

## Trabajos comentados por expertos

Comentado por el Dr Roberto Coco

Fecunditas-Instituto de Medicina Reproductiva afiliado a la UBA.

# No beneficial effect of PGS in women of advanced maternal age with a high risk for embryonic aneuploidy

Moniek Twisk, Sebastián Mastenbroek, Annemieke Hoek, Maas-Jan Heineman, Fulco van der Veen, Patrick M Bossuyt, Sjoerd Repping, and Johanna C Korevaar

Human Reproduction 2008;23(12):2813-2817.

Reproducción 2009;24:28-29

Los estudios cromosómicos clásicos y los cito-moleculares por FISH realizados en gametos y/o embriones humanos originados *in vitro* han evidenciado una alta tasa de anomalías cromosómicas numéricas y aneuploidías. Se ha aceptado que la misma es la principal causa de falla de implantación o de aborto espontáneo. Para mejorar la tasa de nacidos vivos tras la aplicación de las técnicas de reproducción asistida FIV/ICSI se comenzó a aplicar el *screening* de aneuploidías en los pre-embiones antes de su transferencia con el propósito de aumentar la tasa de embarazo evolutivo, mejorar el potencial implantatorio y disminuir la tasa de aborto espontáneo preclínico y clínico. Por tal motivo, se pensó que el PGS podría ser beneficioso en los pacientes con pobre pronóstico, tales como mujeres de edad avanzada, parejas con historia de aborto recurrente, varones con factor masculino severo o fallas repetidas en FIV/ICSI con la finalidad de mejorar la eficiencia reproductiva de estos grupos de pacientes.

El PGS, como las otras TRA, rápidamente se introdujo en la mayoría de los laboratorios de FIV sin saberse realmente si su aplicación era beneficiosa o perjudicial en cuanto a la tasa de nacidos vivos. Como sucedió con la FIV, desde lo teórico, la extracción de una o dos células para el estudio no debería alterar la masa celular embrionaria ni afectar el potencial implantatorio, siendo además la eliminación de células el mecanismo usado cuando las células son injuriadas en el período preimplantatorio (efecto del todo o nada).

Mastenbroek y col, en el 2007 publican en el *New England Journal of Medicine* un estudio doble ciego randomizado y controlado en 408 mujeres con edades entre 35 y 41 años, que realizaron 836 ciclos de FIV, pero sin tener en cuenta el mayor riesgo para aneuploidías embrionarias, con el propósito de dilucidar si el PGS

era beneficioso o perjudicial. Para esto fueron divididas en dos grupos, con y sin PGS. El PGS fue realizado por FISH y usaron sondas para los cromosomas 1, 13, 16, 17, 18, 21, X e Y. Los autores de ese ensayo clínico no sólo documentaron que no tenía efecto beneficioso, sino que tenía un efecto negativo sobre la tasa de nacidos vivos. Como varios autores, entre ellos Handyside & Thornhill 2007 y Munée y col 2007, hipotetizaron que el efecto del PGS sobre la tasa de nacidos vivos podía ser diferente en varios grupos de pacientes. En el presente trabajo los autores se propusieron verificar cómo el PGS afectaba la tasa de nacidos vivos en mujeres de edad avanzada con riesgo variable de aneuploidías embrionarias, usando los datos del ensayo clínico publicado por Mastenbroek y col en el año 2007. Los autores no encontraron diferencias significativas en los resultados del PGS en los grupos analizados: a) edad materna menor o mayor /igual de 38 años, b) número de abortos previos, c) calidad del semen, d) cantidad de unidades de rFSH usadas en la estimulación ovárica, y e) número de embriones de alta calidad. Además, las tasas de nacidos vivos en todos los grupos con PGS fueron más bajas que en los grupos sin PGS. Por lo tanto, los autores sugieren que el concepto teórico de mejorar las tasas de éxito de los procedimientos FIV/ICSI con el *screening* de aneuploidías no es correcto. Finalizan su trabajo enumerando a tres motivos como los responsables de que el PGS no tenga valor clínico:

- 1) Que la extracción de una o dos células podría dañar el potencial implantatorio del embrión biopsiado.
- 2) Que el *screening* no evalúa a todas las aneuploidías, sino que es limitado a un cierto número de cromosomas, entre 5 y 10 de los 23 pares.
- 3) Que el resultado de una sola célula no puede extrapolarse a todo el embrión.

A la fecha existen comunicados en la literatura seis ensayos controlados randomizados (RCT) involucrando a un total de 1.294 pacientes. Cuatro estudios incluyen a mujeres con edad reproductiva avanzada (Staessen y col 2004, Mastenbroek y col 2007, Hardarson y col 2008, Schoolcraft y col 2008). Dos estudios más recientes involucran a mujeres jóvenes y su propósito fue el de mejorar la transferencia de un solo embrión (Jansen y col 2008, Staessen y col 2008). En todos los ensayos la biopsia se realizó en día 3, excepto el de Jansen y col que fue en día 5-6. En todos se extrajo una sola célula, excepto el de Staessen y col 2004 en el que fueron dos y el de Jansen y col en el que extrajeron entre 2 y 9 células del trofoctodermo. De los seis ensayos, uno evidenció disminución en la tasa de nacidos vivos (Mastenbroek y col, 2007), dos no mostraron diferencia en la tasa de nacidos vivos (Jansen y col, 2008, Staessen y col, 2008), uno mostró una menor tasa de embarazo clínico (Hardarson y col, 2008) y dos no encontraron diferencia entre la tasa de implantación y el embarazo (Staessen y col, 2004, Schoolcraft y col, 2008). Todos los ensayos realizados demostraron que el PGS no tiene beneficio alguno y dos ellos incluso una disminución en los resultados.

Está totalmente reconocido que los ensayos clínicos randomizados cuando están bien diseñados tienen por finalidad generalizar los resultados al respecto, pero también es verdad que si no se cumplen con los requisitos esenciales, podrían arrojar resultados erróneos. La argumentación para la realización del PGS por supuesto que es correcta. Sorprendentes son los resultados de los ensayos. ¿Debemos aceptar esos resultados como definitivos y no realizar más PGS o deberíamos seguir intentando con el mejoramiento del PGS desde el laboratorio de embriología, calidad del embrión a biopsiar, día de la biopsia, cantidad de células extraídas, estudio por FISH, por PCR fluorescente cuantitativa o por las diferentes metodologías de *microarrays*, selección de pacientes, tipo de estimulación ovárica, número de embriones transferidos, etc? Mi opinión es que todo ensayo clínico randomizado y controlado debería respetar ciertos requisitos indispensables tales como contar con un buen laboratorio de embriología, idoneidad en la toma de la biopsia y certeza diagnóstica del estudio genético.

Creo que se deberían seguir desarrollando nuevas metodologías para lograr la mayor eficiencia diagnóstica de todo el complemento cromosómico. Mientras tanto, si la pareja desea acceder al PGS como alterna-

tiva de diagnóstico prenatal habría que informarla sobre los alcances y limitaciones que posee el mismo, y recalcar que se diferencia mucho del diagnóstico prenatal convencional por edad avanzada en el que se evalúa numérica y estructuralmente a todos los cromosomas con una certeza diagnóstica altísima. Probablemente las nuevas tecnologías moleculares que usan diferentes tipos de *microarrays* nos permitan llegar al diagnóstico del genoma completo del embrión, y su realización en el estado de blastocisto nos permitiría conocer el status genético del mismo embrión en un estado más evolutivo y por ende con más potencialidad de implantación. Mientras no contemos con esas mejoras, y teniendo en cuenta que el error diagnóstico en PGS por FISH es del orden del 10% y si la pareja no tiene inconvenientes en la transferencia de más de un embrión, es preferible no hacer PGS y elegir a los embriones por su apariencia y estado evolutivo, recordando que el 99% de las aneuploidías son letales, la mayoría en etapa preimplantatoria.

#### Referencias

- Handyside AH, Thornhill AR. In Vitro fertilization with preimplantation genetic screening. *N. Engl J Med* 2007;357:1770.
- Munne S, Cohen J, Simpson JL. In Vitro fertilization with preimplantation genetic screening. *N Engl J Med* 2007;357:1769.
- Mastenbroek S, Twisk M, van Echten-Arends J, Sikkema-Radatz B, Korevaar JC, Verhoeve HR, Vogel NE, Arts EG, de Vries JW, Bossuyt PM et al. In Vitro fertilization with preimplantation genetic screening. *N Engl J Med* 2007;357:9-17.
- Janssen RP, Bowman MC, de Boer KA, Leigh DA, Lieberman DB, McArthur SJ. What next for preimplantation genetic screening (PGS)? Experience with blastocyst biopsy and testing for aneuploidy. *Hum Reprod* 2008;23:1476-1478.
- Hardarson T, Hanson C, Lundin K, Hillensjo T, Nilsson L, Stevic J, Reismer E, Borg K, Wikland M, Bergh C. Preimplantation genetic screening in women of advanced maternal age caused a decrease in clinical pregnancy rate: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2008; June 25.
- Schoolcraft WB, Katz-Jaffe M, Stevens J, Rawlins M, Munne S. Preimplantation aneuploidy testing for infertile patients of advanced maternal age: a randomized prospective trial. *Fert Steril* 2008, August 9.
- Staessen C, Platteau P, Van Asche E, Michiels A, Tournaye H, Camus M, Devroey P, Liebaers I, Van Steirteghem A. 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* 2004;19:2849-2858.
- Staessen C, Verpoest W, Donoso P, Haentjens P, van der Elst J, Liebaers I, Devroey P. Preimplantation genetic screening does not improve delivery rate in women under the age of 36 following single embryo transfer. *Hum Reprod* 2008; October 17.

## **Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: a systematic review and meta-analysis**

Kalliopi E Loutradi, Efstratios M Kolibianakis, Christos A Venetis, Evangelos G Papanikolaou, George Pados, Ioannis Bontis, and Basil C Tarlatzid

Fertil Steril 2008;90(1):186-193.

**Reproducción 2009;24:30**

El objetivo de esta revisión sistemática fue identificar estudios comparativos prospectivos para responder la siguiente pregunta: ¿Está asociada a una tasa más alta de sobrevida luego del descongelamiento la vitrificación de embriones humanos que con la técnica de congelamiento lento?

De las 90 publicaciones seleccionadas en la búsqueda bibliográfica, solo 4 estudios cumplieron con los requisitos. En total la revisión incluyó información sobre 8.824 embriones/blastocistos humanos criopreservados en estadio de clivaje (vitrificación: n = 7.482 vs. congelamiento lento n = 1.342). La tasa de sobrevida de los embriones en estadio de clivaje fue mayor después de la

vitrificación que con congelamiento lento (OR 15.57, 95% CI 3.68-65.82; P <.001; heterogeneidad: P=.001; modelo de efectos al azar). La tasa de sobrevida post-descongelamiento de blastocistos vitrificados fue significativamente más alta comparada con la observada con congelamiento lento (OR 2.20, 95% CI 1.53-3.16; P <.0001; heterogeneidad: P=.06; modelo de efectos fijos).

Concluyeron que la vitrificación parece estar asociada con tasas más altas de sobrevida luego del descongelamiento que con la técnica de congelamiento lento. Serán necesarios nuevos estudios prospectivos para confirmar estos resultados y para evaluar las tasas de embarazo de estos dos métodos de criopreservación.