

CASO CLÍNICO: GENÉTICA Y REPRODUCCIÓN

Pareja que acude a la consulta de reproducción del Hospital Virgen del Rocío de Sevilla derivados por su hematólogo. Son padres de un niño afecto de Talasemia mayor (ambos progenitores diagnosticados de Beta Talasemia Minor) y solicitan tratamiento de reproducción asistida con el objetivo de tener otro hijo (no afecto de la enfermedad) y además poder realizar trasplante de precursores hematopoyéticos a su hijo enfermo. Aportan informe genético.

En una primera consulta conjunta de consejo genético y reproducción, se les ofrece PGD con una doble indicación. Por una parte PGD para diagnóstico de la enfermedad en los embriones (Talasemia Mayor), y por otra para determinar su tipaje HLA, con el objetivo de transferir un embrión sano y HLA compatible con el niño enfermo. Se informa a la pareja de que esta indicación (PGD-HLA) queda supeditada a los resultados obtenidos en los estudios que se van a solicitar.

CICLO DE PGD-HLA

Antes de iniciar el ciclo se realiza a la pareja un **Estudio Básico de Esterilidad**. La exploración ginecológica de la mujer (29 años), determina que ésta presenta buena dotación folicular, buena accesibilidad ovárica, y cérvix y útero normal. La exploración física se complementa con una analítica hormonal realizada entre 2º y 4º día del ciclo menstrual. Sus niveles hormonales son: FSH: 7,93 mU/mL; LH 6,76 mU/mL, estradiol 34,8 pg/mL, no encontrándose ninguna alteración.

Al varón (35 años), se le solicita seminograma básico para determinar su calidad espermática. Volumen: 1,8 mL; Concentración: 156 mill/mL; Movilidad: 55 %; Morfología: 9; con diagnóstico de normozoospermia. Se confirma que ambos progenitores tiene serologías negativas para VIH, VHB, VHC y Lúes.

Por otra parte, se envía la siguiente **documentación** a la Consejería de Salud solicitando autorización para la realización del ciclo de PGD-HLA :

1. Informe clínico detallado y actualizado de las características del paciente para el que se solicite la selección embrionaria.
 2. Justificación de la ausencia de donantes emparentados compatibles, documentando, en su caso, el inicio de búsqueda de donante no emparentado si éste se ha indicado.
 3. Justificación de la solicitud de selección embrionaria para la obtención de donante por el médico que la indique.
 4. Compromiso expreso de una unidad o servicio en el que se realicen trasplantes
-

de células de cordón umbilical de que se llevará a cabo el trasplante en ese servicio.

5. Otros datos de la pareja a la que se ha indicado la selección embrionaria, incluyendo la edad de la madre y los antecedentes reproductivos de la pareja.
6. Especificación de los medios materiales y personales con los que cuenta el centro en el que se pretenda llevar a cabo la selección embrionaria para desarrollar la misma.
7. Exposición de la experiencia previa del centro en el que se pretenda llevar a cabo el tratamiento.
8. Formulario de consentimiento informado firmado por la pareja solicitante en el que se acredite que ésta ha recibido información suficiente sobre las probabilidades de éxito.

También se realizan los **estudios genéticos previos** (Estudio de Informatividad) a los padres y al hijo afecto para poner a punto el diagnóstico genético de Talasemia Mayor y del tipaje HLA en esta familia. Para el HLA se realiza análisis genético indirecto utilizando hasta 10 marcadores STR localizados a lo largo del locus HLA (cromosoma 6), con el objetivo de identificar la combinación haplotípica heredada por el hijo enfermo de cada uno de sus padres. Para la Talasemia se realiza también estudio indirecto utilizando hasta 6 marcadores polimórficos tipo STR, localizados próximos al gen HBB, responsable de la Talasemia (cromosoma 11), para identificar las combinaciones haplotípicas ligadas a la enfermedad.

Una vez recibida la autorización, con los estudios genéticos previos realizados y con evidencia de buena reserva ovárica, se inicia ciclo de Fecundación in vitro, utilizando ICSI como método de fecundación, y realizando biopsia de dos células en d+3 a los embriones de buena calidad. Para el análisis genético se realiza PCR múltiple fluorescente, utilizando la combinación de marcadores previamente seleccionados para la Talasemia y para el tipaje HLA.

RESULTADOS

A esta pareja se le realizan dos ciclos de PGD-HLA, transfiriendo un embrión sano y compatible en cada uno de los ciclos, y consiguiendo gestación y recién nacido vivo en el segundo ciclo. Su cordón umbilical es congelado y tres meses más tarde es realizado el trasplante de precursores hematopoyéticos de cordón umbilical a su hermano afecto, consiguiendo su curación.

| PGD-HLA | | |
|--|----------------|----------------|
| | Ciclo 1 | Ciclo 2 |
| Ovocitos maduros | 20 | 25 |
| Fecundados | 14 | 18 |
| Embriones biopsiados | 11 | 17 |
| Embriones sanos | 9 | 9 |
| Embriones afectos | 2 | 8 |
| Embriones sanos y HLA idénticos | 1 | 2 |
| Embriones transferidos | 1 | 1 |
| Gestación | no | si |

DISCUSIÓN

El PGD es una opción reproductiva que se ofrece a parejas con alto riesgo de transmitir una enfermedad genética a su descendencia. La enfermedad debe ser grave, de aparición precoz y sin tratamiento curativo, como la Talasemia Mayor, debe existir riesgo conocido de transmisión del fenotipo alterado a la descendencia y el diagnóstico de la enfermedad en cuestión debe ser posible y fiable.

El tratamiento curativo de la Talasemia Mayor consiste en Trasplante Alogénico de Precursores Hematopoyéticos de donante familiar HLA idéntico. En este caso, el niño afecto no tiene hermanos compatibles, y no hay indicación de búsqueda de donante no emparentado en REDMO (Registro de Donantes de Médula Ósea). La mejor opción es por tanto realizar PGD-HLA y realizar trasplante a partir de los precursores hematopoyéticos del cordón umbilical del futuro hermano.

Según al apartado 2 del artículo 12 de la Ley 14/2006, de 26 de Mayo, sobre TRA, la aplicación del PGD para situaciones como el caso expuesto, donde no solo se solicita diagnóstico genético de la enfermedad en los preembriones sino también tipaje HLA, requiere la autorización expresa, caso a caso, de las autoridades sanitarias correspondientes, previo informe favorable de la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida (CNRHA).

Las probabilidades tener un recién nacido sano y HLA compatible con el hermano afecto son bajas (según distintos registros rondan el 15 %), y van ligadas a las probabilidades de encontrar un embrión sano y HLA compatible. En el caso de la Talasemia Mayor, que presenta un patrón de herencia AR, teóricamente 3 de cada 4 embriones analizados serán normales, y 1 de 4 embriones serán HLA compatibles con el niño afecto. Por tanto, la probabilidad teórica de encontrar un embrión sano y HLA compatible será de 3/16 ($3/4 \times 1/4$). Las posibles recombinaciones que se puedan presentar en los preembriones reducen esta probabilidad. También hay que tener en cuenta que la viabilidad del preembrión se puede ver comprometida tras la biopsia. Es por todo esto que la reserva ovárica de la mujer debe ser adecuada,

para disponer de un buen número de ovocitos de partida. En este caso, tanto la edad de la mujer, la ecografía, así como sus valores hormonales sugerían una buena reserva ovárica.

El caso clínico expuesto corresponde al primer caso de PGD-HLA realizado con éxito en España, en el año 2008. Se realizó íntegramente en un hospital público. Actualmente la pareja está iniciando ciclo de transferencia de los embriones sanos no HLA compatibles congelados (tiene 12), como opción reproductiva para aumentar la familia.

Hoy día, gracias a la incorporación de nuevas técnicas al diagnóstico en célula única se están optimizando las posibilidades de éxito en estos casos tan complejos. Con la ampliación de genoma completo (WGA) ya no es necesario extraer 2 células al preembrión (1 es suficiente), favoreciendo la viabilidad del embrión biopsiado. Y la incorporación de la técnica NGS (*Next Generation Sequency*) supondrá un avance metodológico en estos casos tan complejos.
