

Diagnostico genético Preimplantatorio PGD en portadoras de hemofilia A

Abordaje con dos metodologías.

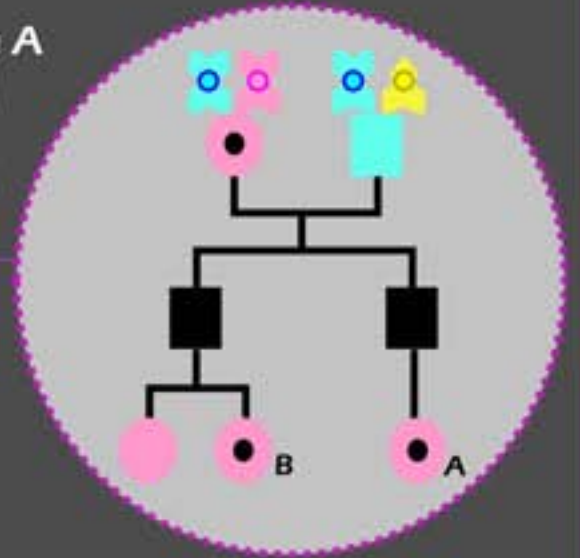
Fecunditas

Mincman J; Primost I; Noblía F; Longobucco V; Gallo A; Gismondi F; Neuspiller N; Coco R. Instituto de Medicina Reproductiva y Genética-afiliado a la Facultad de Medicina de la UBA.

La hemofilia es una afección ligada al sexo. El abordaje del PGD dependerá de la disposición o no de la caracterización molecular de la mutación. Cuando se desconoce la misma, las alternativas son el análisis por ligamiento Y el sexado de los pre-embiones.

- Se presenta el PGD en dos primas hermanas portadoras de hemofilia A por delección del triplete TTC en el exón 13 (mutación in frame (-3) en el codón 653 con pérdida de Phe).

La paciente A se realizó por sexado mediante FISH y la paciente B Por minisequenciación automática.



- Ambas pacientes fueron estimuladas con agonistas GnRH y Gonal F. La aspiración folicular fue programada a las 34 hs. de interrumpida la administración de gonadotrofinas y la aplicación de HCG. Los ovocitos fueron recuperados trans-ecográficamente y a los maduros se les efectuó el procedimiento ICSI.
- La biopsia embrionaria se realizó a las 68hs post fecundación perforando la membrana pelúcida con disparos de rayos láser a los pre-embiones evolutivos. La fase lútea se suplementó con progesterona intravaginal.
- En la paciente A solo se logró biopsiar a un pre-embrión evolutivo. En la paciente B a 8 de ellos.

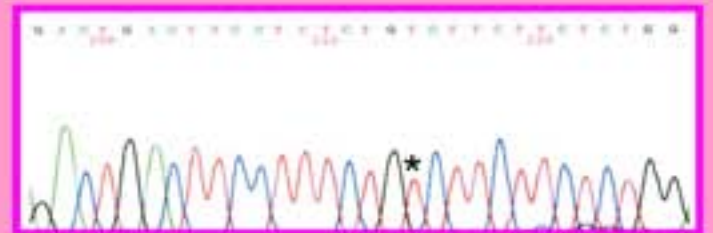


- En la paciente A la blastómera aspirada fue fijada sobre portaobjeto y se cohibridó con una mezcla de sondas centroméricas de los cromosomas 18, X e Y en el Hybrite de Vysis.

- Las blastómeras aspiradas de la paciente B fueron recogidas en tubos de PCR y lisadas con Proteinasa K. La PCR se realizó con los primers 13 A y B. El producto amplificado fue purificado y secuenciado con el primer 13 A en la PCR directa y con el 13 B en la PCR inversa.

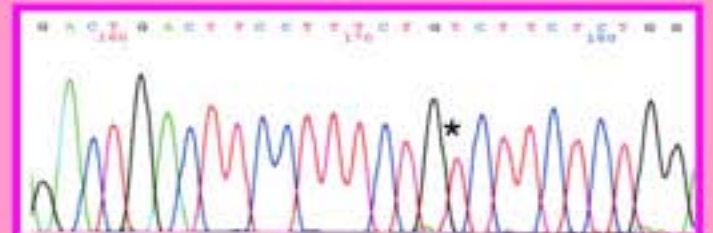
● Normal

TTT CTG TCT TCT TCT CTG G



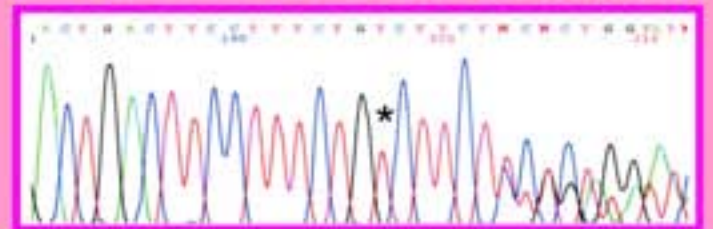
● Afectado

TTT CTG TCT TCT ~~T~~ CTG G



● Portador

TTT CTG TCT TCT TCT CTG G
TTT CTG TCT TCT CTG GAT A



●●● RESULTADOS

● **Paciente A:** el único pre-embrión evidenció señal de cromosoma Y

● **Paciente B:** de los 8 pre-embiones biopsiados resultaron normales 3, portadores 4 y afectado 1.

Si bien ambas metodologías tienen la finalidad de permitir el establecimiento de un embarazo libre de afección, el minisequenciado es el método de elección cuando la mutación está caracterizada, ya que aumenta la posibilidad de transferencia de embriones.