



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Unidad de Posgrado

**Fragmentación del ADN y aneuploidías cromosómicas
en espermatozoides asociados al diagnóstico genético
preimplantacional en pacientes subfértiles**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Biología

Molecular

AUTOR

Paul Wenceslao LÓPEZ GONZÁLEZ

ASESOR

Fernando Octavio RETUERTO PRIETO

Lima, Perú

2011

RESUMEN

El presente trabajo evaluó el factor masculino de los pacientes con historial de infertilidad, estandarizando y llevando a cabo dos pruebas que son de interés diagnóstico: 1) La fragmentación del ADN en espermatozoides, conocida como SCD, la cual se basa en la dispersión de la cromatina ante agentes denaturantes ácidos. 2) El FISH en espermatozoides, que busca conocer el riesgo de un paciente a formar aneuploidías cromosómicas en el proceso de espermatogénesis, este diagnóstico se correlacionó con los resultados en embriones cuando se realizó el Diagnóstico Genético Preimplantacional (PGD). La prueba de SCD fue estandarizada tomando solo dos tipos de comportamientos de dispersión que son: la dispersión y la no dispersión de la cromatina. La inducción a la descompactación se consiguió con tratamientos denaturantes a pH ácido y se visualizó por microscopía de fluorescencia. Para la evaluación cromosómica de los espermatozoides por FISH, las muestras fueron hibridadas para los cromosomas 13, 18, 21, X e Y. En el análisis del PGD, las muestras tomadas por las clínicas de fertilidad fueron recibidas en el laboratorio para el análisis de hibridación fluorescente *in situ* de una sola célula. Los resultados del SCD indican que el 30,51% de los pacientes presentaron índices de fragmentación del ADN (DFI) elevados. Se observó una relación directamente proporcional entre la edad y el DFI; se estableció un nuevo punto de corte de 29%. El 34,26% de los pacientes que se sometieron a la prueba de FISH en espermatozoides resultaron afectados por presentar aneuploidías cromosómicas. Con el PGD se muestra un riesgo incrementado de segregación de aneuploidías por vía paterna pasando desde un 30,71% de normalidad hacia un 19,14%. Nuestros resultados indican que la fragmentación de ADN en espermatozoides no se relaciona con las aneuploidías cromosómicas por ser eventos independientes y que las aneuploidías cromosómicas detectadas por FISH en espermatozoides conllevan a un riesgo embrionario, recomendándose el PGD.

Palabras clave: Espermatozoides, fragmentación de ADN, aneuploidías, diagnóstico genético, factor masculino.

ABSTRACT

The present study evaluated the male factor on patients with infertility history, standardized and carried out two tests that are of diagnostic interest: 1) Sperm DNA fragmentation, called the SCD test, based on the dispersion of chromatin with acid denaturing agents. 2) The sperm FISH test, that seek understand the risk of a patient to form chromosomal aneuploidies in the process of spermatogenesis, this test was evaluated with the results from Preimplantational Genetic Diagnostic (PGD) in embryonic samples. The SCD test was standardized taking only two types of dispersion behavior: Non chromatin dispersion and Chromatin dispersion. The dispersion was achieved applying treatments of denaturation with acid pH and was visualized for fluorescence microscopy. To evaluate the chromosomes by FISH, the samples were hybridized for the 13, 18, 21, X, Y chromosomes. In the standard analysis of PGD, samples taken from fertility clinics were received in the laboratory for the analysis of fluorescence in-situ hybridization of a single cell. The results of the SCD show that 30,51% of patients had increased your DNA fragmentation index (DFI). Showing a direct relationship between age and the DFI; it established a new cutoff of 29%. The 34,26% of patients who underwent the FISH test in sperm were affected showing chromosome aneuploidies. The PGD shows an increased risk of segregation of aneuploidies by paternal lineage from 30,71% of normal embryos to a 19,14%. Our results indicate that sperm DNA fragmentation is not related to chromosomal aneuploidies to be independent events and chromosomal aneuploidies detected by FISH in sperm results in an embryonic risk, recommending PGD.

Key words: Sperm, DNA fragmentation, aneuploidies, genetic diagnostic, male factor.