuploidías³,

1 Cfr. Revisions: Braude, P., Pickering, S., Flinter, F., Mackie Ogilvie, C. «Preimplantation genetic diagnosis». *Nat. Rev. Gen.* 3 (12), (2002), 941-952; Basille, C., Frydman, R., El Aly, A., Hesters, L., Fanchin, R., Tachdjian, G., Steffann, J., LeLor'h, M., Achour-Frydman, N. «Preimplantation genetic diagnosis: State of the art». *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 145 (1), (2009), 9-13; Kuliev, A., Verlinsky, Y. «Preimplantation genetic diagnosis in assisted reproduction». *Expert Rev. Mol. Diagn.*, 5, (2005) 499-505.

2 Dokras, A., Sargent, I.L., Ross, C., Gardner, R.L., Barlow, D.H. «Trophoblast biopsy in human blastocysts». *Hum. Reprod.* 5, (1990), 821-825.

3 Kuliev, A., Verlinsky, Y. «Meiotic and mitotic nondisjunction: lessons from preimplantation genetic diagnosis». *Hum. Reprod.* 10, (2004), 401-407.

cambio del número de cromosomas.

En el Cribado Genético Preimplantatorio (Screening Genético Preimplantatorio, PGS) los embriones se analizan para descartar los que porten aneuploidias y así mejorar las tasas de implantación en mujeres con edad materna avanzada⁴, fallos en las FIV previas, mujeres que presentan abortos de repetición o en los casos que hay un factor masculino severo. Con frecuencia en casos similares a los indicados se recurre a donantes de gametos en los procesos de reproducción asistida.

Un primer paso al desarrollo de esta tecnología se da en 1989 al realizar una biopsia del embrión humano para determinar el sexo mediante amplificación del DNA⁵. En 1990 se consigue un embarazo tras determinación del sexo por amplificación del DNA del cromosoma Y⁶. Ese mismo año se toma el corpúsculo polar para el análisis, posteriormente se transfiere el embrión y se produce embarazo⁷. En 1992 se toma biopsia y se analiza por co-amplificación del DNA del cromosoma

X e Y⁸. En 1995 se detectan aneuploidias en embriones antes de la implantación⁹.

La aplicación del diagnóstico previo a la implantación permitió el nacimiento tras la selección de embriones no portadores del defecto genético que origina talasemias¹⁰, anemia de Fanconi¹¹, o hemofilia¹². En 1992 nació seleccionado sin fibrosis quística un embrión sometido a DGP tras FIV¹³. El primer embarazo tras selección de un no afectado de anemia falciforme por PGD se lleva a cabo en 1999¹⁴ y en 2002 se consigue el primer nacimiento tras análisis PGD en el estado

4 Verlinsky, Y., Kuliev, A. «Preimplantation diagnosis of common aneuploidies in infertile couples of advanced maternal age». *Hum. Reprod.* 11, (1996), 2076-2077

5 Handyside, A.H., Pattinson, J.K., Penketh, R.J., Delhanty, J.D., Winston, R.M., Tuddenham, E.G. «Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification». *Lancet*. 18 (1), (1989), 347-9.

6 Handyside, A.H., Kontogianni, E.H., Hardy, K., Winston, R.M. «Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification». *Nature* 344, (1990), 768-70.

7 Verlinsky, Y., Ginsberg, N., Lifchez, A., Valle, J., Moise, J., Strom, C.M. «Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis». *Hum. Reprod.* 5, (1990), 826-829.

8 Grifo, J.A., Tang, Y.X., Cohen, J., Gilbert, F., Sanyal, M.K., Rosenwaks, Z. «Pregnancy after embryo biopsy and coamplification of DNA from X and Y chromosomes». *JAMA*, 268(6), (1992), 727-9.

9 Munné, S., Sultan, K.M., Weier, H.U., Grifo, J.A., Cohen, J., Rosenwaks, Z. «Assessment of numeric abnormalities of X, Y, 18, and 16 chromosomes in preimplantation human embryos before transfer». *Am J Obstet Gynecol.* 172(4 Pt 1), (1995), 1191-9; discussion 1199-201

10 Kuliev, A., Rechitsky, S., Verlinsky, O., Ivakhnenko, V., Cieslak, J., Evsikov, S., Wolf, G., Angastiniotis, M., Kalakoutis, G., Strom, C., Verlinsky, Y. «Birth of Healthy Children After Preimplantation Diagnosis of Thalassemias». *Journal of Assisted Reproduction and Genetic* 16 (4), (1999), 207-211.

11 Verlinsky, Y., Rechitsky, S., Schoolcraft, W., Strom, C., Kuliev, A. «Preimplantation diagnosis for Fanconi anemia combined With HLA matching». *JAMA* 285, (2001), 3130-3133.

12 Lavery, S. «Preimplantation genetic diagnosis: new reproductive options for carriers of haemophilia» *Haemophilia* 10, (Suppl. 4), (2004), 126-132.

13 Handyside, A.H., Lesko, J.G., Tarin, J.J., Winston, R.M., Hughes, M.R. «Birth of a normal girl after *in vitro* fertilization and preimplantation diagnostic testing for cystic fibrosis». *N. Engl. J. Med.* 327, (1992), 905-909.

14 Xu, K., Shi, Z.M., Veeck, L.L., Hughes, M.R., Rosenwaks, Z. «First unaffected pregnancy using preimplantation genetic diagnosis for sickle cell anemia». *JAMA* 281(18), (1999), 1701-6.

de blastocisto. El primer nacimiento tras DGP para retinoblastoma tiene lugar en 2004¹⁵.

Tras la biopsia de células del trofotodermo para DGP en 2005¹⁶, nace el primer embrión seleccionado sin beta-talasemia¹⁷. Desde 2008 se emplea la biopsia del trofotodermo que puede discriminar entre embriones en fase de blastocisto viables y no viables¹⁸.

A partir de 2004¹⁹ se tuvo la posibilidad de estudio del antígeno humano leucocitario (HLA) y se vio como una oportunidad para seleccionar los embriones compatibles con un hermano nacido enfermo al que poder donar tras su nacimiento células madre para un trasplante

de médula ósea o células madre de la sangre del cordón umbilical²⁰. Se ha usado también para analizar la posible predisposición, por los genes BRCA2, a ciertos tipos de tumores en 2009²¹.

Posteriormente aparecen nuevas técnicas ya que la técnica del FISH está limitada sólo a unos cuantos cromosomas en una sola célula. El cariotipo completo a nivel de una sola célula se lleva ahora a cabo por una hibridación comparativa del genoma (CGH). Permite el análisis del genoma completo para desequilibrios cromosómicos, aunque no se detectan poliploidias y translocaciones. El tiempo es demasiado largo, 72 horas, lo que se ha mejorado con el uso de microsecuencias de ADN²². Con la técnica así mejorada

15 Xu, K., Rosenwaks, Z., Beaverson, K., Cholst, I., Veeck, L., Abramson, D.H. «Preimplantation genetic diagnosis for retinoblastoma: the first reported liveborn». *Am J Ophthalmol.* 137(1), (2004), 18-23.

16 McArthur, S.J., Leigh, D., Marshall, J.T., de Boer, K.A., Jansen, R.P. «Pregnancies and live births after trophoctoderm biopsy and preimplantation genetic testing of human blastocysts». *Fertil Steril.* 84(6), (2005), 1628-36.

17 Kokkali, G., Vrettou, C., Traeger-Synodinos, J., Jones, G.M., Cram, D.S., Stavrou, D., Trounson, A.O., Kanavakis, E., Pantos, K. «Birth of a healthy infant following trophoctoderm biopsy from blastocysts for PGD of beta-thalassaemia major». *Hum Reprod.* 20(7), (2005), 1855-9.

18 Jones, G.M., Cram, D.S., Song, B., Kokkali, G., Pantos, K., Trounson, A.O. «Novel strategy with potential to identify developmentally competent IVF blastocysts». *Hum. Reprod.* 23, (2008), 1748-1759.

19 Van de Velde, H., Georgiou, I., De Rycke, M., Schots, R., Sermon, K., Lissens, W., Devroey, P., Van Steirteghem, A., Liebaers, I. «Novel universal approach for preimplantation genetic diagnosis of b-thalassaemia in combination with HLA matching of embryos». *Hum. Reprod.* 19 (3), (2004), 700-708; Verlinsky, Y., Rechitsky, S., Sharapova, T., Morris, R., Taranissi, M., Kuliev, A. «Preimplantation HLA testing». *JAMA* 291(17), (2004), 2079-85.

20 Kuliev, A., Rechitsky, S., Tur-Kaspa, I., Verlinsky, Y. «Preimplantation Genetics Improving Access to Stem Cell Therapy». *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1054, (2005), 223-227.

21 Sagi, M., Weinberg, N., Eilat, A., Aizenman, E., Werner, M., Girsh, E., Siminovskiy, Y., Abeliovich, D., Peretz, T., Simon, A., Laufer, N. «Preimplantation genetic diagnosis for BRCA1/2--a novel clinical experience». *Prenat Diagn.* 29(5), (2009), 508-13; Burton, A «Controversy surrounds the selection of embryos to avoid cancer». *National Lancet* 10, (2009), 549 (Special Report). Spits C, De Rycke M, Van Ranst N, et al. «Preimplantation genetic diagnosis for cancer predisposition syndromes». *Prenat Diagn* 27 (5), (2007), 447-456.

22 Wells, D., Levy, B. «Cytogenetics in reproductive medicine: the contribution of comparative genomic hybridization (CGH)». *Bioessays* 25(3), (2003), 289-300; Hu, D.G., Webb, G., Hussey, N. «Aneuploidy detection in single cells using DNA array-based comparative genomic hybridization». *Mol Hum Reprod* 10 (4), (2004), 283-9; Hu, D.G., Guan, X.Y., Hussey, N. «Gender determination and detection of aneuploidy in single cells using DNA array-based comparative genomic hybridization». *Methods Mol Med* 132, (2007), 135-51; Hellani, A., Abu-Amero, K., Azouri, J., El-Akoum, S. «Successful

de análisis del corpúsculo polar para aneuploidias²³, nace el primer niño tras selección, en 2010²⁴.

Y por último, se plantea para la selección de embriones un procedimiento no invasivo²⁵, consistente en analizar las proteínas segregadas (secretómica) y/o consumidas por el embrión preimplantación in vitro a fin de conocer su estado metabólico; y se plantea investigar además comparando los datos con el «implantoma», el perfil proteico del blastocisto cultivado durante varios días para conocer las interacciones con el epitelio uterino materno antes de su implantación.

2. Carencias y errores de la tecnología de DGP y PSC

Los datos del uso del DGP de los centros europeos asociados en Consorcio (ESHRE) se han recopilado y publicado como informes anuales, diez hasta ahora,

desde 1998 hasta 2010²⁶. Las tablas 1-3 incluyen un resumen de los datos del DGP, del PSC y selección de sexo, de los ocho primeros informes agrupados por años. Los datos de los cuatro informes desde inicio al año 2002 (I-IV) en la tabla 1, los del 2003 y 2004 (V-VI) en la tabla 2 y dos posteriores (VII-VIII) en la tabla 3.

El análisis de los resultados muestra que la tecnología es muy poco eficaz; los

pregnancies after application of array-comparative genomic hybridization in PGS-aneuploidy screening». *Reprod Biomed Online* 17 (6), (2008), 841-7.

23 Wells, D., Escudero, T., Levy, B., Hirschhorn, K., Delhanty, J.D., Munné, S. «First clinical application of comparative genomic hybridization and polar body testing for preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy». *Fertil Steril.* 78(3), (2002), 543-9.

24 Fishel, S., Gordon, A., Lynch, C., Dowell, K., Ndukwe, G., Kelada, E., Thornton, S., Jenner, L., Cater, E., Brown, A., Garcia-Bernardo, J. «Live birth after polar body array comparative genomic hybridization prediction of embryo ploidy-the future of IVF?» *Fertil Steril.* 93(3), (2010), 1006.e7-1006.e10.

25 Dominguez, F., Pellicer, A., Simón, C. «The Human Embryo Proteome». *Reproductive Sciences* 16, (2009), 189-190.

26 ESHRE PGD Consortium Steering Committee. «ESHRE preimplantation Genetic Diagnosis (PGD) Consortium: preliminary assessment of data from January 1997 to September 1998». *Hum Reprod* 14, (1999), 3138-3148; ESHRE PGD Consortium Steering Committee. «ESHRE Preimplantation Genetic Diagnosis (PGD) Consortium: data collection II (May 2000)». *Hum Reprod* 15, (2000), 2673-2683; ESHRE PGD Consortium Steering Committee. «ESHRE Preimplantation Genetic Diagnosis Consortium: data collection III (May 2001)». *Hum Reprod* 17, (2002), 233-246; Sermon, K., Moutou, C., Harper, J., Geraedts, J., Scriven, P., Wilton, L., Magli, M.C., Michiels, A., Viville, S., De Die, C. «ESHRE PGD Consortium data collection IV: May-December 2001». *Hum Reprod* 20, (2005), 19-34; ESHRE PGD Consortium data collection V: «Cycles from January to December 2002 with pregnancy follow-up to October 2003». *Hum Reprod* 21, (2006), 3-21; Sermon, K.D., et al. «ESHRE PGD Consortium data collection VI: cycles from January to December 2003 with pregnancy follow-up to October 2004». *Hum Reprod.* 22, (2007), 323-336; Harper, J.C., et al. «ESHRE PGD consortium data collection VII: cycles from January to December 2004 with pregnancy follow-up to October 2005». *Hum Reprod* 23 (4), (2008), 741-755; Goossens, V., «ESHRE PGD Consortium data collection VIII: cycles from January to December 2005 with pregnancy follow-up to October 2006». *Hum Reprod* 23 (12), (2008), 2629-2645; Goossens, V., et al. «2009 ESHRE PGD Consortium data collection IX: cycles from January to December 2006 with pregnancy follow-up to October 2007». *Hum Reprod* 24 (8), (2009), 1786-1810; Harper, J.C. et al. «ESHRE PGD consortium data collection X: cycles from January to December 2007 with pregnancy follow up to October 2008». *Human Reproduction*, 25, (2010), 2685-2707.

datos de éxito son muy bajos y el embrión seleccionado sufre otros defectos por la manipulación. Con la publicación en 2008 del Informe VIII se plantean recomendaciones para un trabajo riguroso y un examen de hacia donde se está yendo y hacia donde se requiere ir. Comentamos resumidamente el contenido de los ocho informes con referencia al DGP. PSC y la selección de sexo.

A lo largo del tiempo ha aumentado el número de centros y el número de ciclos de fecundación *in vitro* por ICSI en los que se realiza DGP para detectar embriones con cualquiera de las tres indicaciones: anomalías cromosómicas, enfermedades ligadas al sexo y enfermedades monogénicas. Las tasas de éxito no han mejorado a lo largo del tiempo: aproximadamente cada año, un 70% de los ciclos aporta embriones que pueden ser transferidos, de los que se implantan menos del 20% y nacen aproximadamente un 15% de los transferidos. Más de la mitad de los ciclos fueron de parejas con infertilidad.

Así por cada 2000 ciclos de los que resultan más de 15-16 mil embriones se consigue biopsia de unos 12.000. Se transfieren unos 3000 de los que se consiguen unos 400 embarazos y nacen unos 330 niños, algunos gemelos, unos pocos trillizos, de los que se destruyeron selectivamente por reducción embrionaria tanto para disminuir el parto múltiple o en el caso de que se detecten durante la gestación anomalías, como encefalopatía y espina bífida. Los embriones seleccionados y no transferidos se conservan tras congelación. Los defectuosos se descartan, en principio. De los recién nacidos

algunos presentaron malformaciones graves, otros más leves y varios mueren al nacer. Los que sobreviven mantienen un estado de salud similar a los nacidos por reproducción asistida, siempre peor que los engendrados naturalmente.

El número de ciclos dedicados a PSG ha crecido proporcionalmente más que el de los dedicados a DGP. En su mayor parte la indicación es la edad avanzada de la madre, abortos espontáneos y fallos de la FIV. La proporción de embarazos por ciclo es similar a las tasas de los ciclos de DGP.

Por último, en menos del 5% de los ciclos se realiza el DGP para selección del sexo. Los resultados en embarazo logrado fueron del mismo orden que en los otros diagnósticos. En el octavo informe se recogieron por primera vez los datos de la elección de sexo no por razones médicas; un total de 60 parejas preferían un varón y 19 preferían una niña. En total llegaron a generar 644 embriones de los que de 445 se conoció el sexo y tan solo 92 fueron transferidos y 25 fueron congelados. El porcentaje de implantación fue del 23%.

El balance es muy negativo. Por una parte, los cálculos prevén que solamente se producirá una disminución de la tasa de algunas enfermedades cercana al 1%. Por otra, se tienen datos de errores de diagnóstico. En efecto en el octavo informe, por primera vez aparecen reseñados los errores diagnósticos que hay durante el mismo proceso.

Se han recogido 18 errores diagnósticos de los cuales 9 fueron después de un ciclo de DGP con PCR y los otros 9 tras un ciclo de DGP o SGP usando la FISH.

Aparecieron trisomías en el cromosoma 13 en un caso de estudio por DGP, dos casos de trisomía del par 16 en SGP en el caso de edad materna avanzada. El estudio alude a que una posibilidad del error diagnóstico podría ser que durante el proceso de los ciclos de DGP y SGP que las parejas tuvieran relaciones sin medidas de anticoncepción pudiéndose producir embarazos de forma natural y que se hubieran recogido esos datos como si fuese un embarazo asistido tras las técnicas de selección de embriones. Los errores diagnósticos encontrados fueron también adjudicados a errores humanos muy posibles debido a que normalmente sólo se analiza una célula.

El Consorcio pone en marcha el trabajo de un grupo de estudio de errores del diagnóstico²⁷ y otro de confirmación del diagnóstico en los embriones no transferidos.

Y emerge al fin la duda más grave hasta entonces intentada ignorar. Ante la frecuencia de muerte perinatal de los embriones seleccionados y su estado de salud, podría no ser válido el procedimiento, al menos tal como se lleva en muchos de los centros.

Entre otras medidas, se plantea la necesidad de unificar el proceso de diagnóstico en un solo centro para que haya el menor número posible de sesgos dentro de los estudios, ya que muchas parejas se someten a la ICSI o FIV en un centro y al DGP en otro.

27 Wilton, L., Thornhill, A., Traeger-Synodinos, J., Sermon, K.D., Harper, J.C. «The causes of misdiagnosis and adverse outcomes in PGD». *Hum Reprod* 24, (2009), 1221-1228.

El Consorcio propuso centrar sus actividades en varios objetivos:

- 1) un seguimiento por los pediatras de los de los niños seleccionados por PGD.
- 2) la creación de un control externo de la calidad de la técnica que usa una sola célula para análisis por PCR y FISH.
- 3) la exigencia de seguir las guías para PGD preparadas ya en 2005²⁸.

Puesto que no todos los centros acogidos al Consorcio estaban dando los datos anuales, el Consorcio recomienda que en el siguiente informe, el IX, se analice qué centros dan los datos de acuerdo con la guía.

3. Indicaciones para el cribado genético previo a la implantación

Desde 1997 en que se plantea el PGS usando embriones muy tempranos²⁹ y el corpúsculo polar³⁰ esta tecnología se ha establecido en los centros de FIV de todo

28 Thornhill, A.R., deDie-Smulders, C.E., Geraedts, J.P., Harper, J.C., Harton, G.L., Lavery, S.A., Moutou, C., Robinson, M.D., Schmutzler, A.G., Scriven, P.N., et al. «ESHRE PGD Consortium 'best practice guidelines for clinical preimplantation genetic diagnosis (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS)». *Hum Reprod* 20, (2005), 35-48.

29 Gianaroli, L., Magli, M.C., Munné, S., Fiorentino, A., Montanaro, N., Ferraretti, A.P. «Will preimplantation genetic diagnosis assist patients with a poor prognosis to achieve pregnancy?» *Hum Reprod* 12, (1997), 1762-1767.

30 Munné, S., Dailey, T., Sultan, K.M., Grifo, J., Cohen, J. «The use of first polar bodies for preimplantation diagnosis of aneuploidy». *Hum Reprod* 10, (1995), 1015-1021; Verlinsky, Y., Cieslak, J., Freidline, M., Ivakhnenko, V., Wolf, G., Kovalinskaya, L., White, M., Lifchez, A., Kaplan, B., Moise, J., et al. «Pregnancies following preconception diagnosis of common aneuploidies by fluorescent in-situ hybridization». *Hum Reprod* 10, (1995), 1923-1927.

el mundo³¹. El incremento del número de ciclos descrito por los informes del Consorcio «the ESHRE PGD» ha crecido desde 116 a cerca de 4000 en los años transcurridos.

La mayoría de los ciclos con cribado corresponden a mujeres de edad avanzada para la procreación³². El sistema de análisis ha resultado incapaz de detectar las alteraciones que se buscan. Por una parte, se han hecho con datos de biopsias de embriones de 3 días y no de blastocistos³³. Por otra, el elevado nivel de mosaicismo cromosómico en las primeras divisiones ha hecho que una célula no sea representativa del embrión. Además, se ha usado la técnica de fluorescencia que es incapaz de examinar todos los cromosomas³⁴.

Por todo ello, existe falta de seguridad del diagnóstico.

El re-análisis de 166 embriones no transferidos después de PGS por indicación de la avanzada edad de la madre³⁵ ha mostrado que un 4 % eran falsos positivos y otros tantos falsos negativos. El 34% de los positivos tenía al menos una célula con la misma alteración cromosómica que la diagnosticada inicialmente. Es decir, el PSG detecta anormalidad cromosómica en las células pero no determina la constitución cromosómica exacta del embrión. Se conoce que el PGS, de los primeros días y por FIS, para mujeres de edad avanzada (más de 35) no es válido para diagnóstico y debería ser reemplazado³⁶. La solución propuesta por el consorcio fue encontrar un sistema mejor diseñado y ejecutar mejor el diagnóstico.

4. Diez años después

El décimo informe³⁷ recoge los datos de 57 centros con un total de 5887 ciclos

31 Beyer, C.E., Osianlis, T., Boekel, K., Osborne, E., Rombauts, L., Catt, J., Kravlevski, V., Aali, B.S., Gras, L. «Preimplantation genetic screening outcomes are associated with culture conditions». *Hum Reprod* 24, (2009), 1212-1220.

32 Staessen, C., Platteau, P., Van Assche, E., 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* 19, (2004), 2849-2858; Collins, J.A. «Preimplantation genetic screening in older mothers». *N Engl J Med* 357 (2007), 61-63.

33 Jansen, R.P., Bowman, M.C., de Boer, K.A., Leigh, D.A., Lieberman, D.B., McArthur, S.J. «What next for preimplantation screening (PGS)? Experience with blastocyst biopsy and testing for aneuploidy». *Hum Reprod* 23, (2008), 1476-1478.

34 Vanneste, E., Voet, T., Melotte, C., Debrock, S., Sermon, K., Staessen, C., Liebaers, I., Fryns, J.P., D'Hooghe, T., Vermeesch, J.R. «What next for preimplantation genetic screening? High mitotic chromosome instability rate provides the biological basis for the low success rate». *Hum Reprod* 24, (2009), 2679-2682; Vanneste, E., Voet, T., Le Caignec, C., Ampe, M., Konings, P., Melotte, C., Debrock, S.,

Amyere, M., Vikkula, M., Schuit, F., et al. «Chromosome instability is common in human cleavage-stage embryos». *Nat Med* 15, (2009), 577-583.

35 Hanson, C., Hardarson, T., Lundin, K., Bergh, C., Hillensjo, T., Stevic, J., Westin, C., Sellskog, U., Rogberg, L., Wikland, M. «Re-analysis of 166 embryos not transferred after PGS with advanced reproductive maternal age as indication». *Hum Reprod* 24 (11), (2009), 2960-2964.

36 Harper, J., Coonen, E., De Rycke, M., Fiorentino, F., Geraedts, J., Goossens, V., Harton, G., Moutou, C., Pehlivan Budak, T., Renwick, P., SenGupta, S., Traeger-Synodinos, J., Vesela, K. «What next for preimplantation genetic screening (PGS)? A position statement from the ESHRE PGD Consortium steering committee». *Hum Reprod* 25 (4), (2010), 821-823.

37 Harper, J.C. et al. *Op.cit.* 27.

de recogida de oocitos, 1516 embarazos y 1206 niños nacidos. Del total de ciclos, los embriones de 729 se analizan para detectar anomalías cromosómicas; los de 110 ciclos para conocer el sexo para enfermedades ligadas al cromosoma X; 1203 para detectar enfermedades monogénicas y los embriones de 3753 ciclos para cribado. Y nada menos que de 92 ciclos se analiza el sexo, sin ningún motivo médico, sino por mera preferencia.

Los datos los compara con el resumen acumulativo de los informes I-IX. Como en los años anteriores se sigue produciendo un continuo aumento del número de ciclos de FIV en los que se realiza PGD. Los centros se clasifican en dos tipos: los de plena pertenencia al Consorcio que aportan sus datos todos los años y los centros asociados que no los dan sistemáticamente. Hay nuevas clínicas de FIV, que realizan los análisis con unidades que trabajan con un laboratorio de diagnóstico que es ya miembro del Consorcio, pero estos no pueden dar los datos de los ciclos.

La situación de los cinco grupos de trabajo creados por el Consorcio es, en 2011, la siguiente:

A: El grupo para la acreditación de los laboratorios ha realizado dos reuniones, con el patrocinio de la empresa EuroGentest, que comercializa los materiales para el diagnóstico. Publicó el proceso de acreditación en 2010 que se va a exigir a los centros de PGD³⁸, para asegurar la calidad de los procesos.

38 Harper, J.C., SenGupta, S., Vesela, K., Thornhill, A., Dequeker, E., Coonen, E., Morris, M.A. «Accreditation of the PGD laboratory». *Hum. Reprod.* 25 (4), (2010), 1051-1065.

B. El grupo de trabajo sobre errores de diagnóstico, auditoría y monitorización, publicó en 2009 un artículo sobre posibles causas de error de diagnóstico, como se ha comentado más arriba. Plantean que es esencial que todos los centros utilicen sus embriones no transferidos para validar y auditar los métodos que usan y así calcular la eficacia de sus técnicas.

C. El grupo de elaboración de guías ha publicado ya cuatro de ellas: para la organización de un centro de DGP/PGS, DGP basado en la amplificación y DGP basado en FISH³⁹ y una cuarta de las biopsias embrionarias⁴⁰.

D. El grupo de Bases de datos ha incluido los datos de embriones congelados.

E. Por último el grupo de trabajo de Métodos de Biología molecular, tiene una base de datos de los *primers* (cebadores para la replicación del DNA) solo disponible para los miembros de plena pertenencia al Consorcio, de forma que todo el conjunto pueda ser evaluado en los laboratorios individuales antes de su uso clínico.

En conclusión, parece, por todo ello, que el interés se centra en poner puertas

39 Harton, G.L., et al. «ESHRE PGD consortium best practice guidelines for organization of a PGD centre for PGD/preimplantation genetic screening» *Hum Reprod* 26, (2011), 14-4; Harton, G.L. «ESHRE PGD consortium best practice guidelines for amplification-based PGD» *Hum Reprod* 26, (2011), 33-0; Harton, G.L. «ESHRE PGD consortium best practice guidelines for fluorescence in situ hybridization-based PGD» *Hum Reprod* 26, (2011), 25-2.

40 Harton, G.L. «ESHRE PGD Consortium/Embryology Special Interest Group-best practice guidelines for polar body and embryo biopsy for preimplantation genetic diagnosis/screening (PGD/PGS)» *Hum Reprod* 26, (2011), 41-6.

al campo para que todos los centros trabajen con la supervisión del Consorcio, a fin de asegurar el buen uso de los materiales comercializados para las técnicas, y que no se desprestigie un sistema que supone a las empresas y a los centros unas ganancias económicas. Mientras, no se tienen en cuenta los graves problemas humanos de lesiones y muertes provocadas, de uso de embriones humanos vivos para validar unas técnicas, etc.

Es muy significativo el hecho ocurrido en julio de 2011. En la *reunión de la European Society of Human Reproduction and Embryology*, celebrada en Estocolmo⁴¹, se dio a conocer un estudio del equipo de Kearns que ponía de manifiesto que los embriones con células defectuosas a los tres días de vida, por tener cromosomas de más o de menos, pueden corregir realmente sus errores genéticos, dos días después. Ciertamente, son pocos los desechados y donados para la investigación que salen adelante, pero la mayoría de los que sobreviven son normales.

Esta posible recuperación de las células dañadas se trató ya en los años 90, pero no se quiso tener en cuenta. Ahora resulta difícil ignorarlo y debería suponer un cambio radical en el DGP. Todos están de acuerdo en que hay que investigar esta cuestión, hasta el punto de que se plantea el deber de congelar los embriones anormales de modo que permanezcan en un estado viable hasta que se sepa con seguridad que significa tal recuperación. Otros insisten en que se consiga pronto

una evidencia indiscutible de esos datos «si estamos dispuestos a seguir ayudando a la gente a tener niños sanos».

Lo que ocurre en esos dos días puede tener más de una explicación; es posible que las células anormales mueran o incluso sean expulsadas hacia la zona exterior del embrión, y dar lugar a los tejidos extraembrionarios. De hecho un porcentaje de células de la placenta poseen errores en el número de cromosomas sin que eso afecte al desarrollo embrionario.

Sea cual sea la causa del cambio, lo que es evidente es que la recuperación muestra que no hay un aumento de la probabilidad de éxito en el embarazo por practicar el diagnóstico genético preimplantatorio 3 días después de la fecundación y contar los cromosomas. Un mensaje que debe conocer la sociedad.

5. Daños por la biopsia en el contexto de la FIV

Varios estudios habían analizado el efecto de la biopsia, y congelación, de embriones humanos⁴² sin que pudieran

41 Maxmen, A. «Embryos Right Genetic Wrongs?» *The Scientist* 8 de julio 2011.

42 Hardy, K., Martin, K.L., Leese, H.J., Winston, R.M., Handyside, A.H. «Human preimplantation development *in vitro* is not adversely affected by biopsy at the 8-cell stage». *Hum Reprod* 5, (1990), 708-714; Joris, H., Van den Abbeel, E., Vos, A.D. Van Steirteghem, A. «Reduced survival after human embryo biopsy and subsequent cryopreservation». *Hum Reprod* 14, (1999), 2833-2837; Lee, M. Munne, S. «Pregnancy after polar body biopsy and freezing and thawing of human embryos». *Fertil. Steril.* 73, (2000), 645-647. Magli, M.C., Gianaroli, L., Ferraretti, A.P., Toschi, M., Esposito, F. Fasolino, M.C. «The combination of polar body and embryo biopsy does not affect embryo viability». *Hum Reprod* 19, (2004), 1163-1169. Nekkebroeck J, Bonduelle M, Desmyttere S, Van den Broeck W, Ponjaert- Kristoffersen I.

sacarse conclusiones acerca del posible riesgo de esa manipulación.

En 2010 se publica un artículo prospectivo que analiza comparativamente 581 niños nacidos entre 1992 y 2005 tras biopsia de blastómero para DGP⁴³, con los nacidos por FIV e ICSI en el mismo centro, en años parecidos⁴⁴. Alerta sobre el incremento de la muerte perinatal, bajo peso y prematuridad, en caso de embarazo múltiple, a causa de la biopsia. Otros estudios habían puesto de manifiesto esta tendencia⁴⁵ y se menciona en el informe octavo. Y en 2008 un estudio preliminar⁴⁶ ponía de manifiesto una tasa alta de malformaciones.

Esta investigación no aporta una conclusión definitiva debido a que hay muy pocos niños seguidos médicamente tras

nacer con esa biopsia, y los diferentes estudios han usado diferentes controles. Se está llevando a cabo una experimentación humana prospectiva que no respeta el primer principio esencial de investigación: estudios sistemáticos previos en animales.

Además, los estudios realizados en animales muestran un efecto negativo de la biopsia en el embrión. En ratón se ha descrito que hay enfermedades neurodegenerativas asociadas a la biopsia⁴⁷. Se han comparado mediante el análisis proteómico la expresión de genes entre ratones a los que se practicó biopsia con los que no y se han encontrado diferencia en 36 proteínas, asociadas al cerebro, además de hipomielinización de fibras nerviosas en el cerebro de los ratones sometidos a biopsia. La biopsia a estos ratones se tomó en el estado de 4 células, cuando el tiempo de la expresión de genes se asemeja al humano a los tres días en estado de 8 células⁴⁸.

Si bien los efectos negativos de la biopsia en la salud no se producen en la etapa previa a la implantación⁴⁹, la

«Mental and psychomotor development of 2-year-old children born after preimplantation genetic diagnosis/screening». *Hum Reprod* 23, (2008), 1560-1566.

43 Liebaers, I., Desmyttere, S., Verpoest, W., De Rycke, M., Staesse, C., Sermon, K., Devroey, P., Haentjens, P., Bonduelle, M. «Report on a consecutive series of 581 children born after blastomere biopsy for preimplantation genetic diagnosis» *Hum Reprod* 25 (1), (2010), 275-282.

44 Bonduelle, M., Liebaers, I., Deketelaere, V., Derde, M.P., Camus, M., Devroey, P., Van Steirteghem, A. «Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and of 1995 infants born after IVF (1983-1999)». *Hum Reprod* 17, (2002), 671-694.

45 Tur-Kaspa, I., Horwitz, A., Ginsberg, N., Cieslak, J., Rechinsky, S., Verlinsky, Y. «Clinical outcome of PGD». *Fertil Steril* 84(Suppl. 1), (2005), S99.

46 Banerjee, I., Shevlin, M., Taranissi, M., Thornhill, A., Abdalla, H., Ozturk, O., Barnes, J., Sutcliffe, A. «Health of children conceived after preimplantation genetic diagnosis: a preliminary outcome study». *Reprod Biomed Online* 16, (2008), 376-381.

47 Yu, Y., Wu, J., Fan, Y., Ly, Z., Guo, X., Zhao, C., Zhou, R., Zhang, Z., Wang, F., Xiao, M., Chen, L., Zhu, H., Chen, W., Lin, M., Liu, J., Zhou, Z., Wang, L., Huo, R., Zhou, Q., Sha, J. «Evaluation of blastomere biopsy using mouse model indicates the potential high-risk of neurodegenerative disorders in the offspring» *Mol Cel Proteomics* 8 (7), (2009), 1490-1500.

48 Majumder, S., Zhao, Z., Kaneko, K., DePamphilis, M.L. «Developmental acquisition of enhancer function requires a unique coactivator activity». *EMBO J.* 16, (1997), 1721-1731.

49 Magli, M.C., Gianaroli, L., Ferraretti, A.P., Toschi, M., Esposito, F., Fasolino, M.C. «The combination of polar body and embryo biopsy does not affect embryo viability». *Hum.Reprod.* 19, (2004), 1163-1169; Illmensee, K., Kaskar, K., Zavos, P.M. «Efficient blas-

comparación de los que se desarrollan después de que fueron sometidos a esa manipulación, presentan más taras que los no manipulados. Se admite un potencial efecto sobre el feto, .neonato y adulto por estas tecnologías.

Aunque es muy dudoso un análisis basado en el estudio de una sola célula, y persiste la sombra de un efecto negativo de la biopsia sobre el normal desarrollo fetal, hay un esfuerzo por encontrar salida a la aplicación de estas técnicas. Se trata de encontrar un equilibrio entre la autonomía de los progenitores y la obligación de los clínicos de tener en cuenta la salud de los niños que nacen como resultado de estas tecnologías⁵⁰.

6. Elección del sexo, o de otras características

La elección de sexo sin motivo «médico», esto es sin intención de eliminarlo en caso de que pudiera ser portador de determinadas enfermedades ligadas al sexo, se practica en múltiples centros de diversos países⁵¹. Hay una indiferencia al hecho de la selección sin más razones que la preferencia, si se compara con la posibilidad de abortarlo en fase fetal. La única objeción teórica para una selección caprichosa es que no conlleve

una intención discriminatoria por razón del sexo.

Un caso muy especial y altamente significativo de la incertidumbre que origina no poder saber dónde están los límites es el planteamiento de la pareja formada por Tomato Lichy y Paula Garfield, ambos sordos con una hija natural también sorda y que después de los 40 años de la mujer se plantean ir a FIV pero no por seleccionar un embrión sin taras cromosómicas sino por el deseo de selección de un hijo que sea también sordo⁵². Para ellos la comunidad de los sordos, con su lenguaje común de gestos, es un grupo minoritario como puedan ser otros en función del color de la piel o la raza. Perdido el concepto natural de discapacidad, la lógica aplastante lleva al planteamiento que mantienen: Si las personas que oyen tienen derecho a eliminar embriones sordos, deberíamos tenerlo también para desechar un embrión sin sordera. Esto es, en una comunidad de sordos el que oye sería el discapacitado.

En conclusión, los diagnósticos previos a la implantación no son sólo una práctica eugenésica añadida a la del diagnóstico prenatal, con toda la gravedad de discriminar quien tiene o no derecho a la vida en razón de alguna enfermedad o discapacidad. El DGP y el PGS añaden al diagnóstico prenatal un tipo de eugenesia que se puede denominar positiva: buscar entre varios embriones hermanos uno de características deseadas, desechar el

tomere biopsy for mouse embryo splitting for future applications in human assisted reproduction». *Reprod. Biomed. Online* 11, (2005), 716-725.

50 Lavery, S. «Preimplantation genetic diagnosis and the welfare of the child» *Hum Fertil* 7, (2004), 295-300.

51 Hall, S., Reid, E., Marteau, T.M. «Attitudes towards sex selection for non-medical reasons: a review». *Prenat Diagn* 26, (2006), 619-626.

52 Mand, C., Duncan, R E., Gillam, V., Delatycki, M.B. «Genetic selection for deafness: the views of hearing children of deaf adults» *J Med Ethics* 35, (2009), 722-728.

resto. Aún en sus inicios, y con menos facilidades técnicas por el momento, se abre una nueva puerta a la programación de la humanidad en virtud de un supuesto y dudoso criterio de perfección.

El objetivo de este análisis de la situación es poner de manifiesto, no tanto los graves problemas morales que entraña, sino dar a conocer, divulgar y en cierta medida alertar de las objeciones de ciencia que presenta esta tecnología

asociada a las Técnicas de Reproducción Humana Asistida. Si no se acepta lo natural como criterio, y lo natural conlleva una amplia gama de diferencias y algunas disfunciones, la realidad humana queda disponible, materia plástica modelable. Una selección que en función de una supuesta autonomía de los progenitores conducida por el absolutismo de la técnica, que destruye la racionalidad científica de la investigación.

Tabla 1. Datos de los Informes I-IV

	Ciclos	Embriones	Biopsados	Transferidos	7 semanas
DGP	2.000	17.088	12.708	3.211	362
A. cromosómicas	713	6.546	5.023	1.064	109
Enfer. ligadas al sexo	458	3.921	2.866	707	86
Enfermed. Monogénica	829	6.621	4.819	1.440	167
PSG	1.876	15.002	10.760	2.932	336
AMA	624	4.427	3.523	971	103
Abortos de repetición	277	2.495	1827	527	61
Fallos FIV	630	5.395	3.440	881	86
F. masculino severo	64	464	320	104	19
PGD-SS	182	1.411	1.109	304	44

Tabla 2. Datos de los Informes V y VI

	Ciclos	Embriones	Biopsados	Transferidos	7 semanas
DGP	868 - 1.047	7.151 - 8.458	5.290 - 6.156	1.169 - 1326	152 - 185
A. cromosómicas	449 - 471	3.885 - 3.841	2.935 - 2.801	556 - 499	66 - 67
Enfer. ligadas al sexo	118 - 127	927 - 1.045	724 - 760	177 - 160	23 - 28
Enfermed. Monogénica	301 - 449	2.339 - 3.572	1.631 - 2.595	436 - 667	63 - 90
PSG	1.202 - 1.713	8.321 - 11.815	6.472 - 9.413	1.528 - 2.277	198 - 311
AMA	416 - 478	2.315 - 2.638	1.802 - 2.109	387 - 480	48 - 56
AMA+Abort. de repetición	41 - 64	192 - 302	208 - 280	49 - 54	5 - 6
AMA+ Fallo implantación	129 - 197	795 - 1.122	733 - 1.045	163 - 254	18 - 27
Aborto de repetición	196 - 250	1.484 - 1.890	1.094 - 1.431	255 - 357	37 - 56
Fallos de implantación	274 - 462	2.343 - 3.775	1.715 - 3.042	433 - 709	50 - 92
F. masculino severo	100 - 188	851 - 1.507	638 - 1.073	163 - 311	33 - 52
PGD-SS	72 - 79	480 - 644	396 - 461	145 - 92	15 - 15

Tabla 3. Datos de los informes VII y VIII

	Ciclos	Embriones	Biopsados	Tranferidos	7 semanas
DGP	1.192 - 1.128	10.016 - 9.060	7.364 - 6.765	1.515 - 1.385	213 - 227
A. cromosómicas	559 - 520	4.955 - 4.251	3.745 - 3.299	614 - 540	90 - 94
Enfer. ligadas al sexo	113 - 108	830 - 830	608 - 658	120 - 130	20 - 24
Enfermed. Monogénica	520	4.231	3.011	781	103
PSG	2.087 - 2.275	13.711 - 15.237	11.605 - 12.372	2.641 - 2.753	372 - 418
AMA	541 - 688	3.045 - 3.926	2.428 - 2.985	504 - 606	74 - 86
AMA+ Abort. de repetición	85 - 77	469 - 404	441 - 354	91 - 75	6 - 5
AMA+ Fallo implantación	188 - 181	702 - 783	1.024 - 1.023	235 - 227	14 - 20
Aborto de repetición	267 - 298	2.105 - 2.116	1.585 - 1.616	373 - 387	72 - 65
Fallos de implantación	670 - 596	4.844 - 4.435	4.146 - 3.636	941 - 816	129 - 127
F. masculino severo	195 - 252	1.465 - 2.136	1.130 - 1.655	316 - 401	56 - 65
PGD-SS	79 - 85	644 - 673	461 - 463	92 - 108	15 - 18

Recibido: 11.05.2011
Aceptado: 9.06.2011