

Utilidad del diagnóstico genético preimplantatorio en enfermedades raras y otras enfermedades genéticas

Ezarri aurreko diagnostiko genetikoaren baliagarritasuna, gaixotasun ez-arruntetan eta gaixotasun genetikoetan

G. Antiñolo, M.D. Lozano

Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

INTRODUCCIÓN

Según la definición de la Unión Europea, las enfermedades raras, minoritarias, huérfanas o enfermedades poco frecuentes son aquellas enfermedades con riesgo de muerte o de invalidez crónica que tienen una prevalencia menor de 5 casos por cada 10.000 habitantes. Esta definición fue la adoptada por el 'Programa de Acción Comunitaria sobre Enfermedades Raras 1999-2003' y es utilizada también por la *European Medicines Agency* (EMA) para la declaración de medicamentos huérfanos, así como por varios estados miembros (Alemania, Francia, Italia, Países Bajos y España).

Aunque es difícil precisar el número de enfermedades raras (ER), se estima que podría oscilar entre 6.000 y 8.000, aunque tan solo unas 100 se acercan a las cifras de prevalencia que establecen el límite para considerar una enfermedad como rara (*Orphanet*). Aunque se trata de enfermedades poco frecuentes de forma aislada, en su conjunto son importantes ya que afectan a un 5-7% de la población de países desarrollados.

A pesar de constituir un grupo muy heterogéneo de entidades clínicas, las enfermedades raras comparten algunas características:

- En general, son enfermedades hereditarias que habitualmente se inician en la edad pediátrica.
- Tienen carácter crónico, en muchas ocasiones progresivo, contando con una elevada morbi-mortalidad y alto grado de discapacidad.
- Son de gran complejidad etiológica, diagnóstica y evolutiva.
- Requieren un manejo y seguimiento multidisciplinar.

De sus características se derivan los principales problemas a los que se enfrentan: el desconocimiento y la desinfor-

mación de los profesionales, la ausencia de terapias y la escasa disponibilidad de medicamentos y que suponen un elevado coste social y una escasa rentabilidad teórica para los sistemas sanitarios. Respecto al último punto, los datos nos dicen otra cosa. En el Reino Unido, el tratamiento y la atención sanitaria de los pacientes que padecen estos trastornos suponen un gasto para los servicios sanitarios y sociales de más de 2 billones de libras anuales. En Andalucía, la información disponible sobre morbilidad obtenida a partir de la explotación de los datos del Conjunto Mínimo Básico de Datos al Alta Hospitalaria de Andalucía (CMBDA) puede ayudarnos a realizar una aproximación a la situación de las enfermedades raras. En el periodo 1999-2004 se han ingresado en los hospitales públicos de la comunidad una media anual de 23.495 casos, lo que se correspondería con una tasa media interanual de 31,73 casos por 10.000 habitantes. Debe destacarse especialmente que el número de casos atendidos crece anualmente en el periodo estudiado, pasando de 21.451 en 1999 a 26.257 en 2004. En el periodo estudiado se han producido 65.304 altas por enfermedades raras con un total de 656.654 días de hospitalización por estas causas, si consideramos solo el diagnóstico principal. Estas altas y estancias por Enfermedades Raras representan el 1,92% y el 2,49% respectivamente del total de altas y estancias recogidas en el CMBDA para el periodo. Si consideramos las Enfermedades Raras en cualquier posición diagnóstica son 178.740 altas (el 5,27% de las altas del CMBDA) y 2.069.824 días de estancia (el 7,85% de las estancias del CMBDA).

El avance del conocimiento en genética humana ha supuesto un cambio drástico en nuestra comprensión del desarrollo humano y de la causa de muchas enfermedades. La presentación, en junio del año 2000,

del primer borrador de la secuencia completa del genoma humano, se considera uno de los mayores hitos científicos en la historia de la humanidad. Este avance científico señala el inicio de un proceso de cambio sobre la forma actual de entender la medicina, que introduce nuevos paradigmas y genera grandes expectativas.

EL DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTATORIO

El desarrollo de las tecnologías de análisis genómico y citogenética molecular, la bioinformática y el acceso a la información on line, junto al avance del conocimiento derivado de la obtención y desarrollo de los mapas genéticos y la identificación de nuevos genes y mecanismos moleculares, están abriendo nuevas vías para la planificación, diseño y desarrollo de estrategias diagnósticas, preventivas y, en algunos casos terapéuticas, más eficientes y efectivas en las enfermedades raras de base genética.

Su traslación a la práctica clínica está permitiendo notables avances en medicina fetal, en el cribado de diversas enfermedades en recién nacidos, en la identificación de portadores de enfermedades hereditarias y, en general, en el conocimiento y manejo clínico de las enfermedades de base genética, consiguiendo una mayor esperanza y calidad de vida de las personas afectadas.

Entre las aplicaciones clínicas derivadas de esa traslación, se encuentra de forma destacada el diagnóstico genético preimplantatorio (PGD). El objetivo del PGD es ofrecer una opción reproductiva a familias con alto riesgo de transmitir enfermedades de base genética a su descendencia. El PGD consiste en analizar genéticamente los preembriones obtenidos por técnicas de fecundación *in vitro* antes de ser transferidos

al útero, de forma que solo son transferidos los no afectados de la enfermedad de riesgo. Revisiones recientes, como la realizada por el *Genetics Commissioning Advisory Group* para el *National Health Service* británico, consideran el PGD como una alternativa adecuada tras una evaluación cuidadosa y un consejo genético apropiado. Su principal ventaja es evitar la interrupción voluntaria del embarazo por enfermedad fetal, así como el sufrimiento familiar y las cargas sociales que representa el nacimiento de niños afectados de estas enfermedades. Además el PGD puede contribuir a detener la transmisión familiar de la enfermedad hereditaria, lo que a medio plazo puede tener gran importancia social y sanitaria al reducir el número de pacientes afectados de estas patologías.

En Andalucía, la provisión de PGD se ha incorporado dentro del Servicio Sanitario Público Andaluz (SSPA) mediante el Decreto 156/2005, de 28 de junio. El PGD está autorizado actualmente, entre otras, para enfermedades recesivas ligadas al cromosoma X, fibrosis quística, atrofia muscular espinal, enfermedad de Huntington y enfermedad de Alport ligada al X, siendo la *Unidad de Gestión Clínica de Genética, Reproducción y Medicina Fetal del Hospital Universitario Virgen del Rocío* el centro de referencia dentro del SSPA.

Las enfermedades de base genética para las que se ha aplicado el PGD son variadas. De acuerdo con los datos de la ESHRE, alrededor de un 40% de todos los diagnósticos se han realizado para portadores de enfermedades hereditarias (como fibrosis quística o atrofia espinal), un 30% de los diagnósticos se han utilizado para la detección de un desequilibrio cromosómico y un 25% han tenido como objetivo la determinación del sexo del embrión para evitar enfermedades ligadas al cromosoma X (caso de la hemofilia). En nuestra Unidad, el PGD se ofrece en dos modelos de situación clínica.

En primer lugar se aplica para la determinación del sexo de los embriones mediante Hibridación In Situ Fluorescente (FISH) en las enfermedades ligadas a X, donde el defecto genético específico a nivel molecular es desconocido, o no es posible analizarlo en célula única, como en algunos casos de Distrofia Muscular de Duchenne o de Hemofilia. En segundo lugar, mediante el análisis genético directo o indirecto para identificar mutaciones específicas como en la Fibrosis Quística, empleando técnicas moleculares tras la amplificación en cadena de la polimerasa (PCR) del ADN extraído de la/s blastómeras biopsiadas al preembrión (el análisis genético se realiza sólo sobre 1 o 2 células).

El PGD es un procedimiento complejo. En primer lugar, la pareja debe someterse a un tratamiento de fecundación "in vitro" en el que se realiza una estimulación ovárica y posterior recuperación de los ovocitos mediante punción transvaginal ecoguiada (día 0). Los ovocitos maduros recuperados son inseminados mediante ICSI (inyección intracitoplasmática de espermatozoides) para evitar la contaminación de ADN de otros espermatozoides o de células de la granulosa. La biopsia de 1 o 2 células (blastómeras) se realiza cuando los preembriones tienen entre 6-8 células (día 3 de desarrollo). Una vez analizadas las células extraídas y en caso de haber preembriones viables no afectados, éstos son transferidos al útero. Las técnicas que se utilizan en el análisis genético deben permitir un diagnóstico muy rápido y preciso, compatible con el período máximo que los embriones se mantienen viables en cultivo "in vitro", es decir 5-6 días después de la recuperación de los ovocitos.

Los criterios generales de inclusión en el programa de PGD de nuestro Servicio incluyen que el diagnóstico genético sea posible y fiable, que exista alto riesgo de re-

currencia de la enfermedad, que el trastorno genético genere graves problemas de salud, y que sea posible realizar un procedimiento FIV-ICSI con una respuesta adecuada tras estimulación ovárica controlada.

Para que un programa de PGD ofrezca buenos resultados, se necesita un equipo multidisciplinar que incluya ginecólogos especializados en técnicas de reproducción asistida, embriólogos, genetistas clínicos, citogenetistas y genetistas moleculares. Los avances experimentados en los últimos años en el área de embriología y genética clínica han aumentado tanto la eficiencia de la biopsia embrionaria, como la fiabilidad del diagnóstico genético a partir de una sola célula. Por ello, aunque la experiencia es limitada, el PGD parece tener un grado muy alto de precisión y fiabilidad. Sin embargo, en su aplicación nos encontraremos con una serie de limitaciones tanto técnicas como éticas, que deben ser tenidas en cuenta al implementar un programa de estas características y que las parejas deben conocer antes de iniciar el tratamiento.

La fiabilidad del PGD es del 95%, por lo que es recomendable la confirmación mediante diagnóstico prenatal durante la gestación, aunque dicha oferta es rechazada en la mayoría de los casos por la gestante en nuestro programa. La tasa de embarazo clínico es del 14-15% por ciclo iniciado en los mejores centros. Por otra parte, aunque los niños nacidos tras diagnóstico genético preimplantatorio, no parecen tener una mayor incidencia de malformaciones congénitas o problemas neonatales que los niños nacidos tras las técnicas de fecundación *in vitro* convencionales, es recomendable un seguimiento de su desarrollo.

Desde su inicio, en el programa desarrollado por nuestro Servicio contamos con la colaboración de la Unidad de Gestión Clínica de Neonatología de nuestro hospital para el seguimiento sistemático de todos los

niños nacidos tras PGD. En cuanto a los resultados, nuestra tasa de gestación clínica por ciclo iniciado se sitúa en el 14,6%.

NUEVAS APLICACIONES DEL DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTATORIO: PGD-HLA

En los últimos años se ha desarrollado como nueva indicación de PGD el análisis genético preimplantatorio de los antígenos de histocompatibilidad (HLA) para la selección de un donante HLA idéntico de células troncales hematopoiéticas, una alternativa terapéutica en determinadas anemias e inmunodeficiencias congénitas y algunas hemopatías malignas. En España, la ley 14/2006, sobre técnicas de reproducción humana asistida (BOE n. 126 de 27/5/2006) ha abierto nuevas vías en la prevención de enfermedades genéticas que en la actualidad carecen de tratamiento, y a la posibilidad de seleccionar preembriones en determinados casos y bajo el debido control y autorización administrativos, para tratar la enfermedad del hermano enfermo. Esta ley regula la aplicación de las técnicas de reproducción humana asistida en la prevención y tratamiento de enfermedades de origen genético, siempre que existan las garantías diagnósticas y terapéuticas suficientes, y sean debidamente autorizadas en los términos previstos en esta Ley. Para realizar un procedimiento PGD-HLA es necesario que el trasplante de células troncales hematopoiéticas HLA idénticas sea la mejor opción terapéutica, que exista deseo y posibilidad de embarazo, que el trasplante puede ser retrasado al menos 1 año, que se den posibilidades razonables de obtener un gran número de ovocitos en la estimulación ovárica controlada (relacionado con la función ovárica y la edad de la madre), así como una considerable experien-

cia en Genética Clínica y Reproducción Humana Asistida.

En Julio de 2007, la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida autorizó a nuestra Unidad de Gestión Clínica la realización de un procedimiento de PGD con análisis de HLA con fines terapéuticos para terceros en una pareja con un hijo afecto de β -Talasemia Major, una anemia congénita severa. En Octubre de 2008 nacía Javier, un niño no afecto de dicha enfermedad y HLA idéntico con su hermano enfermo actualmente trasplantado y curado de su anemia. Este caso es el primero que se realiza íntegramente con éxito en España, y uno de los pocos trasplantados tras PGD-HLA para este tipo de anemia congénita en el mundo.

CONCLUSIONES

La mayor parte de los centros que realizan programas de fecundación *in vitro* no tienen un vínculo estrecho con los servicios de genética clínica. En nuestro servicio, el desarrollo de una cooperación estrecha entre ambas áreas permite facilitar una información más completa a las familias sobre las ventajas y limitaciones del PGD, así como realizar algunas recomendaciones para las buenas prácticas en esta área clínica, con el fin de evitar referencias innecesarias o inadecuadas y garantizar que el diagnóstico realizado a la familia es correcto. Esto permite a los expertos en las diferentes disciplinas planificar de forma conjunta las estrategias de PGD para diferentes enfermedades genéticas y/o aplicaciones como el PGD-HLA.

Esta precisamente ha sido la clave del éxito de nuestro programa en cuanto a resultados y rapidez en su implementación, contar con profesionales con amplia experiencia en genética clínica y en técnicas de reproducción asistida integrados en un mismo Servicio.

REFERENCIAS

1. Plan de Genética de Andalucía. <http://www.juntadeandalucia.es/salud/principal/>
2. Collins FS. Contemplating the end of the beginning. *Genome Res.* 2001; 11(5): 641-3.
3. Guttmacher AE, Collins FS. Welcome to the genomic era. *N Engl J Med.* 2003; 349(10): 996-8.
4. Sermon K, Van Steirteghem A, Liebaers I. Preimplantation genetic diagnosis. *Lancet.* 2004; 363(9421): 1633-41.
5. Bick DP, Lau EC. Preimplantation genetic diagnosis. *Pediatr Clin North Am.* 2006; 53(4): 559-77.
6. Corveleyn A, Morris MA, Dequeker E, Sermon K, Davies JL, Antiñolo G, Schmutzler A, Vanecsek J, Nagels N, Zika E, Palau F, Ibarreta D. Provision and quality assurance of preimplantation genetic diagnosis in Europe. *Eur J Hum Genet.* 2008; 16(3): 290-9.
7. Verlinsky Y, Rechitsky S, Schoolcraft W, Strom C, Kuliev A. Preimplantation diagnosis for Fanconi anemia combined with HLA matching. *JAMA.* 2001; 285(24): 3130-3.