



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
TESIS DOCTORAL

Análisis del programa de Test Genético Preimplantacional de
Enfermedades Monogénicas (PGT-M) de la Unidad de Reproducción
Asistida del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de
Murcia

D.^a Inmaculada Torres González

2024



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
TESIS DOCTORAL

Análisis del programa de Test Genético Preimplantacional de
Enfermedades Monogénicas (PGT-M) de la Unidad de Reproducción
Asistida del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de
Murcia

Autor: D.^a Inmaculada Torres González

Director/es: D. Aníbal Nieto Díaz, y
D. Manuel Avilés Sánchez



**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD
DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022

D./Dña. Inmaculada Torres González

doctorando del Programa de Doctorado en

DOCTORADO EN BIOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LA SALUD REPRODUCTIVA (PLAN 2013)

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Análisis del programa de Test Genético Preimplantacional de Enfermedades Monogénicas (PGT-M) de la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia

y dirigida por,

D./Dña. Aníbal Nieto Díaz

D./Dña. Manuel Avilés Sánchez

D./Dña.

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Si la tesis hubiera sido autorizada como tesis por compendio de publicaciones o incluyese 1 o 2 publicaciones (como prevé el artículo 29.8 del reglamento), declarar que cuenta con:

- *La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- *En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 5 de julio de 2024

Firmado por INMACULADA
TORRES GONZÁLEZ -
***8968** el día
05/07/2024 con un
certificado emitido por AC
CAMERFIRMA FOR NATURAL

Fdo.: Inmaculada Torres González

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.

| Información básica sobre protección de sus datos personales aportados | |
|---|--|
| Responsable: | Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es |
| Legitimación: | La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos |
| Finalidad: | Gestionar su declaración de autoría y originalidad |
| Destinatarios: | No se prevén comunicaciones de datos |

| | |
|-----------|--|
| Derechos: | Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia |
|-----------|--|

AGRADECIMIENTOS

Hace ya muchos años comenzaba esta aventura, realizar mi doctorado en la Facultad de Medicina de la Universidad de Murcia. Aventura que pospuse primero por un embarazo, una hija... y que ahora, tres embarazos y 3 hijos después, por fin finalizo. Un camino muy largo, donde he pasado por varios proyectos, algunos sin resultados, otros dónde perdimos el modelo experimental por un micoplasma... No ha sido fácil, pero por fin cierro esta etapa, y quiero agradecer a todas y cada una de las personas que han estado a mi lado durante este periodo.

En primer lugar quiero dar las gracias a mis directores Aníbal Nieto y Manuel Avilés. Aníbal, gracias por tus aportaciones y ánimos, han sido muy gratificantes para el desarrollo de este trabajo. Manolo, gracias por tu paciencia y comprensión. Has estado a mi lado desde mis inicios en esta aventura, inculcándome tu disciplina y perseverancia.

Gracias a mi maestro, Emilio, lo mejor de esta profesión es haber compartido contigo cada día que trabajamos juntos. No me olvido, y te agradezco cada día, la oportunidad que me diste hace ya muchos años para formarme como embrióloga. Gracias también a todos los compañeros que han formado parte de Tahe, os llevaré siempre conmigo.

Gracias a mi URA, ¡¡qué gran proyecto!! A todos y cada uno de sus miembros. Gracias a Jesús Álvarez, por conseguir dar vida a este gran proyecto y dirigirlo tan bien. Gracias a Jorge por ayudarme con los listados y a Salva con las clasificaciones, a Adela, Isabel, M.^a José e Inma. A mis veteranas, Bienve, Consu, Mariló y Dina, por vuestros ánimos siempre, aportaciones, ideas y paciencia. A las "jóvenes", Aran, Lola y Miriam. A mi enfermera favorita Pepa, a Menchu, con la que siempre puedo contar. Lola, Vero, Eli, Pilar, Miriam y Consuelo. A la planta cero, donde todo comienza. Nunca me imaginé un equipo tan grande, sois todos increíbles y hacéis un trabajo magnífico todos y cada uno de vosotros.

Gracias al profesor Carlos Balsalobre, estadístico y apoyo fundamental en el análisis de los datos de este trabajo.

Gracias también a Isabel López y M.^a Carmen Martínez del Centro de Bioquímica y Genética Clínica y a Mary Ballesta de Genética Médica por su ayuda. Trabajar en un Hospital con profesionales de vuestra categoría es un privilegio.

Gracias a los compañeros de las clínicas concertadas, vuestra colaboración para la digitalización de los datos ha sido de gran ayuda.

Gracias a los compañeros del Departamento de Biología Celular, Paula, Pilar, Leo, Miriam y Nuri, no podría haber subsistido sin vuestra ayuda en la fase experimental de mis comienzos.

Gracias a mis amigas integrantes de “*This is us*” y “El Club de lectura” por estar siempre dispuestas para distraerme y pasar un buen rato cuando más lo he necesitado. Siempre tenéis el mejor consejo y las palabras más acertadas.

A mi gran familia, porque tener 31 primos hermanos es el mejor regalo que te pueden hacer para tener una infancia feliz y plena. Gracias a vosotros he aprendido el valor del trabajo en equipo, que es la colaboración, la empatía, compartir... ¡¡Sois los mejores!! Y muy especialmente a mis primas, Fátima y Carolina, habéis sido siempre el espejo en el que mirarme y me habéis enseñado que con trabajo y esfuerzo todo se puede conseguir, frase que se ha convertido en lema para mis hijos. Carol, con esta tesis, al igual que tú, habré cumplido nuestro sueño de la infancia, ambas seremos doctoras, tú como una gran pediatra cuidando de los pequeños, y yo como embrióloga, cuidando en el laboratorio de los estadios más tempranos de los pequeños, gracias por tus aportaciones profesionales y tus ánimos con este trabajo. También quiero agradecer a todas y cada una de mis tías, mis otras madres, vuestro amor incondicional siempre, y sentirme como una hija más en vuestros hogares han marcado la persona que hoy soy. Muy especialmente gracias a mi hermana, Silvia, desde que supe que iba a ser hermana mayor el significado de familia se engrandeció, gracias por ser la mejor hermana y amiga. A mis padres, Ramón y Conchi, gracias por vuestro amor, cariño, confianza y apoyo siempre. También quiero agradecer a mis otros padres, mis suegros, Joaquín y Yolanda, por ser siempre cómplices, junto con mis padres, y ayudarnos en nuestras aventuras.

En especial quiero dar las gracias a mi marido. Javi, eres mi mar en calma en los días de tormenta. Esta tesis se ha completado gracias a ti. Has sido mi gran apoyo, has cuidado de nuestros pequeños mientras yo me dedicaba a este proyecto. Gracias porque juntos hacemos el mejor equipo y conseguimos todas nuestras metas. Te quiero.

Y por último a mis 3 pequeños, Mar, Mateo y Mario, gracias por dar sentido a mi vida y demostrarme, día a día, que mi trabajo merece la pena, ayudar a otras personas en su deseo de ser padres, es el trabajo más bonito del mundo. Espero que sepáis perdonarme las ausencias. Os doy las gracias por vuestros besos, abrazos y paciencia mientras escribía, me han dado fuerzas para seguir adelante.

"Las aventuras no son nada si no las compartes con alguien"

Carl Fredricksen (*Up*)

Para Mar, Mateo, Mario y Javier, por mil aventuras más a vuestro lado (JMI)

| | |
|--|----|
| ABREVIATURAS | 17 |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | 21 |
| ÍNDICE DE TABLAS..... | 25 |
| 1. RESUMEN | 29 |
| 2. INTRODUCCIÓN..... | 35 |
| 2.1. TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA | 35 |
| 2.2. TEST GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL (PGT) | 40 |
| 2.2.1. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS (PGT-A) Y ESTRUCTURALES (PGT-SR)..... | 43 |
| 2.2.2. ENFERMEDADES MONOGÉNICAS (PGT-M)..... | 44 |
| 2.2.2.1. Herencia ligada a los cromosomas sexuales | 45 |
| 2.2.2.1.1. Herencia recesiva ligada al cromosoma X..... | 46 |
| 2.2.2.1.2. Herencia dominante ligada al cromosoma X..... | 46 |
| 2.2.2.2. Herencia autosómica..... | 47 |
| 2.2.2.2.1. Herencia autosómica recesiva..... | 47 |
| 2.2.2.2.2. Herencia autosómica dominante | 48 |
| 2.3. ETAPAS DEL PROCEDIMIENTO DE PGT-M..... | 49 |
| 2.3.1. CONSULTA DE GENÉTICA MÉDICA | 49 |
| 2.3.2. ESTUDIO DE INFORMATIVIDAD..... | 50 |
| 2.3.3. CONSULTA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA..... | 53 |
| 2.3.4. TRATAMIENTO DE FECUNDACIÓN <i>IN VITRO</i> | 56 |
| 2.3.5. BIOPSIA EMBRIONARIA..... | 67 |
| 2.3.5.1. Biopsia en D+3..... | 68 |
| 2.3.5.2. Biopsia en estadio de blastocisto (D+5 - D+6)..... | 69 |
| 2.3.6. “TUBING” DE LAS CÉLULAS..... | 70 |
| 2.3.7. ANÁLISIS GENÉTICO | 71 |
| 2.3.8. TRANSFERENCIA EMBRIONARIA | 75 |
| 2.3.8.1. Transferencia en fresco..... | 76 |
| 2.3.7.2. Criotransferencia | 77 |
| 2.4. ASPECTOS LEGALES Y PROTOCOLO PGT-M EN LA REGIÓN DE MURCIA..... | 80 |

| | | |
|--------|--|-----|
| 3. | HIPÓTESIS Y OBJETIVOS..... | 89 |
| 3.1. | JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO..... | 89 |
| 3.2. | HIPÓTESIS | 89 |
| 3.3. | OBJETIVOS..... | 89 |
| 3.3.1. | OBJETIVO GENERAL | 89 |
| 3.3.2. | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 90 |
| 4. | MATERIAL Y MÉTODOS | 93 |
| 4.1. | TIPO DE ESTUDIO | 93 |
| 4.2. | POBLACIÓN SOMETIDA A PGT-M | 93 |
| 4.2.1. | CRITERIOS DE INCLUSIÓN | 94 |
| 4.2.2. | CRITERIOS DE EXCLUSIÓN | 94 |
| 4.3. | LUGAR DE EJECUCIÓN | 95 |
| 4.4. | FUENTES DE DATOS..... | 95 |
| 4.5. | VARIABLES ESTUDIADAS | 96 |
| 4.5.1. | VARIABLES CUALITATIVAS | 97 |
| 4.5.2. | VARIABLES CUANTITATIVAS..... | 98 |
| 4.6. | ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS..... | 98 |
| 5. | RESULTADOS | 103 |
| 5.1. | ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN SOMETIDA A PGT-M..... | 103 |
| 5.2. | ANÁLISIS DE RESULTADOS CLÍNICOS DEL PROGRAMA DE PGT-M | 105 |
| 5.3. | ANÁLISIS DE LOS DATOS DEPENDIENDO DEL DÍA DE REALIZACIÓN DE LA BIOPSIA EMBRIONARIA..... | 110 |
| 5.4. | ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DEL TIPO DE TRANSFERENCIA EMBRIONARIA..... | 111 |
| 5.5. | ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LA RELACIÓN DE ANEUPLOIDÍAS VERSUS CANTIDAD DE OVOCITOS OBTENIDOS EN LA PUNCIÓN FOLICULAR..... | 112 |
| 5.6. | ANÁLISIS ECONÓMICO DEL PROGRAMA DE PGT-M EN EL SMS | 115 |
| 5.7. | ANÁLISIS DE LA EFECTIVIDAD DE UN PROGRAMA DE PGT-M + PGT-A..... | 117 |
| 5.8. | CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES SUSCEPTIBLES A REALIZAR UN TRATAMIENTO DE PGT-M..... | 120 |
| 5.9. | CATÁLOGO DE ENFERMEDADES MONOGÉNICAS ANALIZADAS EN LA REGIÓN DE MURCIA..... | 127 |
| 5.9.1. | ENFERMEDADES LIGADAS AL CROMOSOMA X..... | 127 |
| 5.9.2. | ENFERMEDADES AUTOSÓMICAS..... | 132 |

| | | |
|------|---|-----|
| 6. | DISCUSIÓN..... | 161 |
| 6.1. | ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN SOMETIDA A PGT-M | 161 |
| 6.2. | ANÁLISIS DE RESULTADOS CLÍNICOS DEL PROGRAMA DE PGT-M | 163 |
| 6.3. | RELACIÓN DEL DÍA DE REALIZACIÓN DE LA BIOPSIA VERSUS LA TASA DE GESTACIÓN CLÍNICA | 167 |
| 6.4. | RELACIÓN DEL TIPO DE TRANSFERENCIA EMBRIONARIA VERSUS LA TASA DE GESTACIÓN CLÍNICA | 168 |
| 6.5. | RELACIÓN DE ANEUPLOIDIAS VERSUS CANTIDAD DE OVOCITOS OBTENIDOS EN LA PUNCIÓN FOLICULAR..... | 169 |
| 6.6. | ANÁLISIS ECONÓMICO DEL PROGRAMA DE PGT-M EN EL SMS | 170 |
| 6.7. | ANÁLISIS SOBRE LA EFECTIVIDAD DEL PROGRAMA DE PGT-M + PGT-A..... | 171 |
| 7. | CONCLUSIONES | 175 |
| 8. | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 179 |
| 9. | ANEXOS | 201 |
| 9.1. | MEMORIA DE ACTIVIDADES CNRHA 2019-2023 (PROCEDIMIENTO “ABREVIADO”) | 201 |

ABREVIATURAS

- ADB** Anemia de Blackfan-Diamond
- ADN** Ácido desoxirribonucleico
- AME** Atrofia muscular espinal
- ASEBIR** Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción
- ARS** Síndrome de Axenfeld-Rieger
- BT** Beta talasemia
- CCM** Cavernomatosis Cerebral Múltiple
- CCD** Miopatía central core
- CDG** Deficiencia de fosfomanomutasa
- CEIC** Comité ético de Investigación Clínica
- CHO** Anticonceptivos orales
- CK** Creatinquinasa sérica
- CMH4** Miocardiopatía hipertrófica familiar tipo 4
- CMT** Enfermedad charcot marie tooth
- CMTF** Carcinoma de tiroides medular familiar
- CNRHA** Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida
- CP** Corpúsculo polar
- CT** Criotransferencia
- CTP** Comité Técnico Permanente
- DFEH** Distrofia facio-escápulo-humeral
- DGP** Diagnóstico genético preimplantacional
- DOTC** Deficiencia de ornitina transcarbamilasa
- DS** Solución de dilución
- ECG** Electrocardiograma
- EH** Enfermedad de huntington
- EPR** epitelio pigmentario de la retina

ES Medio de equilibrado

FCC Feocromocitoma

FISH Hibridación *in situ* fluorescente

FIV Fecundación *in vitro*

FQ Fibrosis quística

FSH Hormona folículo estimulante

GnRH Hormona liberadora de gonadotropina

HAM Hormona antimulleriana

Hb Hemoglobina

hCG Gonadotropina coriónica humana

HCUVA Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca

HLA Complejo mayor de histocompatibilidad

HMG Gonadotropina menopáusica humana

HNPCC Cáncer colorrectal hereditario sin poliposis

HPLC Cromatografía líquida de alta eficacia

HPA Antígenos plaquetarios

HSC Hiperplasia suprarrenal congénita

IA Inseminación artificial

ILE Interrupción legal del embarazo

IP Incontinentia Pigmenti

LAC Liquen amiloide cutáneo

LH Hormona luteinizante

LTRHA Ley 14/2006 Técnicas Reproducción Humana Asistida

MCI Masa celular interna

MDC1A Distrofia muscular congénita merosina negativa

MDF Miocardiopatía dilatada familiar

MDS Síndrome de distonía-mioclonía

MEN Neoplasia Endocrina Múltiple

MFS Síndrome de Marfan

MPS1 Mucopolisacaridosis Tipo 1

NF1 Neurofibromatosis Tipo 1

NGS Secuenciación masiva

N₂L Nitrógeno líquido

NM Miopatía Nemalínica

NS10 Síndrome de Noonan 10

OI1 Osteogénesis imperfecta tipo 1

OMIM *Online Mendelian Inheritance in Man*

PAF Poliposis adenomatosa familiar

PCR Reacción en cadena de la polimerasa

PGT Test genético preimplantacional

PGT-A Test genético preimplantacional de aneuploidías

PGT-M Test genético preimplantacional de enfermedades monogénicas

PKU Fenilcetonuria

PN Pronúcleo

RB Retinoblastoma

RP Retinitis pigmentaria

SEF Sociedad Española de Fertilidad

SHM Hipertermia maligna

SNC Sistema nervioso central

SNL Síndrome de Neu-laxova

SNP *Single nucleotide polymorphism*

SNS Sistema Nacional de Salud

SOP Síndrome del ovario poliquístico

SPCD Deficiencia sistémica primaria de carnitina

SPG4 Paraplejia espástica familiar tipo 4

SQTL Síndrome de QT largo familiar

STR *Short tandem repeat*

SUR Síndrome uña-rótula

SXF Síndrome X Frágil

TBS Síndrome de Townes-Brocks

TE Trofoectodermo

TF Transfer en fresco

TFNA Trombocitopenia aloinmune

HHT2 Telangiectasia hemorrágica hereditaria Tipo2

TRA Técnicas de Reproducción Asistida

TRF Síndrome trico-rino-falángico

TS Solución de descongelación

UE Unión Europea

URA Unidad de Reproducción Asistida

VS Solución de vitrificación

WS Solución de lavado

XLOA Albinismo ocular recesivo ligado al cromosoma X

ZP Zona pelúcida

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1: ETIOLOGÍA DE LA DISFUNCIÓN REPRODUCTIVA EN LA URA DEL HCUVA..... | 36 |
| FIGURA 2: EDAD MEDIA A LA MATERNIDAD PARA EL PRIMER HIJO (AÑOS) EN ESPAÑA. FUENTE INE..... | 37 |
| FIGURA 3: EDAD MEDIA DE LAS MUJERES AL NACER EL PRIMER HIJO (AÑOS) EN ESPAÑA (VERDE) Y LA UNIÓN EUROPEA (AZUL). FUENTE EUROSTAT..... | 38 |
| FIGURA 4. EDAD MEDIA DE LAS MUJERES AL NACER EL PRIMER HIJO POR PAÍSES DE LA UE. FUENTE EUROSTAT..... | 38 |
| FIGURA 5. ESTRUCTURA DEL ADN. FUENTE: BIORENDER.COM..... | 40 |
| FIGURA 6. ESQUEMA DE UN CARIOTIPO HUMANO Y REPRESENTACIÓN DE LA ESTRUCTURA DEL ADN. FUENTE: BIORENDER.COM..... | 41 |
| FIGURA 7. TABLA COMPARATIVA DEL NÚMERO DE RECIÉN NACIDOS VIVOS TRAS TÉCNICAS DE DGP ENTRE 2013 Y 2021. DATOS: REGISTRO SEF 2021..... | 43 |
| FIGURA 8. PGT-M POR EXCLUSIÓN BASADO EN EL ESQUEMA DE LA GUÍA SEF DE GENÉTICA REPRODUCTIVA..... | 45 |
| FIGURA 9: PATRÓN DE HERENCIA RECESIVA LIGADA AL CROMOSOMA X..... | 46 |
| FIGURA 10: PATRÓN DE HERENCIA DOMINANTE LIGADA AL CROMOSOMA X..... | 47 |
| FIGURA 11: PATRÓN DE HERENCIA AUTOSÓMICA RECESIVA..... | 48 |
| FIGURA 12: PATRÓN DE HERENCIA AUTOSÓMICA DOMINANTE..... | 48 |
| FIGURA 13: FIGURAS ESTANDARIZADAS PARA LA REPRESENTACIÓN DEL ÁRBOL FAMILIAR..... | 49 |
| FIGURA 14. EJEMPLO DE UN CASO: A) REPRESENTACIÓN DEL CROMOSOMA 17, SE PUEDE OBSERVAR EL GEN BRCA-1 EN LA POSICIÓN 17Q21.31. B) ÁRBOL FAMILIAR DE PACIENTE PORTADORA DE BCRA-1 (DOS GENERACIONES Y EMBRIONES ESTUDIADOS). C) SEGREGACIÓN GENÉTICA PARA LA VARIANTE PATOGENICA DE BCRA-1, DONDE EL HAPLOTIPO QUE SEGREGA LA MUTACIÓN APARECE EN COLOR ROSA..... | 51 |
| FIGURA 15. SE MUESTRAN UN CASO EJEMPLO DE LAS POSICIONES INFORMATIVAS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO (SNPs) LIGADAS AL GEN BRCA-1 (17Q21.31) EN: LA PACIENTE (PORTADORA), PAREJA (NO PORTADOR) Y MADRE DE LA PACIENTE (AFECTA). INFORME PROPORCIONADO POR BIOARRAY GENETIC DIAGNOSIS..... | 52 |
| FIGURA 16. DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL ESTUDIO DE LA PAREJA..... | 53 |
| FIGURA 17. ESQUEMA DEL PROTOCOLO LARGO CON ANÁLOGO EN LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA..... | 54 |
| FIGURA 18. ESQUEMA DEL PROTOCOLO CORTO CON ANÁLOGO EN LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA..... | 55 |
| FIGURA 19. ESQUEMA DEL PROTOCOLO CON DOSIS ÚNICA DE ANTAGONISTA EN LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA..... | 56 |
| FIGURA 20. DESCRIPCIÓN ESQUEMÁTICA DE LA PAUTA A SEGUIR EN LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA PARA FIV-ICSI. EN VERDE, TRATAMIENTO DE PRIMERA ELECCIÓN, Y EN SALMÓN, TRATAMIENTO DE SEGUNDA ELECCIÓN..... | 56 |
| FIGURA 21. PREPARACIÓN DE EQUIPAMIENTO Y CONSUMIBLES EN EL QUIRÓFANO..... | 57 |
| FIGURA 22. A) PUNCIÓN FOLICULAR EN QUIRÓFANO. B) IMAGEN ECOGRÁFICA DE LA PUNCIÓN OVÁRICA DONDE SE OBSERVAN LOS FOLÍCULOS OVÁRICOS..... | 58 |

| | |
|--|----|
| FIGURA 28. MICROSCOPIO INVERTIDO, CON MICROMANIPULADOR Y MICROINYECTOR. | 63 |
| FIGURA 32. A) OVOCITO CORRECTAMENTE FECUNDADO (2PN Y 2 CP). B) OVOCITO TRIPOIDE (3PN) Y C) OVOCITO CON 1 PN | 65 |
| FIGURA 33. TABLAS DE CLASIFICACIÓN EMBRIONARIA SEGÚN LOS CRITERIOS DE ASEBIR. FUENTE: ASEBIR GIE 2021 | 66 |
| FIGURA 34. DESARROLLO EMBRIONARIO DESDE D+1 (CIGOTO) HASTA D+5 (BLASTOCITO). | 66 |
| FIGURA 35. EJEMPLO DE UNA PLACA PARA BIOPSIA EMBRIONARIA. | 68 |
| FIGURA 36. BIOPSIA DE UN EMBRIÓN EN ESTADIO DE ESCISIÓN (D+3), SE PUEDE APRECIAR LA ROTURA DE LA ZP EN EL LADO DERECHO Y LA MICROPIPETA DE BIOPSIA RETIRANDO LA BLASTOMERA BIOPSIADA..... | 68 |
| FIGURA 37. EMBRIÓN DE D+5 CON EL TROFOECTODERMO SALIENDO POR LA APERTURA DE LA ZP, SUJETADO CON UNA PIPETA DE BIOPSIA. | 69 |
| FIGURA 38. A. BIOPSIA DE UN BLASTOCISTO POR TÉCNICA PULLING. B. BIOPSIA DE UN BLASTOCISTO POR TÉCNICA FLICKING..... | 70 |
| FIGURA 39. FASES DEL PROCESO DE TUBING: A) PLACA DE LAVADO, LAS CÉLULAS DEBEN LAVARSE AL MENOS 2 VECES CON PIPETA. B) TUBO DE AMPLIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS DEL TROFOECTODERMO. C) SOPORTE PARA EL TRANSPORTE. | 71 |
| FIGURA 40. ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA UTILIZANDO UNA Sonda ESPECÍFICA DEL CROMOSOMA Y PARA EL SEXADO DE EMBRIONES. LA FLECHA INDICA UNA BANDA DE 149 PB PRESENTE EN LAS CÉLULAS MASCULINAS. FUENTE: THE LANCET (HANDYSIDE ET AL., 1989)..... | 71 |
| FIGURA 41. SEXADO UTILIZANDO HIBRIDACIÓN IN SITU FLUORESCENTE (FISH) MEDIANTE SONDAS MARCADAS DIRECTAMENTE PARA LOS CROMOSOMAS X (VERDE), Y (ROJO) Y CROMOSOMA 18 (AZUL). A) (XX, 18,18). B) (XY, 18, 18). FUENTE: CAMBRIDGE MEDICINE PRESS (J. HARPER, 2009). | 72 |
| FIGURA 42. EJEMPLO DEL RESULTADO DEL ANÁLISIS POR TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN MASIVA NGS (NEXT GENERATION SEQUENCING) DE BIOARRAY. A) EMBRIÓN 8: EMBRIÓN EUPLOIDE. B) EMBRIÓN 14: EMBRIÓN CON MONOSOMÍA DEL CROMOSOMA 15 (LÍNEA ROJA). | 74 |
| FIGURA 43. DETECCIÓN DE ALLELE DROP-OUT (ADO) POR EL MÉTODO DE MINI-SECUENCIACIÓN. A) BLASTÓMERO HETEROCIGOTO PARA UNA VARIANTE PATOGENICA SIN ADO. B) OTRO BLASTÓMERO, DEL MISMO EMBRIÓN, CON ADO DE UN ALELO MUTADO. FUENTE: MOLECULAR HUMAN REPRODUCTION (FIORENTINO ET AL., 2003)..... | 75 |
| FIGURA 44. IMAGEN DE UNA TRANSFERENCIA EN EL QUIRÓFANO..... | 76 |
| FIGURA 49. DIAGRAMA DEL PROCEDIMIENTO DE EVALUACIÓN DE LAS SOLICITUDES DE INFORME POR LA CNRHA. FUENTE: CNRHA. | 81 |
| FIGURA 50. DIAGRAMA DEL PROCEDIMIENTO DE EVALUACIÓN DE LAS SOLICITUDES DE INFORME POR LA COMISIÓN REGIONAL DE MURCIA. FUENTE: CNRHA. | 82 |
| FIGURA 51. MAPA DE LAS 9 ÁREAS DE SALUD DE LA REGIÓN DE MURCIA. | 93 |

| | |
|---|-----|
| FIGURA 52. KPI PARA UN LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA. FUENTE: HUMAN REPRODUCTION (ESHRE SPECIAL INTEREST GROUP OF EMBRYOLOGY & ALPHA SCIENTISTS IN REPRODUCTIVE MEDICINE, 2017)..... | 96 |
| FIGURA 53. DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES POR ÁREA DE SALUD DE LA REGIÓN DE MURCIA..... | 105 |
| FIGURA 54. NÚMERO DE TRATAMIENTOS DE PGT-M EN LOS ÚLTIMOS 10 AÑOS. NOTA: 2024 NO ES UN AÑO COMPLETO, LOS DATOS RECOGIDOS SON HASTA FINAL DE ENERO DE 2024. | 106 |
| FIGURA 55: DISTRIBUCIÓN DE TRATAMIENTOS DE PGT-M EN LOS DISTINTOS LABORATORIOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA | 107 |
| FIGURA 56. FRECUENCIA DE GESTACIÓN CLÍNICA DEPENDIENDO DEL DÍA DE LA BIOPSIA. | 111 |
| FIGURA 57. FRECUENCIA DE GESTACIÓN CLÍNICA DEPENDIENDO DE LA TRANSFERENCIA EMBRIONARIA. | 112 |
| FIGURA 58. RELACIÓN ENTRE EL NÚMERO DE OVOCITOS Y EL NÚMERO DE EMBRIONES ANEUPLOIDES (N=65). | 113 |
| FIGURA 59. RELACIÓN ENTRE EL GRUPO DE EDAD DE LA PACIENTE (GEDAD) Y EL NÚMERO DE EMBRIONES ANEUPLOIDES (G1 N=20, G2 N=20 Y G3 N= 25)..... | 113 |
| FIGURA 60. RELACIÓN ENTRE LOS GRUPOS DE DURACIÓN DE LA ESTIMULACIÓN (GDE) Y EL NÚMERO DE EMBRIONES ANEUPLOIDES (G1 N=19, G2=32 Y G3 N=14). | 114 |
| FIGURA 61. RELACIÓN ENTRE LOS GRUPOS DE DOSIS TOTAL DE GONADOTROPINAS (GDG) Y EL NÚMERO DE EMBRIONES ANEUPLOIDES (G1 N=1, G2 N=12, G3 N=44 Y G4 N=8)..... | 114 |
| FIGURA 62. PRECIOS DE LOS TRATAMIENTOS DE PGT-M, DURANTE LOS ÚLTIMOS 10 AÑOS, DESDE EL AÑO 2014 HASTA EL AÑO 2024. | 117 |
| FIGURA 63. FRECUENCIA DE TASA DE GESTACIÓN EN RELACIÓN A LA TÉCNICA UTILIZADA (PGT-M O PGT-M+A).... | 118 |
| FIGURA 64. FRECUENCIA DE ABORTO EN RELACIÓN A LA TÉCNICA UTILIZADA (PGT-M O PGT-M+A)..... | 119 |
| FIGURA 65. DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE ENFERMEDADES RARAS EN LA REGIÓN DE MURCIA. FUENTE: SISTEMA DE INFORMACIÓN SOBRE ENFERMEDADES RARAS DE LA REGIÓN DE MURCIA (SIER)..... | 122 |
| FIGURA 66. DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL POR GRUPO DE ENFERMEDADES TRATADAS CON PGT-M EN LA REGIÓN DE MURCIA. | 123 |
| FIGURA 67. DISTRIBUCIÓN DE PGT-M REALIZADOS PARA EL SÍNDROME DEL X-FRÁGIL EN LA REGIÓN DE MURCIA. . | 124 |
| FIGURA 68. DISTRIBUCIÓN DE SÍNDROME DEL X-FRÁGIL EN LA REGIÓN DE MURCIA. FUENTE: SIER. | 124 |
| FIGURA 69. DISTRIBUCIÓN DE PGT-M REALIZADOS PARA LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON EN LA REGIÓN DE MURCIA. | 125 |
| FIGURA 70. DISTRIBUCIÓN DE LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON EN LA REGIÓN DE MURCIA. FUENTE: SIER..... | 125 |
| FIGURA 71. DISTRIBUCIÓN DE LA FIBROSIS QUÍSTICA EN LA REGIÓN DE MURCIA. FUENTE: SIER. | 126 |
| FIGURA 72. DISTRIBUCIÓN DE DE PGT-M REALIZADOS PARA FIBROSIS QUÍSTICA EN LA REGIÓN DE MURCIA. | 126 |
| FIGURA 73. PREVALENCIA DE ENFERMEDADES RARAS SEGÚN SEXO Y GRUPOS DE EDAD. FUENTE: SIER REGIÓN DE MURCIA 2015..... | 162 |

FIGURA 74. A) ÁREAS DE SALUD DE LA REGIÓN DE MURCIA. B) POBLACIÓN REGIÓN DE MURCIA 2023. FUENTE:
CENTRO REGIONAL DE ESTADÍSTICA DE LA REGIÓN DE MURCIA (CREM). 163

FIGURA 75. NÚMERO DE TRATAMIENTOS DE PGT-M EN LOS ÚLTIMOS 8 AÑOS SEGÚN EL REGISTRO SEF. NOTA: EL
NÚMERO DE TRATAMIENTOS EN 2020 ES MENOR DEBIDO A LA PANDEMIA DE COVID-19. 164

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|-----|
| TABLA 1. CÁLCULO DE TASAS EN EL LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA..... | 99 |
| TABLA 2. INDICADORES DEMOGRÁFICOS DE LA POBLACIÓN SOMETIDA A PGT-M..... | 103 |
| TABLA 3. NÚMERO DE CASOS POR ÁREA DE SALUD DE LA REGIÓN DE MURCIA. | 104 |
| TABLA 4. TABLA RESUMEN DEL PROGRAMA DE PGT-M EN EL HCUVA..... | 108 |
| TABLA 5. TABLA COMPARATIVA DEL PROGRAMA DE PGT-M EN EL HCUVA SEGÚN EL LABORATORIO | 109 |
| TABLA 6. RELACIÓN DE LA BIOPSIA D+3 O D+5 FRENTE A LA GESTACIÓN CLÍNICA. | 110 |
| TABLA 7. RELACIÓN DE LA TRANSFERENCIA EMBRIONARIA, TE O CT, FRENTE A LA GESTACIÓN CLÍNICA. | 111 |
| TABLA 8. TÉCNICAS Y PRECIOS CONCIERTO SMS (DESDE 2014-2018)..... | 115 |
| TABLA 9. TÉCNICAS Y PRECIOS CONCIERTO SMS (DESDE 2018-2023)..... | 115 |
| TABLA 10. TÉCNICAS Y PRECIOS (2022-2023)..... | 116 |
| TABLA 11. TÉCNICAS Y PRECIOS (2023-2024)..... | 116 |
| TABLA 12. RELACIÓN DE LA TÉCNICA UTILIZADA Y LA TASA DE GESTACIÓN CLÍNICA. | 118 |
| TABLA 13. RELACIÓN DE LA TÉCNICA UTILIZADA Y LA TASA DE ABORTO..... | 119 |
| TABLA 14. CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES MONOGENÉTICAS TRATADAS CON PGT-M EN LA URA.120 | |
| TABLA 15. NIVELES DE MUTACIÓN PARA X-FRÁGIL..... | 131 |
| TABLA 16. NIVELES DE MUTACIÓN PARA DM1. | 150 |



1.-RESUMEN

1. RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Las enfermedades monogénicas tienen una baja prevalencia en la población. Esta prevalencia difiere dependiendo del tipo de enfermedad, zona geográfica, sexo o grupo étnico, pero debido al gran impacto que tienen estas enfermedades a nivel familiar, en la salud y la calidad de vida de los pacientes que las padecen, son susceptibles de los tratamientos de PGT-M con el objetivo de seleccionar los embriones no afectados para su transferencia al útero materno. En la realización de dichos tratamientos en el laboratorio se pueden llevar a cabo distintos procedimientos y técnicas que pueden influir en las tasas de nacidos.

OBJETIVOS: Describir y analizar los resultados del programa de PGT-M de la Región de Murcia realizados en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, durante los últimos 10 años, desde la puesta en marcha del programa de diagnóstico preimplantacional, en el año 2014 hasta el 31 de enero de 2024, con el fin de proponer acciones para optimizar la gestión de recursos y los resultados del programa para aumentar el número de niño sano en casa.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se realizó un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo de los tratamientos de PGT-M realizados a pacientes con diagnóstico genético de portadores o afectados de enfermedades monogénicas, realizados por la Unidad de Reproducción Asistida (URA) del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA) desde el año 2014 hasta el 31 de enero de 2024. Los criterios de inclusión en el programa fueron: pacientes con diagnóstico confirmado con identificación del gen implicado o mutación causante del trastorno que debe ser grave. Las pacientes deben ser menores de 40 años, con un índice de masa corporal menor de 32 y una hormona antimülleriana mayor de 1 ng/ml, sin ningún hijo en común previo sano. Los datos para el análisis de las variables se recogieron del programa V Repro, previa digitalización de un total de 130 tratamientos, a partir del cual se creó la base de datos para el análisis estadístico de las variables. Los datos demográficos y diagnósticos genéticos se obtuvieron de la historia clínica informatizada en SELENE.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES: La población sometida a PGT-M estuvo representada por un 57,1% de mujeres portadoras o afectas, un 34% de varones portadores o afectados y un 15,9% de portadores de ambos miembros de la pareja. La edad media de las pacientes fue de $33,85 \pm 3,59$, el 63,8% de las pacientes era menor de 35 años. El grupo étnico caucásico se dio en el 95,12% de los casos, no teniendo parentesco común en el 96,75% de los casos. Por tanto, los resultados muestran que la mayoría de los tratamientos han sido realizados a mujeres, portadoras o afectas de las enfermedades monogénicas, menores de 35 años, y el grupo étnico mayoritario ha sido el caucásico.

La tasa de fecundación total fue del 70,23%, con una tasa de blastocisto del 49,15%. La media de embriones biopsiados en el programa de PGT-M fue del $4,20 \pm 2,90$. La tasa de gestación clínica total fue del 34,10%, con una tasa de aborto del 16,95% y una tasa de implantación del 31,05%. El laboratorio de la URA del HCUVA tuvo una tasa de fecundación del 65,36%, una tasa de blastocisto del 64,58%, y biopsiando una media de $2,77 \pm 2,01$ embriones, con una tasa de gestación clínica del 48,48%, y una tasa de aborto del 6,25%. En el análisis de los procedimientos y técnicas utilizadas se observa que todos los laboratorios alcanzan los valores de calidad recomendados por las sociedades científicas (ASEBIR y ESHRE), aunque el protocolo seguido por la URA del HCUVA ha sido el más eficiente.

El análisis estadístico al estudiar la tasa de gestación clínica dependiendo del día en el que se realizó la biopsia embrionaria fue del 44% para el D+5. Al analizar el tipo de transferencia embrionaria se observó una tasa de gestación del 37,5% cuando se realizaba en un ciclo en diferido. Por tanto, estos resultados demuestran que la biopsia embrionaria debería realizarse siempre en estadio de blastocisto y la transferencia embrionaria en un ciclo diferido.

Por otra parte, al analizar la tasa de aneuploidía en embriones en relación con el número de ovocitos recuperados, estadísticamente se observa una correlación moderada entre el número de ovocitos y el número de embriones aneuploides. Dicha correlación no se encuentra cuando se compara con la edad de la paciente, los días de estimulación y la dosis total de gonadotropinas. Por tanto, serían necesarios más estudios para corroborar una posible relación de las aneuploidías con la edad de la paciente, duración de la estimulación y la dosis total de gonadotropinas.

El estudio económico del programa de PGT-M muestra un ahorro de 7.003,92 € por tratamiento realizado, respecto al primer concierto del SMS (2014-2018), y de 2.273,01 € por tratamiento, si lo comparamos con el segundo concierto del SMS (2018-2023). Además, los resultados al estudiar la estrategia de realizar un programa de PGT-M+A muestran una tendencia positiva, sin diferencias significativas, con una tasa de gestación de 43,2%, frente al 31,6% y una tasa de aborto del 6,2% frente al 20,9%. La gestión de recursos económicos llevada a cabo desde la puesta en marcha del laboratorio de la URA, ha sido la más eficaz desde el comienzo del programa de PGT-M, siendo, en principio, la estrategia de un programa de PGT-M+A la correcta, aunque más estudios en esta línea podrían corroborar o refutar estos resultados en un futuro.

Finalmente, el catálogo de enfermedades susceptibles de PGT-M podrá servir como guía de consulta en la Región de Murcia.

INTRODUCTION: Monogenic disorders have a low prevalence in the population. This prevalence differs depending on the type of disease, geographic area, sex or ethnic group, but due to the great impact that these diseases have at the family level, on the health and quality of life of patients who suffer from them, they are susceptible to PGT-M treatments with the aim of selecting unaffected embryos for transfer to the mother's uterus. When carrying out these treatments in the laboratory, different procedures and techniques can be carried out that can influence birth rates.

OBJECTIVES: Describe and analyze the results of the PGT-M program of the Region of Murcia carried out at the Virgen de la Arrixaca University Clinical Hospital, during the last 10 years, from the launch of the preimplantation diagnosis program, in 2014 until January 31th, 2024, in order to propose actions to optimize resource management and program results to increase the number of healthy children at home.

MATERIAL AND METHODS: An observational, descriptive and retrospective study was carried out on PGT-M treatments performed on patients with genetic diagnosis of carriers or affected by monogenic diseases, carried out by the Assisted Reproduction Unit (URA) of the Virgen de la Arrixaca University Clinical Hospital (HCUVA) from 2014 to January 31th, 2024. The inclusion criteria in the program were: patients with a confirmed diagnosis with identification of the gene involved or mutation causing the disorder, which must be serious. Patients must be under 40 years of age, with a body mass index of less than 32 and an anti-Müllerian hormone greater than 1 ng/ml, without any healthy previous children in common. The data for the analysis of the variables were collected from the V Repro program, after digitizing a total of 130 treatments, from which the database for the statistical analysis of the variables was created. Demographic data and genetic diagnoses were obtained from the computerized clinical history in SELENE.

RESULTS AND CONCLUSIONS: The population subjected to PGT-M was represented by 57.1% of carrier or affected women, 34% of carrier or affected men, and 15.9% of carriers of both members of the couple. The average age of the patients was 33.85 ± 3.59 , 63.8% of the patients were under 35 years of age. The Caucasian ethnic group occurred in 95.12% of the cases, with no common relationship in 96.75% of the cases. Therefore, the results show that the majority of treatments have been carried out on women, carriers or affected by monogenic diseases, under 35 years of age, and the majority ethnic group has been Caucasian.

The total fertilization rate was 70.23%, with a blastocyst rate of 49.15%. The average number of embryos biopsied in the PGT-M program was 4.20 ± 2.90 . The total clinical pregnancy rate was 34.10%, with an abortion rate of 16.95% and an implantation rate of 31.05%. The HCUVA URA laboratory had a fertilization rate of 65.36%, a blastocyst rate of 64.58%, and biopsied an average of 2.77 ± 2.01 embryos, with a clinical gestation rate of 48.48%, and an abortion rate of 6.25%. In the analysis of the procedures and techniques used, it is observed that all laboratories reach the quality values recommended by scientific societies (ASEBIR and ESHRE). Although the protocol followed by the URA of the HCUVA has been the most efficient.

The statistical analysis when studying the clinical pregnancy rate depending on the day on which the embryo biopsy was performed was 44% for D+5. When analyzing the type of embryo transfer, a pregnancy rate of 37.5% was observed when it was performed in a delayed cycle. Therefore, these results demonstrate that the embryo biopsy should always be performed at the blastocyst stage and the embryo transfer in a delayed cycle.

On the other hand, when analyzing the aneuploidy rate in embryos in relation to the number of oocytes recovered, statistically a moderate correlation is observed between the number of oocytes and the number of aneuploid embryos. This correlation is not found when compared with the age of the patient, the days of stimulation and the total dose of gonadotropins. Therefore, more studies would be necessary to corroborate a possible relationship of aneuploidies with the patient's age, duration of stimulation and the total dose of gonadotropins.

The economic study of the PGT-M program shows a saving of €7,003.92 per treatment performed, compared to the first SMS concert (2014-2018), and €2,273.01 per treatment, if we compare it with the second. SMS concert (2018-2023). Additionally, the results when studying the strategy of carrying out a PGT-M+A program show a positive trend, without significant differences, with a pregnancy rate of 43.2%, compared to 31.6%, and an abortion rate of 6.2% compared to 20.9%. The management of economic resources carried out since the launch of the URA laboratory has been the most effective since the beginning of the PGT-M program, being, in principle, the strategy of a PGT-M+A program the correct one, although more studies along these lines could corroborate or refute these results in the future.

Finally, the catalog of diseases susceptible to PGT-M may serve as a reference guide in the Region of Murcia.



2.-INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

2.1. TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

La esterilidad se define como un trastorno del aparato reproductor (masculino o femenino) caracterizado por la incapacidad de conseguir un embarazo tras 12 meses o más de relaciones sexuales periódicas sin protección (Zegers-Hochschild et al., 2017; OMS, 2019). En los últimos años los profesionales en Medicina de la Reproducción han acuñado el término “Disfunción reproductiva” para englobar tanto la esterilidad como la infertilidad (imposibilidad de llevar a término un embarazo), y así desestigmatizar socialmente estos dos términos (Bruna Catalán et al., 2021).

Las causas de la disfunción reproductiva pueden deberse a distintos factores: masculinos, femeninos o mixtos. Los factores estrictamente masculinos suponen el 20% de los casos de esterilidad en la Unidad de Reproducción Asistida (URA) del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA), entre los que se encuentran:

- Disfunciones eyaculatorias: pueden deberse a actuaciones quirúrgicas en la zona inguinal y pélvica, que pueden provocar problemas eyaculatorios.
- Alteraciones endocrinas y alteraciones sistémicas: pueden deberse a hipogonadismo hipogonadotrofo (congénito o adquirido), hiperprolactinemia, obesidad, diabetes, etc. Así como a hábitos tóxicos como son el abuso del alcohol, el tabaco y otras sustancias nocivas.
- Varicocele: se trata de la dilatación de las venas del testículo (varices escrotales).
- Criptorquidia: testículos no descendidos al escroto.
- Enfermedades agudas: como pueden ser infecciones o traumatismos genitourinarios.
- Alteraciones cromosómicas y genéticas.

Los factores femeninos son muy diversos y suponen aproximadamente un 40 % de los casos de esterilidad en la URA. A continuación, se describen los principales:

- Factor tubárico: puede deberse a un bloqueo tubárico (proximal o distal), a las adherencias e hidrosálpinx por cirugías previas, a procesos como la endometriosis o a las secuelas de infecciones previas.
- Factor cervical y uterino: como pueden ser las cervicitis, sinequias y estenosis del cuello del útero tras una cirugía. Además de adherencias, endometritis, pólipos o miomatosis uterina, así como malformaciones uterinas y adenomiosis.

- Factor ovárico: puede ser debido al síndrome del ovario poliquístico (SOP), amenorrea hipotalámica, hiperprolactinemia, endometriosis ovárica o fallo ovárico. La evaluación de la reserva ovárica es crucial para la valoración del factor ovárico.
- Endocrinopatías y alteraciones sistémicas: pueden deberse a la obesidad, hiperprolactinemia, la hiperplasia suprarrenal congénita, la patología tiroidea, etc. Así como también a hábitos tóxicos como son el abuso del alcohol y el tabaco, entre otros.
- Edad materna avanzada: supone una disminución de la calidad ovocitaria.
- Otras causas: fallos de implantación o abortos de repetición.
- Alteraciones cromosómicas y genéticas.

Los factores mixtos conllevan en torno al 20% de los casos de disfunción reproductiva en la URA, el 11% restante no se identifica la causa, englobaría, por tanto, la esterilidad idiopática o de origen desconocido, siendo el 9% de los casos atribuidos a cambio de pareja en el proyecto reproductivo, según los datos recogidos en 2022 (Fig. 1).

FACTORES DE ESTERILIDAD EN LA URA DEL HCUVA

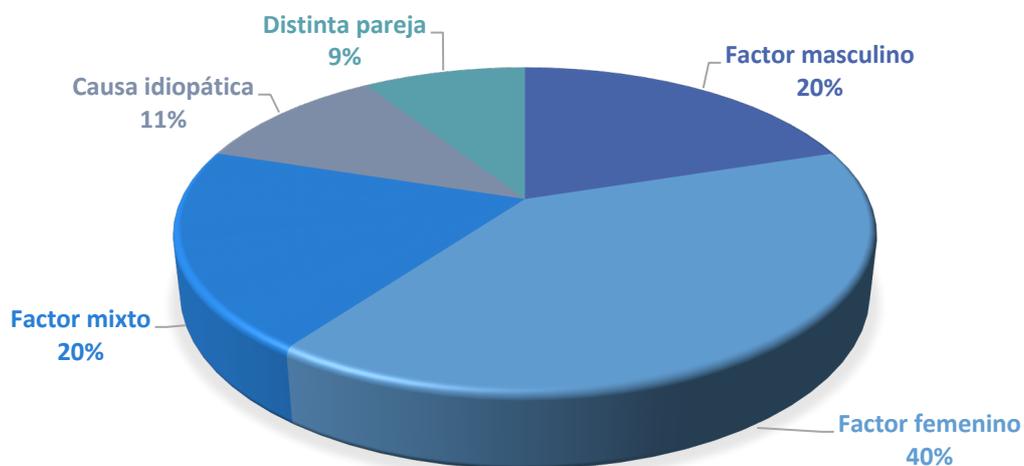


Figura 1: Etiología de la disfunción reproductiva en la URA del HCUVA.

En la población en edad fértil, la probabilidad de conseguir un embarazo por ciclo menstrual es del 20% (Nieto et al., 2022), llegando a ser de un 92% tras un año de relaciones periódicas sin protección. En la sociedad actual es complicado estimar la prevalencia global de la esterilidad debido a las diferentes metodologías utilizadas y a la dificultad de comparar distintas poblaciones. Si se

considera el número de parejas estériles aquellas que no han tenido descendencia, entonces la prevalencia estaría entre el 12,6% y 17,5% (Cox et al., 2022).

Por otra parte, no ayuda el retraso de la maternidad, según aumenta la edad de la mujer, disminuye la fertilidad como anteriormente se describía, debido principalmente a una disminución de la calidad ovocitaria (Meldrum, 1993). Este retraso se puede denominar esterilidad voluntaria transitoria, donde la mujer retrasa el embarazo hasta que se desarrolla académica, social y profesionalmente (Remohí et al., 2012). Este retraso va aumentando año tras año, como se puede comprobar en la figura 2. Los últimos datos registrados en España por el Instituto Nacional de Estadística (INE) sitúan la edad media de la mujer para tener el primer hijo en 31,6 años, lo que supone el mayor retraso en nuestro país para la búsqueda del primer hijo.

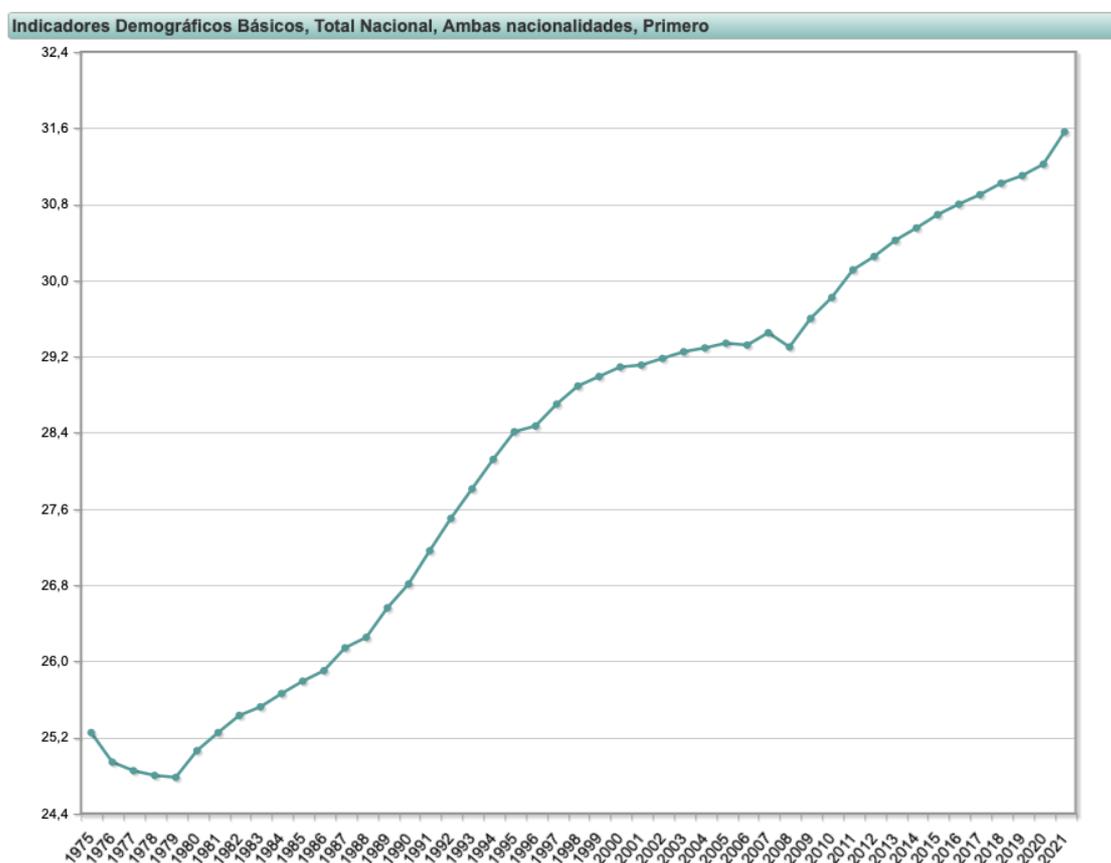


Figura 2: Edad media a la maternidad para el primer hijo (años) en España. Fuente INE.

A nivel europeo la edad de las madres primerizas también ha aumentado: en 2013 la edad media de las europeas para tener su primer hijo era de 28,8 años, cifra que se ha incrementado cada año hasta llegar a los 29,7 años en 2022 (Fig. 3).

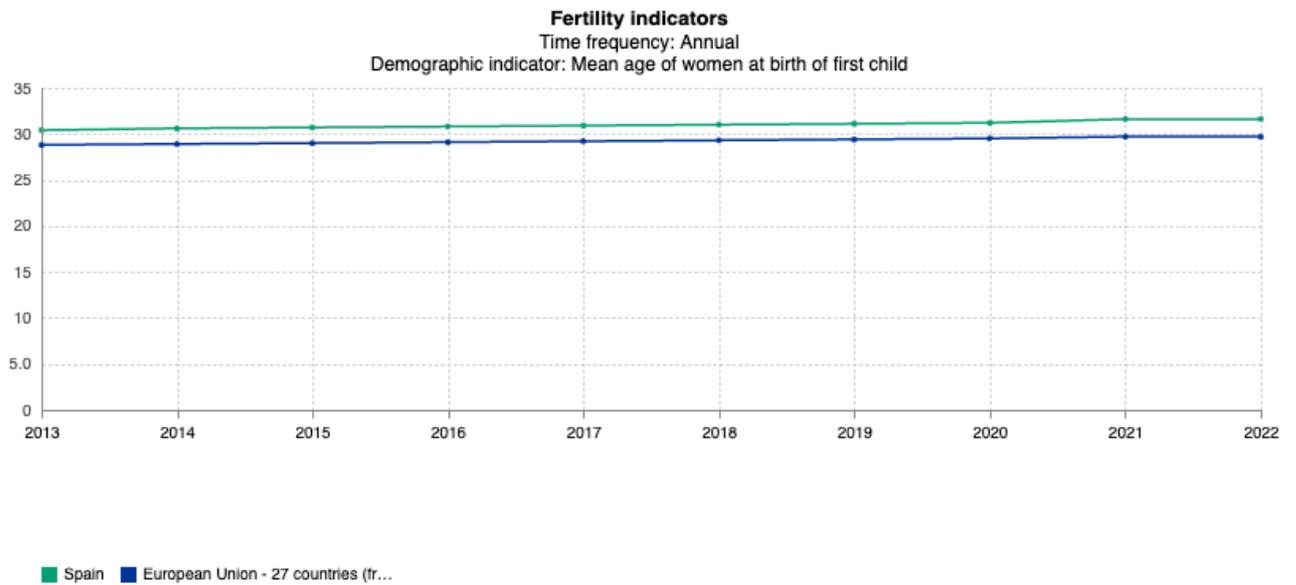


Figura 3: Edad media de las mujeres al nacer el primer hijo (años) en España (verde) y la Unión Europea (azul). Fuente Eurostat.

En 2021, las madres primerizas de mayor edad (31 años o más) se encontraron en España, Italia (ambos con 31,6), Luxemburgo (31,3), Irlanda, Suiza (ambos con 31,2) y Grecia (31). Las madres primerizas más jóvenes se observaron en Bulgaria (26,5) y Albania (26,6) (Fig. 4).

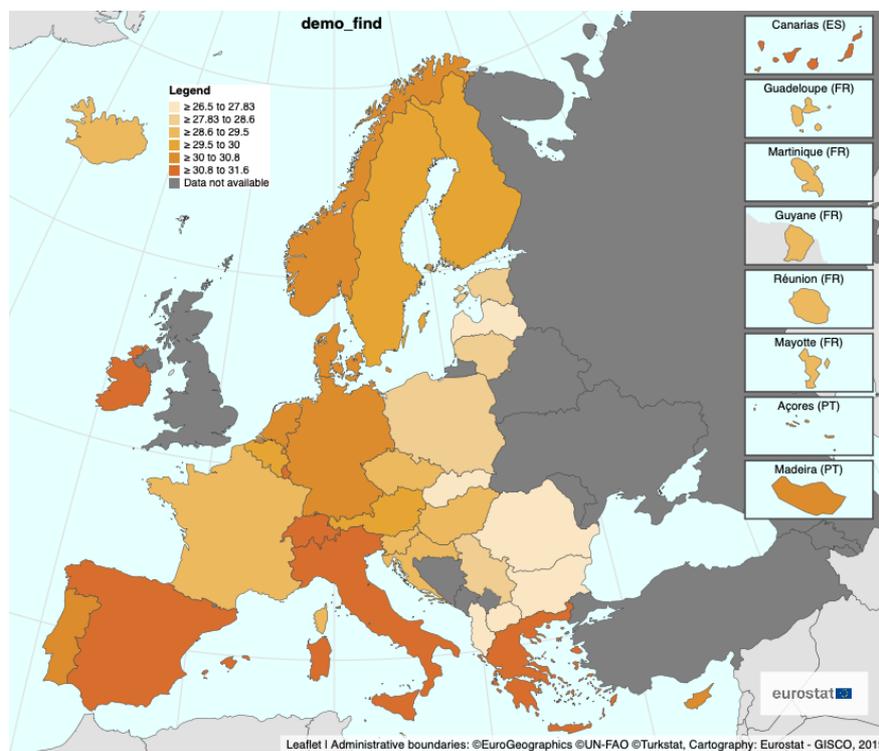


Figura 4. Edad media de las mujeres al nacer el primer hijo por países de la UE. Fuente Eurostat.

Por otro lado, en 2021 el INE registró en España 337.380 nacimientos, de los cuales 35.969 fueron concebidos por técnicas de reproducción asistida (TRA) según los datos recogidos en el Registro Nacional de Actividad 2021-Registro SEF, lo que supone un 10,7% del total de los niños nacidos en 2021.

Desde el nacimiento de Louise Brown, “primera bebé probeta”, el 25 de julio de 1978 mucho ha avanzado la medicina reproductiva. Para alcanzar este hito, el equipo del Dr. Robert Edwards, llevó a cabo un pionero trabajo que abarcó desde el 9 de enero de 1969 hasta el 1 de agosto de 1978. Se realizaron un total de 457 ciclos y 112 transferencias embrionarias (TE), que dieron como resultado cinco embarazos clínicos y dos nacidos vivos (uno de ellos fue Louise Brown), por tanto, la tasa de éxito representó un 1,8% de nacidos vivos por transferencia embrionaria (Fishel, 2018).

En la actualidad, en España, la tasa de recién nacido vivo por transferencia embrionaria se sitúa en el 27,4% (Registro-Sef 2021), donde se registró un total de 165.453 tratamientos de reproducción asistida, de los cuales 3.982 se realizaron en la Región de Murcia, lo que supone el 2,4% del total de los tratamientos realizados.

A nivel mundial es el *International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies* (ICMART), quien recoge anualmente los datos globales de los tratamientos de reproducción asistida realizados. En el último registro publicado, en 2018, sitúa el número de tratamientos realizados en 3,2 millones, de los cuales nacieron en el mundo en ese año, un total de 670.000 niños por TRA (Adamson et al., 2023).

La finalidad de las técnicas de reproducción asistida (TRA) es el nacimiento de un niño sano. Las TRA se puede dividir en técnicas de baja complejidad, que engloban el Coito Programado y la Inseminación Artificial (IA), y las técnicas de alta complejidad, que son todos los procedimientos para lograr el embarazo que implican la fecundación en el laboratorio y posterior transferencia al útero materno, lo que se conoce como fecundación *in vitro* (FIV) (Nieto et al., 2022). La FIV está indicada cuando existe una dificultad para que se produzca la unión del óvulo con un espermatozoide. Los casos más comunes que actualmente podemos encontrar en los centros de reproducción asistida son:

- Disfunción ovulatoria.
- Síndrome del ovario poliquístico.
- Baja reserva ovocitaria.
- Edad avanzada de la mujer.
- Factor masculino.

- Estudio genético del embrión o diagnóstico genético Preimplantacional (DGP).

2.2. TEST GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL (PGT)

Las células almacenan en su interior toda la información genética en una molécula llamada ácido desoxirribonucleico (ADN) descrita en el año 1953 por Watson y Crick. El ADN de todos los organismos está formado por las mismas unidades básicas, llamadas nucleótidos: adenina (A), timina (T), guanina (G) y citosina (C), que se unen por parejas mediante enlaces químicos, formando pares de bases (A con T y G con C) dando forma a la estructura característica de dos cadenas helicoidales (Fig. 5) (Watson & Crick, 1953)

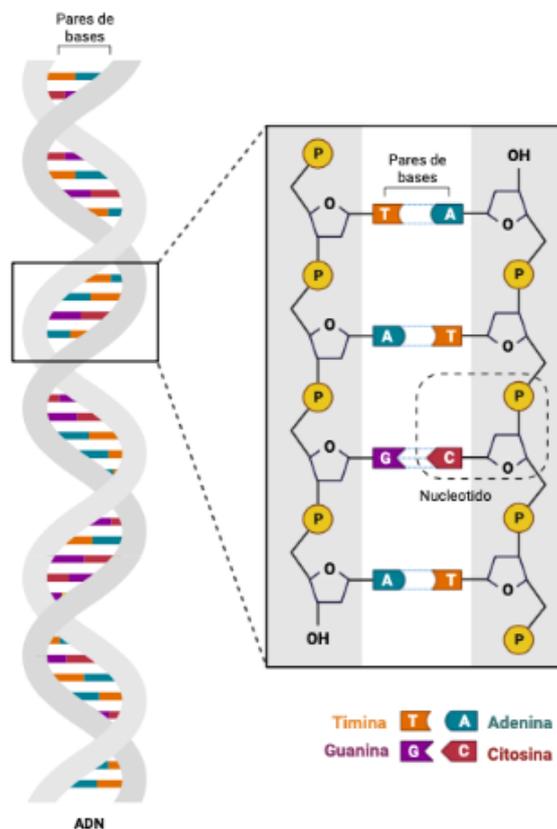


Figura 5. Estructura del ADN. Fuente: BioRender.com

Esta estructura se empaqueta en unidades más grandes llamadas cromosomas, estructuras separadas físicamente y que pueden variar en su longitud de 50 a 250 millones de pares de bases. Las células somáticas humanas son células diploides y tienen 23 pares de cromosomas, 22 cromosomas autosómicos y un par de cromosomas sexuales (46 XX o 46 XY), mientras que los gametos, son células haploides y contienen la mitad de cromosomas, es decir, tienen una sola copia. Cada cromosoma contiene un número elevado de genes, que son segmentos pequeños del ADN encargados de la

El DGP fue utilizado por primera vez en 1988 empleando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar el cromosoma Y, realizando un sexado de embriones para pacientes portadores de una enfermedad ligada al cromosoma X (Handyside et al., 1989). Comenzó a utilizarse como un procedimiento experimental, gracias al trabajo conjunto de los laboratorios de reproducción asistida y los laboratorios de biología molecular. Se desarrolló originalmente como una alternativa al diagnóstico prenatal para parejas con alto riesgo de transmitir un defecto genético (Shenfield et al., 2003). Inicialmente los métodos de análisis se basaron en la PCR para la detección de enfermedades monogénicas y la selección del sexo. Años más tarde, se introdujo la hibridación *in situ* fluorescente (FISH), para determinar el sexo en los embriones (J. C. Harper et al., 1994) y detectar anomalías cromosómicas numéricas y estructurales (Carvalho, Coonen, et al., 2020a).

A finales de 2017, las asociaciones de Reproducción Asistida más relevantes a nivel mundial consensuaron un nuevo glosario "*The International Glossary on Infertility and Fertility Care*", publicado en *Fertility and Sterility*, donde aparece un nuevo término que sustituye a DGP (Diagnóstico Genético Preimplantacional) y PGS (*Screening* Genético Preimplantacional), y pretende ser más exacto. El nuevo término es *Preimplantation Genetic Testing* (PGT), y para ser más concretos, se le añade las iniciales del tipo de anomalía que describe (Zegers-Hochschild et al., 2017):

- PGT-A (*Preimplantation Genetic Testing for aneuploidy*), que equivaldría al antiguo PGS y sirve para detectar anomalías numéricas, que es lo mismo que aneuploidías.
- PGT-SR (*Preimplantation Genetic Testing for structural diseases*), que además de las anomalías numéricas, contempla anomalías estructurales (translocaciones, deleciones, duplicaciones, inserciones, anillaciones o inversiones).
- PGT-M (*Preimplantation Genetic Testing for monogenic diseases*). Las enfermedades monogénicas son trastornos hereditarios causados por la mutación o alteración en la secuenciación de ADN de un solo gen. Son las enfermedades autosómicas recesivas, dominantes y ligada al cromosoma X.

Además, el PGT incluye:

- PGT con finalidad de prevención de la transmisión de enfermedades o trastornos de origen cromosómico o genéticos graves, de aparición precoz y no susceptibles de tratamiento curativo con arreglo a los conocimientos científicos actuales, con objeto de llevar a cabo la selección embrionaria de los preembriones no afectados para su transferencia. Las situaciones

que pueden dar lugar a TGP con finalidad preventiva son: 1. Enfermedades monogénicas susceptibles de diagnóstico genético preimplantatorio y 2. Anomalía cromosómica estructural o numérica materna o paterna (Carvalho, Coonen, et al., 2020b).

- PGT con fines terapéuticos a terceros: PGT en combinación con la determinación de los antígenos de histocompatibilidad HLA (antígeno leucocitario humano) de los preembriones *in vitro* para la selección del embrión HLA compatible (Carvalho, Coonen, et al., 2020b).

Por tanto, en la actualidad el PGT ha dejado de ser una técnica experimental y forma parte de las opciones diagnósticas dentro de las TRA. Según los últimos datos publicados en el Registro SEF, en España se registraron en el año 2021 un total de 4.480 nacimientos utilizando esta técnica de reproducción asistida, que ha ido aumentando a lo largo de los años (Fig. 7).

Recién nacidos vivos (PGT)

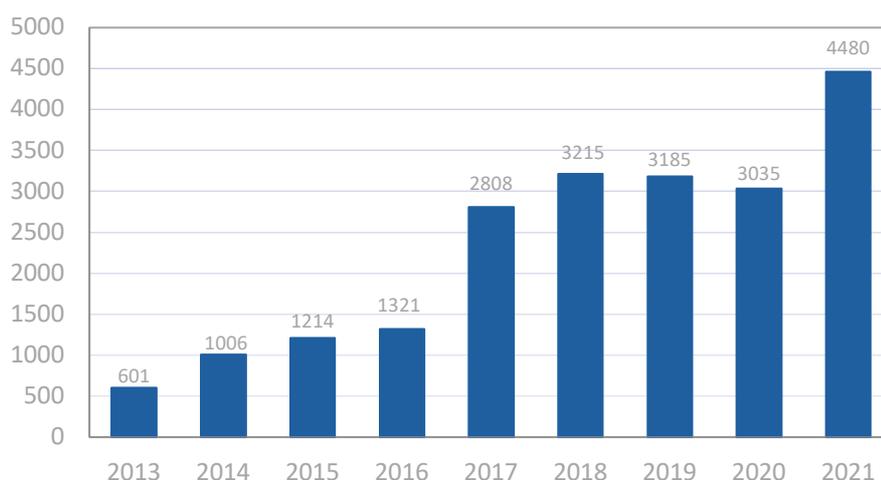


Figura 7. Tabla comparativa del número de recién nacidos vivos tras técnicas de DGP entre 2013 y 2021. Datos: Registro SEF 2021.

2.2.1. ALTERACIONES CROMOSÓMICAS (PGT-A) Y ESTRUCTURALES (PGT-SR)

Las anomalías cromosómicas se clasifican en numéricas, aquellas que afectan al número de cromosomas, y estructurales, las que afectan a su estructura (Arroyo, 2006). Siendo el PGT-A el que analiza las alteraciones cromosómicas y el PGT-SR el que analiza las alteraciones estructurales.

Las anomalías cromosómicas son mucho más frecuentes que todos los trastornos mendelianos monogénicos juntos, pues se calcula que afectan a 1 de cada 150 recién nacidos vivos. Se estima que estas anomalías afectan aproximadamente al 10-15% de las concepciones, de las cuales más del 95 % no llega a término (Arroyo, 2006).

Con el PGT-A se seleccionan los embriones cromosómicamente normales, aumentando la tasa de recién nacido vivo en casa (Rubio et al., 2013).

La SEF en su Guía de Genética Reproductiva (Plá & Vendrell, 2022) establece que los objetivos del PGT-A deben ser:

- Evitar los nacimientos de niños cromosómicamente anormales.
- Reducir el riesgo de aborto espontáneo.
- Aumentar las tasas de éxito en las TRA.
- Reducir el tiempo en conseguir el niño sano en casa.
- Mejorar el coste-eficacia de las TRA.

2.2.2. ENFERMEDADES MONOGENICAS (PGT-M)

El PGT-M se refiere al estudio de variantes patogénicas o probablemente patogénicas, que causan trastornos monogénicos, con un patrón de transmisión autosómico dominante, autosómico recesivo o ligado al cromosoma X (Carvalho, Moutou, et al., 2020) y supone la única opción reproductiva segura para pacientes portadores de una enfermedad hereditaria grave utilizando sus propios gametos.

El número de anomalías monogénicas conocidas ha ido aumentando a lo largo de los años. En la actualidad (actualizado a fecha de 25 de marzo de 2024), el *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM) estima que el total de registros de enfermedades monogénicas es de 27.328. De estas enfermedades se conoce la secuencia completa del gen en 17.244 registros, siendo de herencia autosómica en el 94,51% de los casos y ligada al cromosoma X en el 5,49% de los casos (<https://www.omim.org/statistics/entry>).

La mayoría de las alteraciones monogénicas se heredan siguiendo un patrón de herencia mendeliano. Los patrones dependen del número de alelos mutados que se necesitan para que se exprese la alteración. Cuando los dos alelos del gen están mutados se denomina herencia recesiva, en cambio sí sólo se necesita uno, estaríamos hablando de herencia dominante (Arroyo, 2006).

Existen casos especiales, cuando en una familia hay antecedentes familiares con trastornos neurodegenerativos de aparición tardía, como por ejemplo la enfermedad de Huntington, dónde los pacientes no quieren conocer su estatus genético, pero desean tener hijos que no sean afectados. En estos casos, se aplicaría el PGT-M de exclusión, mediante un análisis indirecto, que implica la transferencia de embriones que portan el haplotipo del abuelo no afecto (Fig. 8) (Plá & Vendrell, 2022).

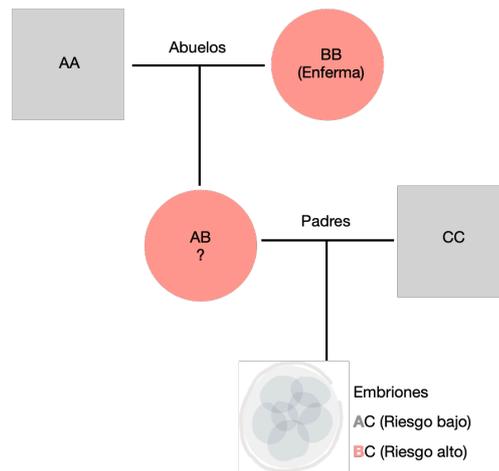


Figura 8. PGT-M por exclusión basado en el esquema de la Guía SEF de Genética Reproductiva.

El proyecto reproductivo en estas parejas, con un alto riesgo de tener descendencia afectada, va a seguir las siguientes opciones:

1. Reproducción habitual asumiendo los riesgos.
2. Reproducción habitual y realizar un diagnóstico prenatal invasivo.
3. Reproducción asistida realizando PGT-M.
4. Reproducción asistida con donación de gametos.
5. Adopción.
6. Renunciar a tener descendencia.

Los pacientes basan sus decisiones dependiendo de la gravedad de la enfermedad, su opinión frente a la interrupción legal del embarazo (ILE), sus creencias religiosas, el contexto cultural, las opciones que tengan de poder realizar PGT-M, etc.

2.2.2.1. HERENCIA LIGADA A LOS CROMOSOMAS SEXUALES

Los cromosomas sexuales son el cromosoma X y el cromosoma Y. Las mujeres tienen 2 copias del cromosoma X (XX), mientras que los hombres tienen una copia del cromosoma X y una copia del

cromosoma Y (XY) (Fig. 6). Las mujeres transmiten una copia de uno de sus cromosomas X a su descendencia, mientras que los varones a sus hijos les transmiten el cromosoma Y y a sus hijas el X.

La herencia ligada al cromosoma Y carece de interés clínico (Arroyo, 2006). Es la herencia que solo se transmite de padres a hijos y es poco común debido a la baja cantidad de información genética que contiene este cromosoma.

2.2.2.1.1. HERENCIA RECESIVA LIGADA AL CROMOSOMA X

En la herencia recesiva ligada al cromosoma X los hombres se ven afectados con mayor frecuencia que las mujeres, presentando todos, afectación clínica si heredan el alelo afecto, debido a que únicamente poseen un cromosoma X. Ambos padres de una hija afecta deben tener la mutación, pero sólo la madre debe ser portadora para tener un hijo afecto. Cada hija nacida de una madre portadora tendrá el 50 % de probabilidades de ser portadora (Fig. 9).

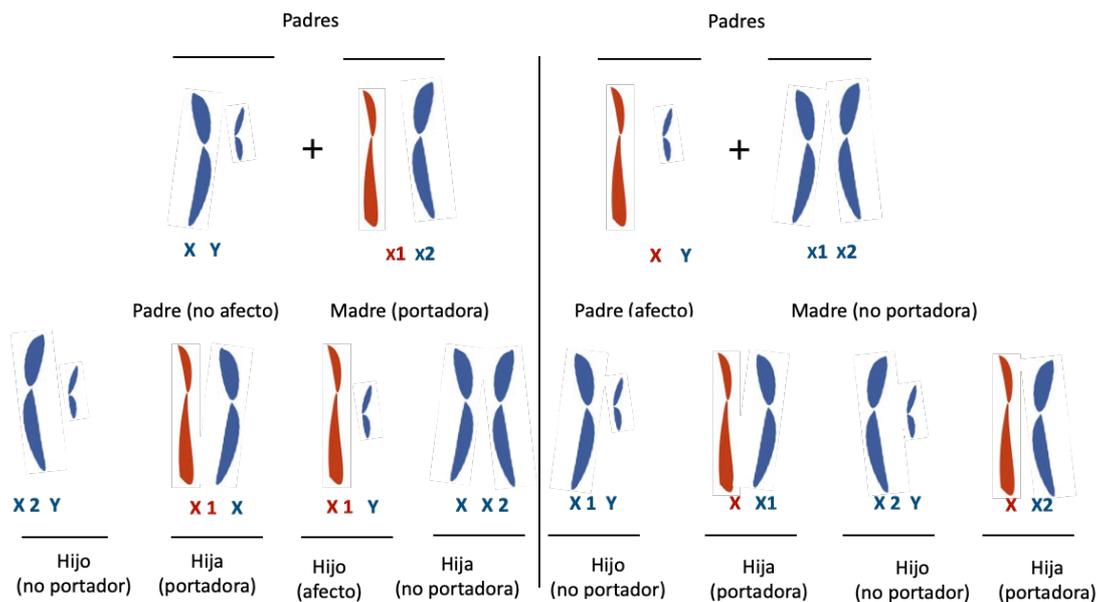


Figura 9: Patrón de herencia recesiva ligada al cromosoma X.

2.2.2.1.2. HERENCIA DOMINANTE LIGADA AL CROMOSOMA X

La herencia dominante ligada al cromosoma X en general afecta a ambos sexos, aunque la enfermedad suele ser más leve en las mujeres que en los varones. Los hijos (hombres y mujeres) de

una madre afecta tienen un 50% de probabilidad de ser afectados. Los hijos de un varón afecto no heredan la mutación pero sí lo harán todas las hijas (Fig. 10).

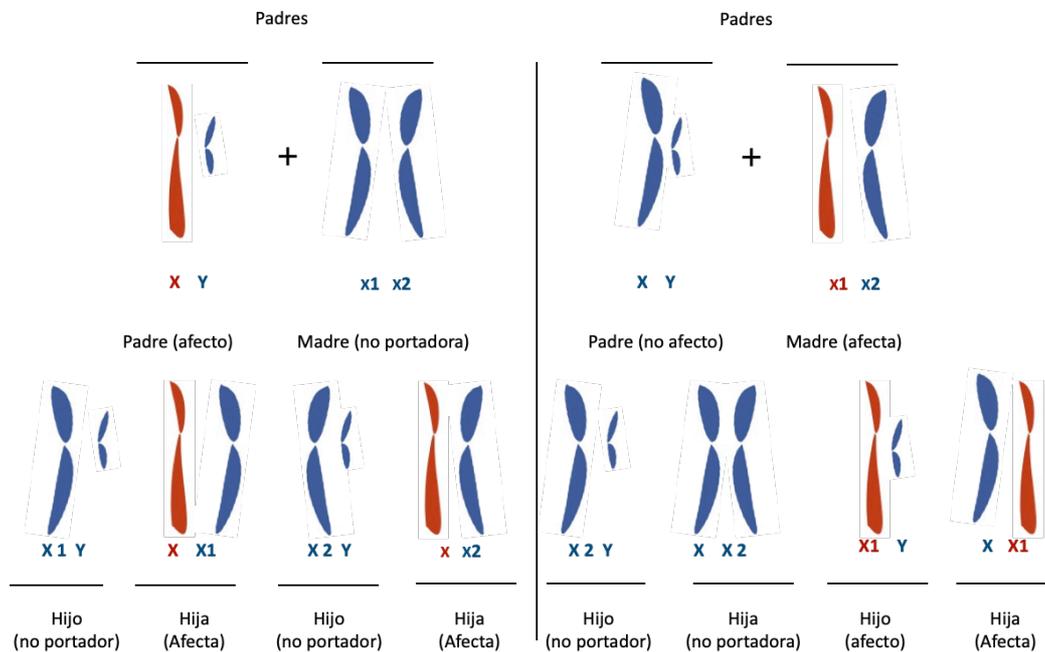


Figura 10: Patrón de herencia dominante ligada al cromosoma X.

2.2.2.2. HERENCIA AUTOSÓMICA

La herencia autosómica sigue un patrón de herencia donde la alteración o variante patológica está presente en los cromosomas autosómicos. Tanto hombres como mujeres poseen 22 cromosomas autosómicos o autosomas, ordenados numéricamente en función de su tamaño relativo aproximado, de forma inversa, es decir, a mayor tamaño, menor es el número que lo identifica (Fig. 6).

2.2.2.2.1. HERENCIA AUTOSÓMICA RECESIVA

En la herencia autosómica recesiva los individuos afectados son los que tienen 2 alelos mutados para el mismo gen en sus células. Los padres de la persona afectada suelen ser portadores (individuo heterocigoto para la variante patológica), pero no afectados. Normalmente no se ve en cada generación y afecta por igual a hombres y mujeres, siendo la probabilidad de transmisión a la descendencia la misma en hombres y mujeres (Fig. 11) (Arroyo, 2006).

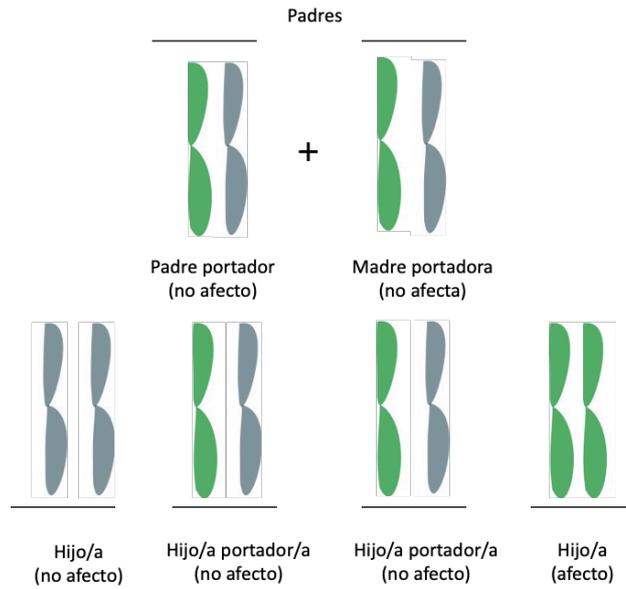


Figura 11: Patrón de herencia autosómica recesiva.

2.2.2.2.2. HERENCIA AUTOSÓMICA DOMINANTE

En la herencia autosómica dominante, los individuos afectados son los que tienen mutada una sola copia del gen en sus células. La tendencia es que ocurra en cada generación de una familia afectada y que uno de los padres sea afecto. La probabilidad de descendencia afectada es del 50 %, dándose por igual en los 2 sexos (tanto en hijos como en hijas) (Fig. 12). La frecuencia de estas alteraciones en la población es de 1/200 (Arroyo, 2006).

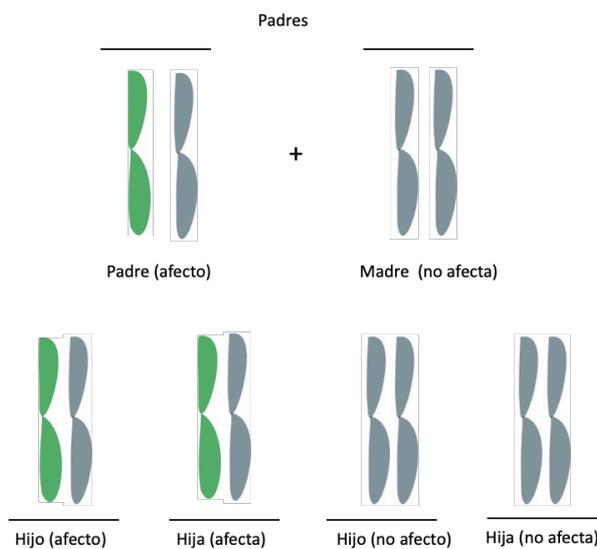


Figura 12: Patrón de herencia autosómica dominante.

2.3. ETAPAS DEL PROCEDIMIENTO DE PGT-M

El Test Genético Preimplantacional (PGT) es un procedimiento complejo, dividido en varias fases, en el que interviene un equipo multidisciplinar compuesto por diferentes profesionales especialistas en ginecología, enfermería, embriología, genética, biología molecular, etc. Requiere de una comunicación continua y siempre bajo unos estrictos controles de calidad, para asegurar el correcto funcionamiento de los procesos (Gómez Duro, 2018). Aunque el PGT-M es un procedimiento complejo, ha pasado de ser inicialmente una técnica experimental a convertirse en una consolidada alternativa al diagnóstico prenatal invasivo (Plá & Vendrell, 2022).

2.3.1. CONSULTA DE GENÉTICA MÉDICA

En la consulta de genética médica se realiza la historia clínica de los pacientes, se debe realizar una anamnesis genética de la pareja, siendo imprescindible que recoja la historia familiar de al menos tres generaciones, siguiendo la representación normalizada de la Fig. 13. Además de contener toda la información familiar necesaria de la pareja, también debe abarcar la revisión del diagnóstico (Bennett et al., 2008; Lashwood A, 2009).

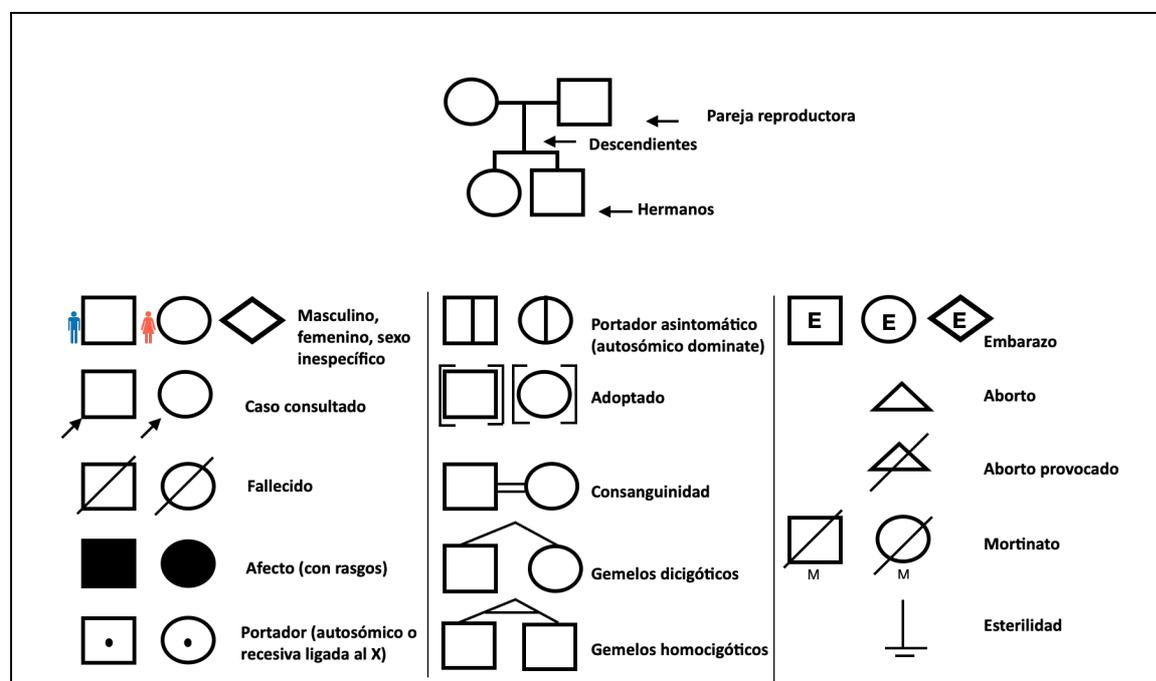


Figura 13: Figuras estandarizadas para la representación del árbol familiar.

Según la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, todo estudio genético con fines sanitarios ha de garantizar un asesoramiento genético apropiado. El objetivo del asesoramiento genético es

asegurar que los pacientes tengan la información necesaria y el apoyo para tomar las decisiones más adecuadas. Toda la información, oral y escrita, debe estar en un lenguaje claro y sencillo que pueda ser entendido por cualquier persona (Carvalho, Coonen, et al., 2020b). Se deben estudiar las expectativas, discutir beneficios, riesgos y limitaciones (Rueda J et al., 2021), respetando en todo momento la decisión de la persona interesada.

Los pacientes que precisan consejo genético se pueden clasificar en: 1. Pacientes que hayan tenido un hijo o embarazo diagnosticado con una alteración genética. 2. Pacientes con un hijo o embarazo con características dismórficas, anomalías físicas o del desarrollo. 3. Pacientes portadores o afectos de una alteración genética. 4. Miembros de una familia con alteraciones genéticas. 5. Pacientes con abortos espontáneos recurrentes y 6. Pacientes portadores de una alteración autosómica recesiva según su origen étnico (Lashwood A, 2009).

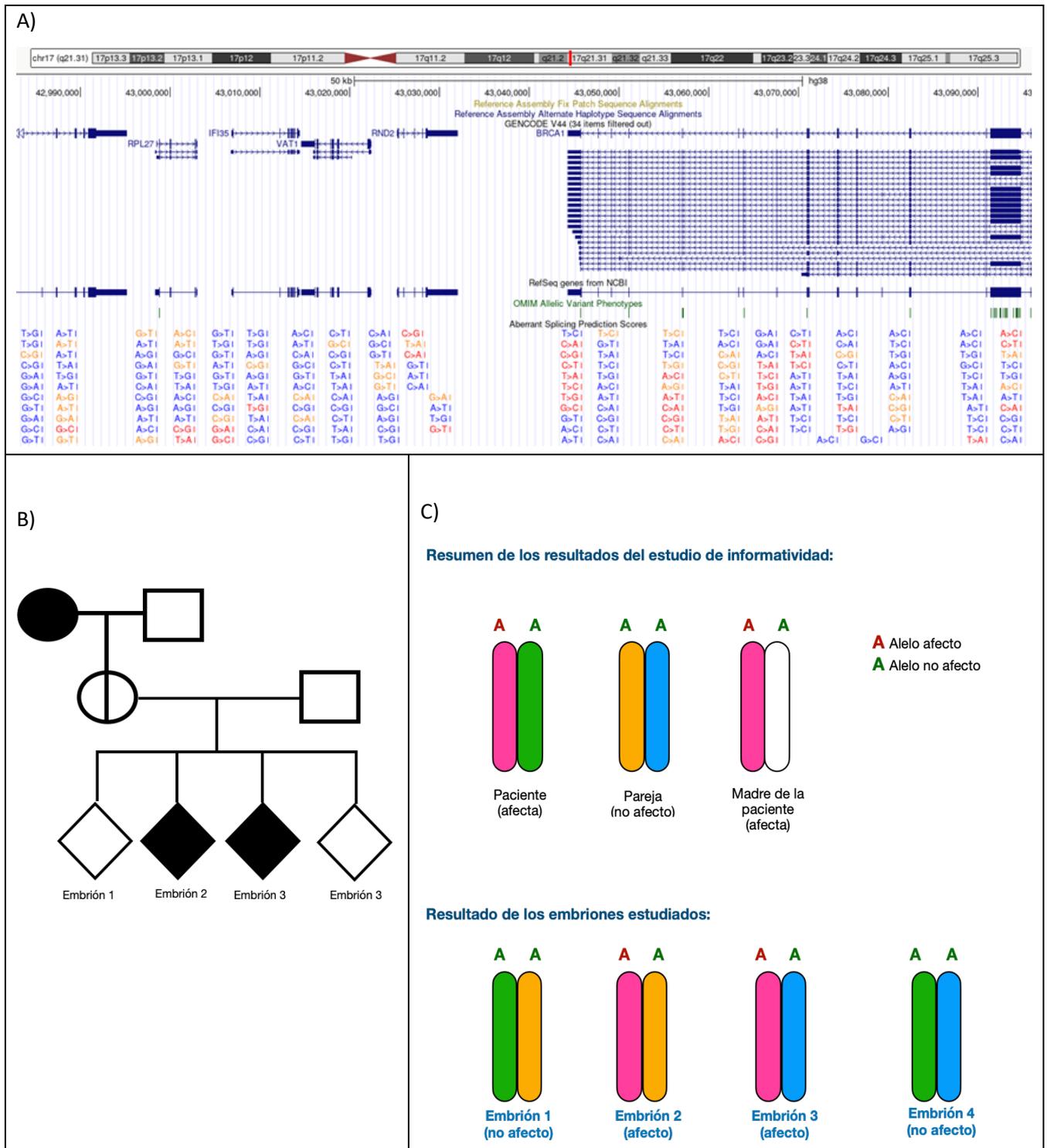
2.3.2. ESTUDIO DE INFORMATIVIDAD

Tras recibir el asesoramiento genético, y antes de realizar el tratamiento de FIV, se debe realizar el estudio de informatividad del gen implicado para cada pareja (Vendrell & Bautista-Llácer, 2012). Se trata de una verificación técnica del protocolo de ensayo antes de iniciar el tratamiento de reproducción asistida o antes del análisis del ADN embrionario. Este estudio debe comprender el análisis de muestras de ADN de la pareja reproductora y de sus familiares directos. Dependiendo de la técnica aplicada se puede realizar:

- Estudio directo: se estudia la variante patogénica causante del trastorno (genotipado del embrión), consiste en la amplificación y secuenciación de las regiones próximas al gen implicado para identificar la variante responsable de la mutación patogénica. Es de utilidad para casi todos los casos, además de, en casos con variantes *de novo* o en casos con ausencia de familiares para el estudio.

- Estudio indirecto: se basa en la ley de segregación genética donde cada individuo tiene dos alelos para un determinado carácter, pero sólo trasmite uno de ellos, es decir, se hereda uno materno y otro paterno, por tanto, identifica el haplotipo que segrega la variante patogénica, al analizar los polimorfismos, STRs (*short tandem repeat*) o microsatélites, asociados al gen en todos los participantes del estudio (Fig. 14) (P. Renwick et al., 2010; P. J. Renwick et al., 2006). Los STRs son secuencias cortas, no codificantes, que tienen una serie de repetición en tándem (un STR por cada 2.000-10.000 pb), de manera que permite establecer la segregación e identificar los alelos que se transmiten conjuntamente con la variante analizada (Fig. 15) (Gómez Duro, 2018). También pueden utilizarse otros marcadores, los SNPs (*single nucleotide polymorphism*), que tienen menor contenido

de información que los anteriores, pero son más abundantes (1 SNP por cada 300-1.000 pb) y fáciles de interpretar (Carvalho, Moutou, et al., 2020). Se utiliza en estudios de exclusión, casos de PGT-HLA, en casos de variantes desconocidas pero con estudio de ligamiento familiar conocido, grandes deleciones, inserciones y ausencia completa del gen.



| Hg19: Chr17 | Portadora | | No portador | | Afecta | |
|----------------|-----------|------|-------------|------|--------|------|
| | AI 1 | AI 2 | AI 1 | AI 2 | AI 1 | AI 2 |
| 39305956 | G | G | G | A | G | A |
| 39824539 | A | A | C | A | A | A |
| 39890876 | T | T | T | C | T | T |
| 39934890 | G | A | G | G | G | G |
| 39934892 | G | A | G | G | G | G |
| 39935056 | A | G | A | A | A | A |
| 40219433 | T | T | T | G | T | G |
| 40226151 | C | C | C | A | C | A |
| 40412165 | T | T | G | T | T | G |
| 40451363 | C | C | T | C | C | T |
| 40648096 | A | A | A | G | A | G |
| 40719474 | T | T | T | C | T | C |
| 40742454 | G | G | C | G | G | C |
| 40742683 | T | T | C | T | T | C |
| 40877902 | T | T | C | T | T | C |
| 41079374 | C | C | T | C | C | T |
| 41215825 | C | C | C | T | C | C |
| 41349312 | G | G | G | A | G | G |
| 41349336 | T | T | T | A | T | T |
| 41380756 | C | C | C | T | C | C |
| 41488792 | T | T | T | G | T | T |
| 41488828 | G | G | G | C | G | G |
| 41495308 | C | C | C | T | C | C |
| 41495423 | A | A | A | G | A | A |
| 41510850 | A | A | A | G | A | A |
| 41521524 | A | G | A | A | A | A |
| 41521666 | T | T | T | G | T | T |
| 41522213 | T | T | T | A | T | T |
| 41695247 | A | A | A | G | A | G |
| 41695263 | T | T | T | C | T | C |
| 41711427 | C | T | T | T | C | C |
| 41715233 | G | A | A | A | G | G |
| 41716941 | T | C | C | C | T | T |
| 41838012 | G | G | G | T | G | G |
| 41988453 | G | G | G | C | G | C |
| 41992951 | C | C | C | T | C | T |
| 41993017 | T | T | T | C | T | C |
| 42010359 | C | T | C | C | C | C |
| 42061629 | T | T | C | T | T | T |
| 42061695 | T | T | T | C | T | T |
| 42061761 | A | A | G | A | A | A |
| 42085972 | T | T | C | T | T | T |
| 42108366 | A | A | A | C | A | A |
| 42108423 | A | A | A | C | A | A |
| 42243771 | T | C | T | T | T | T |
| 42562632 | T | T | C | T | T | T |
| 42674071 | A | G | A | A | A | A |
| 42674110 | C | C | C | T | C | C |
| 42674160 | A | G | A | A | A | A |
| 42674307 | T | C | T | T | T | T |
| 42710086 | A | G | A | A | A | A |
| 43015300 | G | A | G | G | G | G |
| 43051319 | T | T | T | C | T | T |
| 43051345 | T | T | T | C | T | T |
| 43055579 | C | C | C | A | C | C |
| 43057585 | T | C | T | T | T | T |
| 43058742 | C | T | C | C | C | C |
| 43135449 | A | A | A | G | A | A |
| 43141966 | A | A | A | G | A | A |
| 43172849 | T | T | T | C | T | T |
| 43173131 | C | C | C | G | C | C |
| 43173273 | T | T | T | C | T | T |
| 43223292 | A | A | G | A | A | A |
| 43236109 | C | C | T | C | C | C |
| 43255681 | G | G | C | G | G | G |
| 43277541 | C | C | C | G | C | C |

Figura 15. Se muestran un caso ejemplo de las posiciones informativas de un solo nucleótido (SNPs) ligadas al gen BRCA-1 (17q21.31) en: la paciente (portadora), pareja (no portador) y madre de la paciente (afecta). Informe proporcionado por Bioarray Genetic Diagnosis.

2.3.3. CONSULTA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

En la consulta de reproducción se realiza el estudio de la pareja que debe incluir: una anamnesis completa, historial detallado de esterilidad, una exploración general y ginecológica, estudio ecográfico transvaginal, una analítica general y estudio hormonal (Fig. 16). Además, en el varón se debe realizar un estudio básico del factor masculino que incluye un seminograma básico (Coroleu Lletget & Fuente Bitaine, 2021).

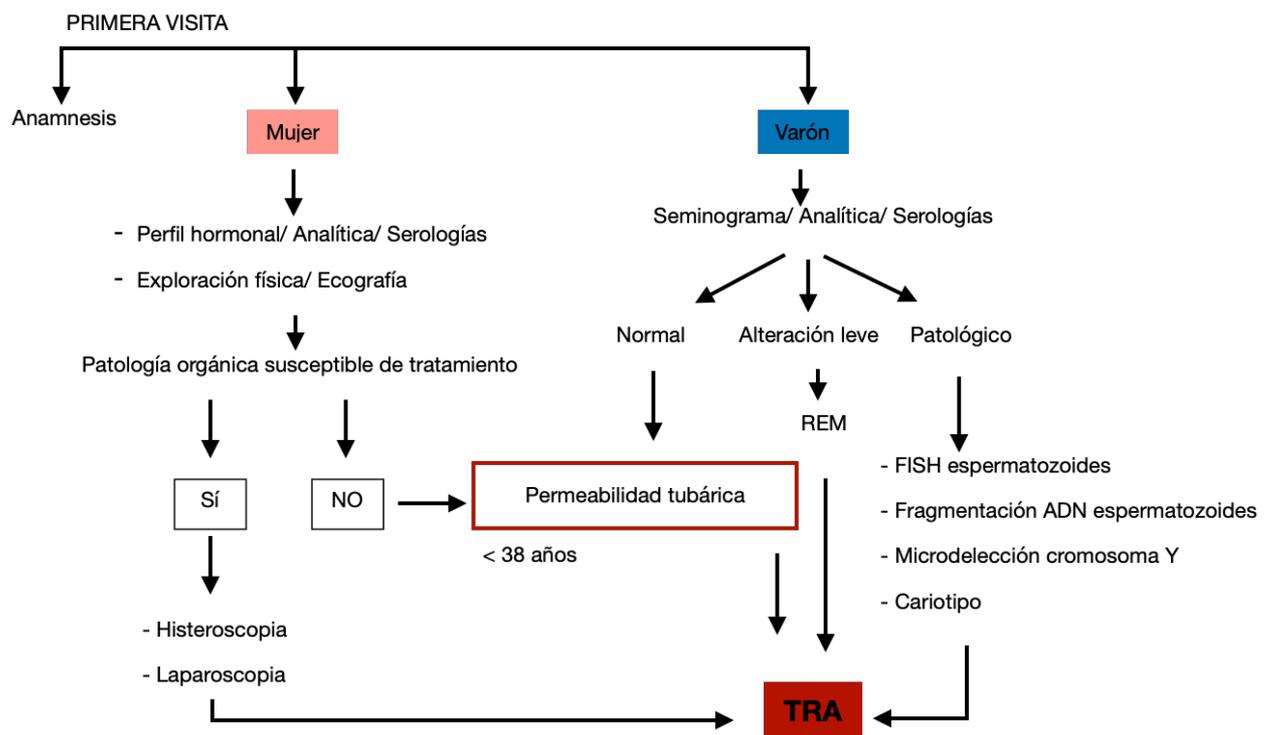


Figura 16. Diagrama de flujo para el estudio de la pareja.

Sabemos que una mujer con ciclos menstruales regulares cada 26-35 días tiene una probabilidad de embarazo del 20% por cada ciclo menstrual, donde el folículo dominante se desarrolla hasta que se produce la ovulación. En los tratamientos de reproducción asistida se pretende alcanzar el desarrollo de un número adecuado de folículos, para optimizar estas técnicas (Nieto et al., 2022). La estimulación ovárica se define como un tratamiento farmacológico que pretende inducir el desarrollo de los folículos del ovario (Zegers-Hochschild et al., 2017). Existen diversos fármacos para inducir la ovulación, entre los que se encuentran el citrato de clomifeno, los inhibidores de la aromatasa o las gonadotropinas. Las gonadotropinas estimulan el crecimiento folicular múltiple, por tanto, en la mayoría de los casos, son el tratamiento de elección para la hiperestimulación ovárica controlada de las pacientes sometidas a FIV (Remohí et al., 2012).

La FSH, hormona folículo estimulante, es una gonadotropina secretada por las células gonadotropas de la hipófisis y encargada del reclutamiento de los folículos y de su desarrollo. Existen en el mercado diferentes formatos de FSH, esencialmente de origen urinario o recombinante:

- Gonadotropinas menopáusicas humanas (HMG) urinarias para uso intramuscular.
- Gonadotropinas menopáusicas humanas urinarias altamente purificadas para uso subcutáneo o intramuscular.
- Gonadotropinas urinarias altamente purificadas para uso subcutáneo.
- Gonadotropinas recombinantes solas o combinadas (rhFSH y rhLH) para uso subcutáneo.
- Gonadotropina recombinante de acción prolongada (FSH-CTP).

En relación a la indicación médica del tipo de gonadotropina a utilizar para la estimulación ovárica, es importante destacar que existen diversos estudios que demuestran que todas las gonadotropinas disponibles en el mercado son igualmente efectivas y seguras. La elección de este fármaco dependerá de la disponibilidad del producto, la comodidad de su uso y los costes asociados (Patki et al., 2018; Van Wely et al., 2011).

Existen diversos protocolos de estimulación ovárica, siendo los más utilizados los que emplean los agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y los antagonistas de esta hormona, clasificándose en:

PROTOCOLO LARGO CON ANÁLOGOS DE LA GNRH

Protocolo de estimulación ovárica en el que se induce la supresión hipofisaria con un agonista de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). Se comienza a administrar entre el día 18-22 del ciclo previo y se mantiene hasta el inicio de la menstruación. Con la menstruación se inicia la estimulación con gonadotropinas y se reduce la dosis de análogo a la mitad hasta el día que se programa la inducción de la ovulación o *trigger* (Fig. 17).



Figura 17. Esquema del protocolo largo con análogo en la estimulación ovárica.

Las ventajas de su utilización son que se consigue un desarrollo folicular más sincrónico, evitan los picos de LH y permite programar la fecha de la punción ovárica para la captación folicular.

PROTOCOLO CORTO

El protocolo corto se inicia con la administración del agonista entre el 1^a y 2^o día del ciclo y se mantiene hasta el día de la inducción de la ovulación o *trigger*. Las gonadotropinas pueden iniciarse simultáneamente o 1 o 2 días después del comienzo del agonista y se mantienen hasta la inducción de la ovulación (Fig. 18). El objetivo es utilizar el efecto *flare up* o llamarada del agonista para reclutar la máxima cantidad de folículos, motivo por el cual este protocolo está indicado en pacientes baja respondedoras.

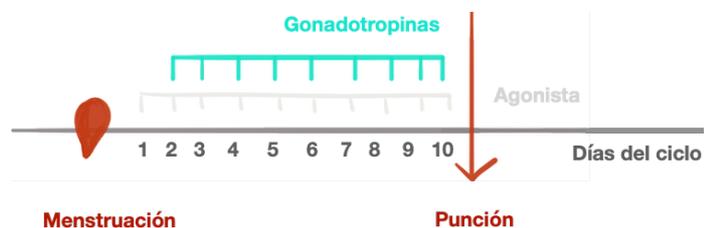


Figura 18. Esquema del protocolo corto con análogo en la estimulación ovárica.

PROTOCOLO CON ANTAGONISTA

Los antagonistas de la GnRH actúan de forma competitiva uniéndose al receptor y bloqueándolo, lo que causa la inhibición hipofisaria de forma inmediata. Las pacientes no presentan una supresión hipofisaria previa, por lo que a las gonadotropinas administradas de forma exógena se les une la producción de gonadotropinas endógena, lo que se traduce en una mayor posibilidad de asincronía folicular, para evitarlo se frena con anticonceptivos orales (CHO) o estrógenos (Fig. 19). Existen 2 protocolos de administración del antagonista:

- Dosis única: se administra una dosis única del antagonista entre el 7^o y el 8^o día del ciclo.
- Dosis múltiple: se administra una dosis diaria del antagonista desde el inicio de ciclo hasta el día del *trigger*.

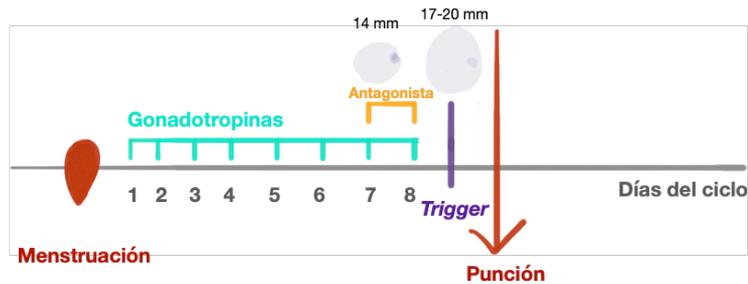


Figura 19. Esquema del protocolo con dosis única de antagonista en la estimulación ovárica.

En cuanto a la dosis, las recomendaciones de la última guía ESHRE sobre estimulación ovárica indican; en pacientes normo respondedoras comenzar, como primera opción, con 150-225 UI diarias de gonadotropinas, en un protocolo antagonista de la GnRH. En pacientes hiper respondedoras no superar la dosis diaria de 150 UI al día de gonadotropinas, en protocolo con antagonista como primera opción. En pacientes con baja respuesta, la dosis diaria recomendada es 150-300 UI de gonadotropinas, en protocolo agonista o antagonista de la GnRH (Fig. 20) (Bosch et al., 2021).



Figura 20. Descripción esquemática de la pauta a seguir en la estimulación ovárica para FIV-ICSI. En verde, tratamiento de primera elección, y en salmón, tratamiento de segunda elección.

2.3.4. TRATAMIENTO DE FECUNDACIÓN *IN VITRO*

La fecundación *in vitro* (FIV) es la fecundación de los gametos que se produce en el laboratorio, fuera del cuerpo de la mujer. Incluye la fecundación *in vitro* convencional y la microinyección intracitoplasmática (ICSI) (Zegers-Hochschild et al., 2017).

2.3.4.1. PUNCIÓN OVÁRICA

La técnica de punción ovárica o de aspiración folicular guiada por ultrasonografía se empezó a utilizar en 1982 por ser una técnica menos invasiva y que puede aplicarse en ciclos repetidos sin exponer a la paciente a un mayor riesgo (Wikland et al., 1985), sustituyendo así a la laparoscopia en

la mayoría de los centros. El objetivo de esta técnica es recuperar los ovocitos contenidos en el líquido folicular de los folículos ováricos.

La *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE) en su guía de buenas prácticas muestra las siguientes recomendaciones para la realización de la punción ovárica (D'Angelo et al., 2019):

- Debe realizarse en un momento preciso, 36 horas después de la administración de la medicación que desencadena la ovulación, antes de que se produzca la misma.
- Preparación de la paciente: debe estar en ayunas (6 horas), posición de semilitotomía o litotomía, vejiga vacía y con una vía intravenosa.
- Tipo de anestesia recomendada: sedación.
- Equipamiento y consumibles: ecógrafo con sonda transvaginal, aguja de punción, bomba de vacío con una presión negativa por debajo de 140 mm Hg y bloque térmico a 37°C para los tubos que contienen el líquido folicular (Fig. 21).



Figura 21. Preparación de equipamiento y consumibles en el quirófano.

La recuperación de ovocitos es un procedimiento extremadamente sensible por lo que se debe tener especial cuidado con la temperatura (37°C) y el pH (entre 7,2-7,4) de los medios de cultivo. Se debe realizar un control de identidad antes de la extracción de ovocitos, registrar la hora de la recuperación, el número de ovocitos obtenidos y el embriólogo que realiza el procedimiento. Además, se debe trabajar en campana de flujo laminar con la superficie calefactada a 37°C y estereomicroscopio con un aumento de 8x a 60x, minimizando el tiempo de exposición de los ovocitos a la luz. La manipulación debe ser rápida y eficiente, siguiendo las siguientes recomendaciones (Cuevas et al., 2023; De Los Santos et al., 2016):

- Recuperación de ovocitos: la punción folicular se realiza en el quirófano, donde se recoge el líquido folicular en los tubos de aspiración precalentados a 37°C, que pasan directamente al laboratorio de embriología (Fig. 22).

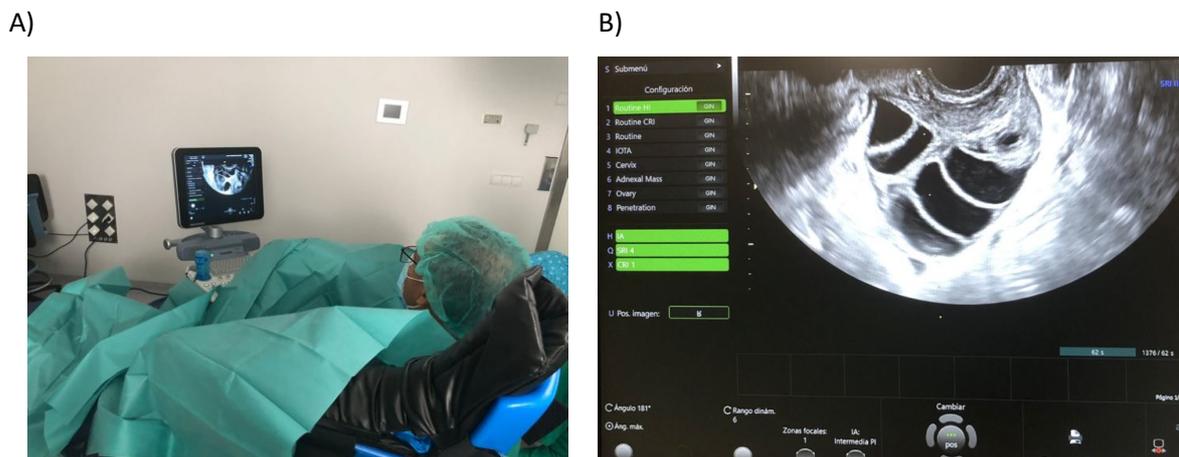


Figura 22. A) Punción folicular en quirófano. B) Imagen ecográfica de la punción ovárica donde se observan los folículos ováricos.

- Manejo de los ovocitos en el laboratorio (Fig. 23): una vez en el laboratorio, el líquido folicular se vierte sobre placas Petri precalentadas y se buscan los complejos cúmulo-corona-ovocito (COC). Una vez localizados, se pasan a una placa de lavado de ovocitos con medio tamponado suplementado con albumina, procediendo al lavado de los mismos.



Figura 23. Imagen del puesto de trabajo preparado para una punción folicular.

- Los medios de cultivo deben estar preincubados a 37°C y aproximadamente al 6% de CO₂ y cubiertos de aceite mineral (Fig. 24).

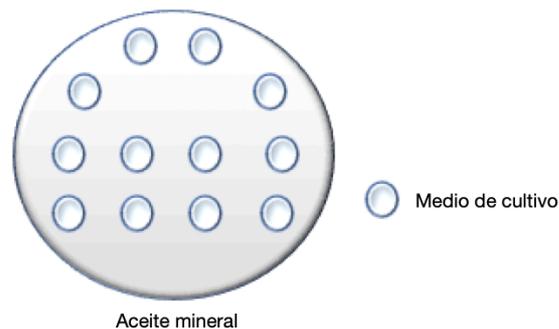


Figura 24. Ejemplo de una placa de cultivo en microgotas de 50µl cubierta de aceite mineral.

- Cultivo de los ovocitos: una vez limpios, se pasan a una placa de cultivo (Fig. 24) y se llevan a un incubador a 37°C y 6% CO₂ (incubadores doble gas) hasta su posterior decumulación. En algunos casos, además, el incubador tendrá una atmósfera reducida de O₂ al disponer de aproximadamente un 5% de N₂ (incubadores trigas).

2.3.4.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA SEMINAL

La preparación de la muestra seminal tiene como objetivo la eliminación del plasma seminal, desechos y contaminantes que acompañan a los espermatozoides en el eyaculado. Además de concentrar los espermatozoides móviles progresivos y seleccionar aquellos con una morfología adecuada. Las muestras deben recogerse en recipientes de plástico estériles debidamente

etiquetados, mantenerse a T^a ambiente (<20°C y >37°C), y entregarse al laboratorio lo antes posible para su preparación. Las técnicas de selección más utilizadas y aceptadas son los gradientes de densidad y el *swim up* (De Los Santos et al., 2016). No existen evidencias en favor de ninguna de las técnicas de selección espermática (Boomsma et al., 2019).

Los gradientes de densidad, técnica utilizada para la preparación de muestras seminales en los tratamientos estudiados, selecciona los espermatozoides maduros capaces de atravesar los gradientes de densidad de 45% y 85% hasta llegar al fondo del tubo cónico tras una centrifugación. Los espermatozoides muertos e inmaduros se quedarían en la interfase de ambos gradientes y el plasma seminal permanecería flotando sobre el gradiente de 45 (Cuevas et al., 2023) Tras la primera centrifugación a 300 g, se aísla el sedimento (que contiene los espermatozoides móviles) y se realiza una segunda centrifugación a 400 g con medio de cultivo. Finalmente se elimina el sobrenadante y se añade medio de cultivo limpio y tras resuspender la muestra queda lista para su utilización (Fig. 25).

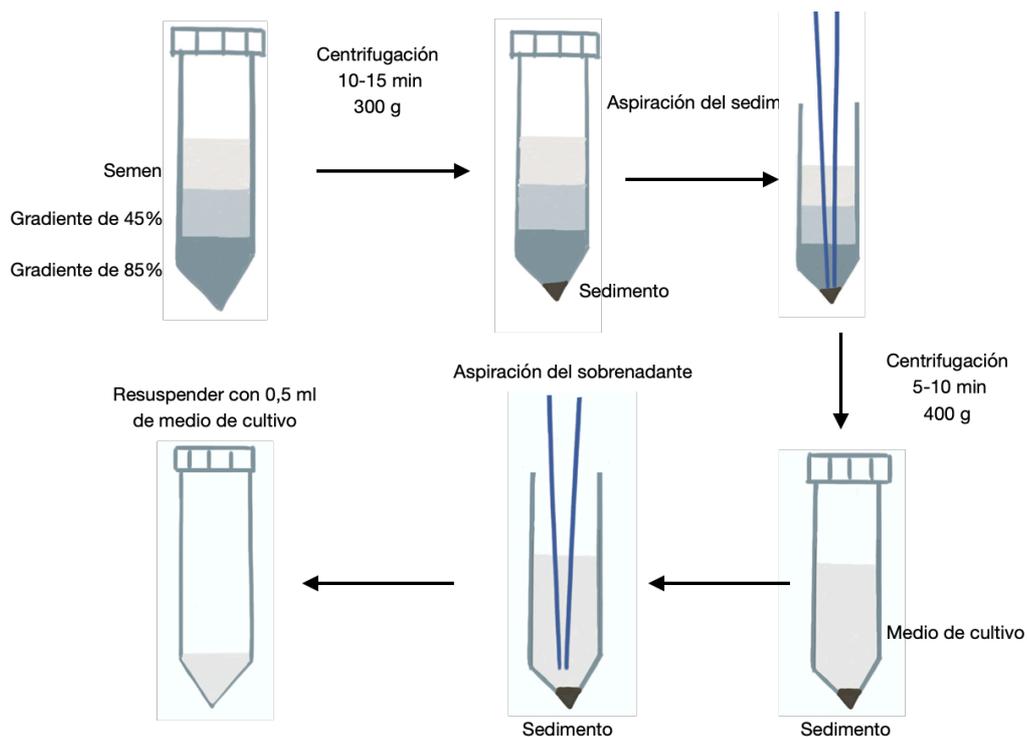


Figura 25: Diagrama de la preparación seminal por gradientes de densidad de 45% y 85%.

2.3.4.3. PREPARACIÓN DE LOS OVOCITOS PARA LA MICROINYECCIÓN (ICSI)

En el proceso de decumulación o denudación se preparan los ovocitos para el ICSI y consiste en desprender al ovocito de las células del cúmulo ovífero (De Los Santos et al., 2016). Este proceso consta de 2 fases (Fig. 26):

- Fase enzimática: en la primera fase se introduce los ovocitos en hialuronidasa de manera que se van desprendiendo las células del cúmulo ovífero, hasta que queda solo con su complejo corona-cumulus-ovocito. La concentración y exposición a la hialuronidasa debe mantenerse al mínimo (De Los Santos et al., 2016). Inicialmente se utilizaban concentraciones de hialuronidasa de 760 UI/ml, reduciéndose a 160 UI/ml, al observar la activación de los ovocitos, para posteriormente reducir la concentración a 80 UI/ml, aumentando así la tasa de fecundación y disminuyendo el número de ovocitos activados (Joris et al., 1998).
- Fase mecánica: en la segunda fase se deshace de las células de la corona de manera mecánica al pasar los ovocitos por pipetas de distinto diámetro. Se parte de diámetros mayores (aproximadamente 190 μm) hasta diámetros de menor tamaño (aproximadamente, 130-150 μm), donde se va pipeteando, en un medio tamponado suplementado con albúmina (Cuevas et al., 2023).

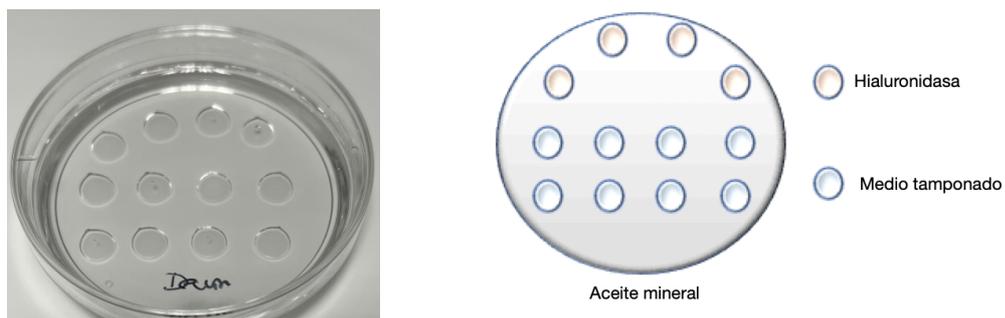


Figura 26. Ejemplo de placa de decumulación en microgotas de 50 μl y cubierta de aceite mineral y su esquema. Las gotas de color marrón representan la hialuronidasa y las gotas de color azul representan el medio tamponado.

Tras la decumulación se pueden observar las distintas estructuras del ovocito (zona pelúcida, espacio perivitelino y citoplasma) y es entonces, cuando se puede clasificar el ovocito dependiendo de la maduración nuclear, debiendo registrarse dicha maduración (De Los Santos et al., 2016):

- Ovocitos PI (Profase I o vesícula germinal): ovocitos inmaduros. Estos ovocitos no se deben microinyectar (Fig. 27 A).
- Ovocitos MI (Metafase I): ovocitos inmaduros, en los que no se observa el primer corpúsculo polar. Estos ovocitos no son idóneos para microinyectar (Fig. 27 B).

- Ovocitos MII (Metafase II): ovocitos maduros, en estado preovulatorio, en los que se observa el primer corpúsculo polar. Estos ovocitos son idóneos para la microinyección (Fig. 27 C).
- Ovocitos atrésicos, degenerados, partenogénicos o anormales. Estos ovocitos no se deben microinyectar.

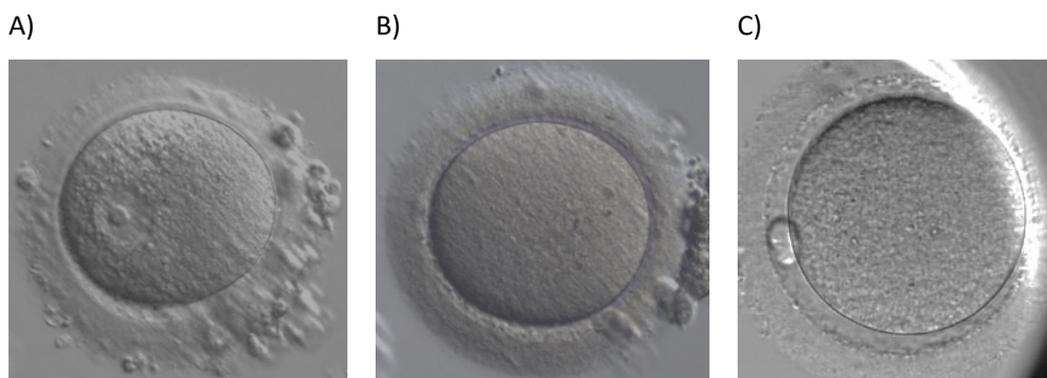


Figura 27. A) Ovocito en PI, B) ovocito en MI y C) ovocito en MII.

El tiempo entre la decumulación y la microinyección debe ser corto, ya que ovocitos desnudos son más vulnerables a los cambios de pH (De Los Santos et al., 2016) y realizarse dentro de las dos horas posteriores a la decumulación. Se ha demostrado que períodos de tiempo más cortos aumentan las tasas de implantación (Travassos et al., 2001).

2.3.4.4. MICROINYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA (ICSI)

La microinyección intracitoplasmática (ICSI) consiste en la introducción de un único espermatozoide en el interior de un ovocito, previamente decumulado (Palermo et al., 1992). La elección del espermatozoide la lleva a cabo el embriólogo teniendo en cuenta la movilidad y la morfología del mismo (De Los Santos et al., 2016; Remohí et al., 2013).

El ICSI se realiza utilizando un microscopio invertido de 400 aumentos, con óptica Hoffman o equivalente, un micromanipulador y un microinyector (Fig. 28). La ESHRE en su guía de buenas prácticas indica las siguientes recomendaciones para la realización de este procedimiento (De Los Santos et al., 2016):



Figura 28. Microscopio invertido, con micromanipulador y microinyector.

- Se deben registrar los datos de la microinyección: tiempo que dura el procedimiento, inicio y final. Además del embriólogo que lo realiza.
- Preparación placa de ICSI. A continuación se describe un ejemplo de placa de microinyección que con medio de polivinilpirrolidona (PVP), medio tamponado para el lavado de los ovocitos y medio tamponado para la microinyección de los ovocitos. La placa de ICSI debe mantener la Tª y pH adecuados. Dependiendo de cada embriólogo que realiza la técnica, la disposición de las gotas puede variar (Fig. 29).



Figura 29. Esquema de una placa para microinyección intracitoplasmática.

- Colocación de micropipetas. Pipeta de sujeción o *holding* en la parte izquierda y pipeta de ICSI en la parte derecha (Fig. 30).

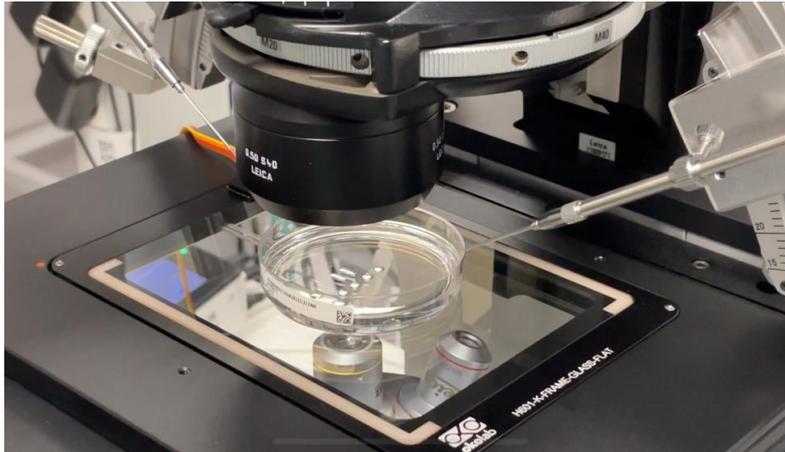


Figura 30. Imagen del microscopio donde puede apreciarse la posición de las micropipetas y la placa de ICSI (Fig. 29).

- Selección de espermatozoide e inmovilización. El manejo de los espermatozoides se realiza en PVP, medio de alta viscosidad, que facilita su manipulación e inmovilización y aspiración. Es importante minimizar el tiempo que dura la elección del espermatozoide y la microinyección.
- Microinyección intracitoplasmática del espermatozoide (Fig. 31). El ovocito debe colocarse con el corpúsculo polar (CP) a las 6:00 o a las 12:00 (siguiendo las agujas del reloj) ya que el CP indica cuál puede ser la posición del huso meiótico (Nagy et al., 1995), sujeto por la pipeta de *Holding*. La pipeta de ICSI (con el espermatozoide inmovilizado en su interior) atraviesa la zona pelúcida (ZP) y penetra en el citoplasma. Se aspira un poco de citoplasma para comprobar la rotura de la membrana plasmática y a continuación se deposita el espermatozoide en el interior del ovocito. Finalmente se extrae la pipeta de ICSI.

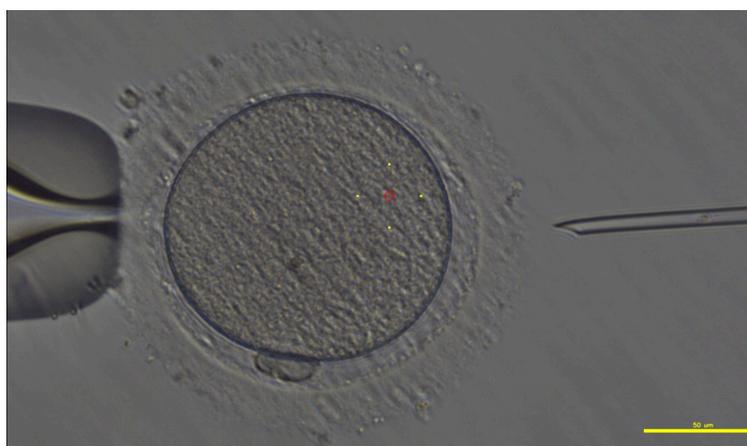


Figura 31. Imagen de la posición del ovocito en MII y las micropipetas, a la izquierda pipeta de sujeción y a la derecha pipeta de microinyección.

La técnica de elección, en todos los ciclos de PGT-M de este estudio, para realizar la inseminación de los ovocitos en MII con un espermatozoide, ha sido la microinyección intracitoplasmática (ICSI).

2.3.4.5. VALORACIÓN DE LA FECUNDACIÓN

La fecundación se define como una secuencia de procesos biológicos que comienzan con la entrada de un espermatozoide en un ovocito maduro y continua con la formación de los pronúcleos (Zegers-Hochschild et al., 2017). La relación de pronúcleos (PN) y cuerpos polares (CP) correcta para una fecundación adecuada es 2PN y 2CP (Fig. 32 A) (Hurtado de Mendoza et al., 2015).

Los ovocitos microinyectados se examinan pasadas entre 16 y 18 horas del ICSI para valorar la presencia de los PN y de los CP. La evaluación se realiza con microscopio invertido de 400 aumentos, con óptica Hoffman o equivalente o con incubadores *Time Lapse* (De Los Santos et al., 2016).

Los embriones derivados de ovocitos con fecundación anómala, con más de 3 PN o con 1 solo PN no deben transferirse (Fig. 32 B y C) (De Los Santos et al., 2016).

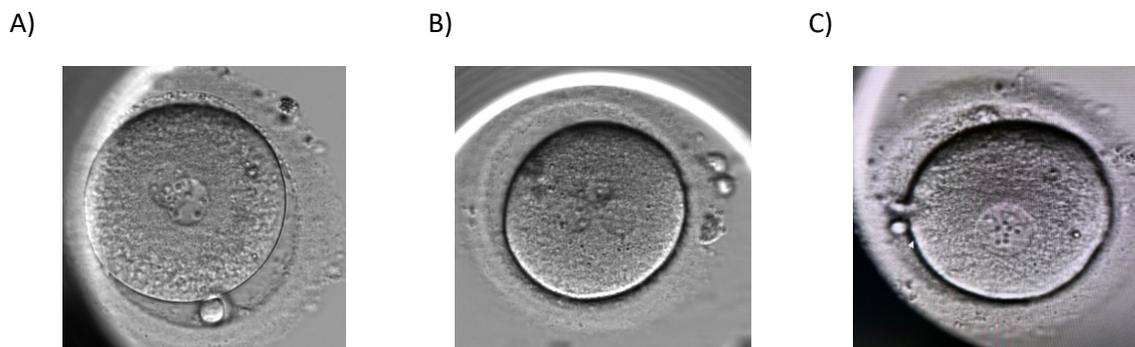


Figura 32. A) Ovocito correctamente fecundado (2PN y 2 CP). B) Ovocito triploide (3PN) y C) Ovocito con 1 PN

2.3.4.6. CULTIVO EMBRIONARIO

El objetivo del cultivo embrionario es conseguir embriones de buena calidad, para optimizar el desarrollo embrionario se deben minimizar los cambios en las condiciones de cultivo, manteniendo unas condiciones adecuadas de pH y temperatura, protegiendo así la homeostasis del embrión (De Los Santos et al., 2016).

La valoración de la morfología embrionaria incluye el análisis del embrión en el segundo día de desarrollo (D+2: 44±1 hora post-inseminación) y el análisis en día 3 de desarrollo D+3: 68±1 hora post-inseminación. Los embriones con un desarrollo adecuado, también según el Consenso de Estambul y

los Criterios ASEBIR, en día 3 tienen entre 7 y 9 células, con menos de un 15% de fragmentación y sin multinucleación (Fig. 33) (Balaban et al., 2011). El ritmo de división entre D+2 y D+3 es también importante para la valoración y clasificación del embrión (Fig. 33) (Hurtado de Mendoza et al., 2015).

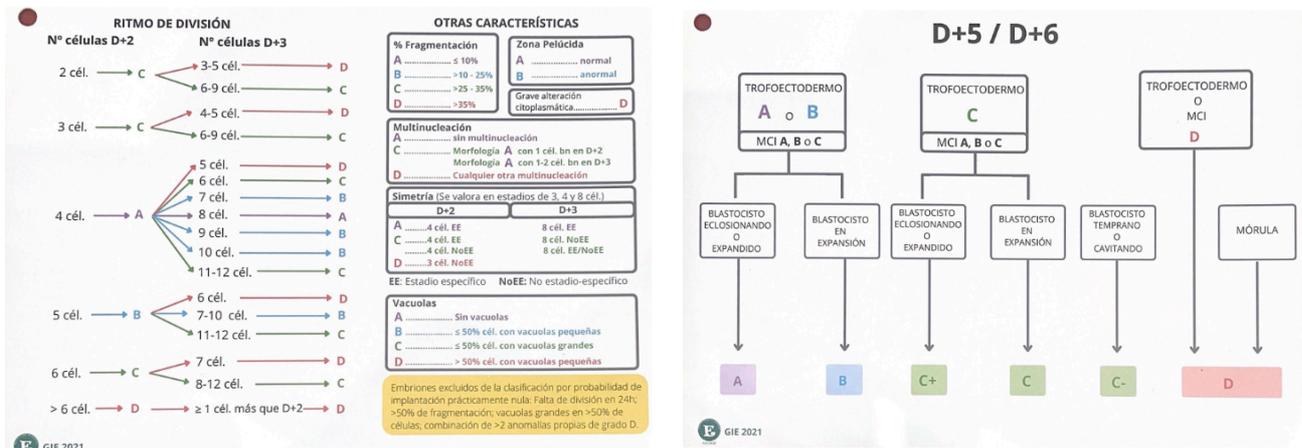


Figura 33. Tablas de clasificación embrionaria según los Criterios de ASEBIR. Fuente: ASEBIR GIE 2021

La evaluación y clasificación del blastocisto, también según el Consenso de Estambul y los Criterios ASEBIR, debe englobar el grado de expansión, el tamaño de la cavidad del blastocele y la morfología de la masa celular interna (MCI) y el trofoectodermo (TE) (Fig. 33) (Balaban et al., 2011; De Los Santos et al., 2016). El intervalo de observación de los embriones en D+5 es de 114-118 horas post-inseminación y en D+6 es de 136-140 horas post-inseminación (Fig. 34) (Hurtado de Mendoza et al., 2015).



Figura 34. Desarrollo embrionario desde D+1 (cigoto) hasta D+5 (blastocito).

La bibliografía consultada indica que no todos los embriones son capaces de alcanzar el estadio de blastocisto. Está descrito que lo consiguen entre el 40% y el 60% de los ovocitos fecundados *in vitro* (Behr et al., 1999; Gardner et al., 1998).

2.3.5. BIOPSIA EMBRIONARIA

La biopsia puede realizarse por diferentes métodos: extracción de uno o dos cuerpos polares en el ovocito, extracción de una o más blastómeros en la etapa de escisión o varias células en la etapa de blastocisto (Harton et al., 2010). La biopsia en la etapa de escisión (D+3) ha sido el método de biopsia más practicado en todo el mundo, con una gran experiencia a nivel mundial, con una complejidad moderadamente baja (Harton et al., 2010). En el caso de enfermedades monogénicas, la biopsia de trofoectodermo puede tener más ventajas, proporciona un diagnóstico de mayor confianza, al analizar más de una célula y minimizar el nivel de error en el diagnóstico (Kokkali et al., 2007).

La legislación española permite biopsia embrionaria por lo que la biopsia de cuerpos polares no es el procedimiento de elección en España (Ley 14/2006 Sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida, 2006), debido a sus limitaciones, entre otras sólo permiten analizar la contribución materna, dejando fuera la contribución del varón (Harton et al., 2010).

La biopsia embrionaria precisa de la apertura de la ZP que debe realizarse con láser o mecánicamente, siendo el diámetro del orificio de tamaño similar al tamaño de la micropipeta de biopsia (Kokkali et al., 2020). Inicialmente, la mayoría de los centros utilizaban para la rotura de la ZP ácido Tyrodes (perforación química), sin embargo, debido a la posible toxicidad del ácido sobre la viabilidad del embrión en la actualidad la técnica de elección para la apertura de la ZP es el láser. Este sistema utiliza un rayo láser guiado sin contacto, con potencia y exposición controlada (Harton et al., 2010; Kokkali et al., 2020).

Esta técnica se realiza en el microscopio invertido de 400 aumentos, con óptica Hoffman o equivalente, un micromanipulador y un microinyector. La preparación de la placa de biopsia se realiza con distintas microgotas con medio de cultivo (medio tamponado tipo HEPES) para el lavado de los embriones y para la biopsia. Esta placa debe mantener la Tª y pH adecuados. Dependiendo del embriólogo que prepara la placa la disposición de las microgotas puede variar (Fig. 35) (Harton et al., 2010).



Figura 35. Ejemplo de una placa para biopsia embrionaria.

Existe una correlación entre el desarrollo embrionario y la incidencia de anomalías cromosómicas por lo que es aceptada la exclusión de embriones de mala calidad para ser biopsiados (Magli et al., 2007).

2.3.5.1. BIOPSIA EN D+3

Con la biopsia en la etapa de escisión (D+3), la cantidad de ADN a analizar es limitada, se analiza una sola célula obtenida generalmente por aspiración (Fig. 36). Se puede realizar la transferencia embrionaria en el mismo ciclo, en fresco o en diferido, teniendo una baja tasa de diagnóstico no concluyente, menor del 10%, que se puede solventar realizando un segundo análisis dentro del plazo para hacer la transferencia dentro del mismo ciclo. Esta biopsia implica un análisis de un mayor número de embriones ya que los embriones no suelen bloquearse antes del tercer día de desarrollo (Kokkali et al., 2020).

La biopsia embrionaria en día 3 de desarrollo debe realizarse con medio de cultivo libre de Ca^{2+} y Mg^{2+} o con medio tamponado, tipo HEPES (Harton et al., 2010; Kokkali et al., 2020).



Figura 36. Biopsia de un embrión en estadio de escisión (D+3), se puede apreciar la rotura de la ZP en el lado derecho y la micropipeta de biopsia retirando la blastomera biopsiada.

La biopsia en etapa de escisión (D+3) se ha dejado de utilizar para la detección de aneuploidías, debido al problema de mosaicismo, ya que entre un 40 y 60% de los embriones son mosaicos y no aporta resultados concluyentes (Harton et al., 2010). Incluso, otros trabajos indican que la frecuencia del mosaicismo embrionario puede llegar hasta un máximo del 90% (Munné & Wells, 2017). Pero lo cierto es que para detectar el mosaicismo en un embrión es necesario analizar varias células, algo difícil de realizar si la biopsia se realiza en la etapa escisión, donde lo recomendado es biopsiar una sola blastómera (Kokkali et al., 2020).

2.3.5.2. BIOPSIA EN ESTADIO DE BLASTOCISTO (D+5 - D+6)

En la etapa de blastocisto se han descrito diferentes protocolos para realizar la biopsia, que incluyen la apertura de la ZP en D+3 y la recogida de trofoectodermo en D+5 o la rotura de ZP y la recogida de trofoectodermo en D+5 (Fig. 37) (Harton et al., 2010).

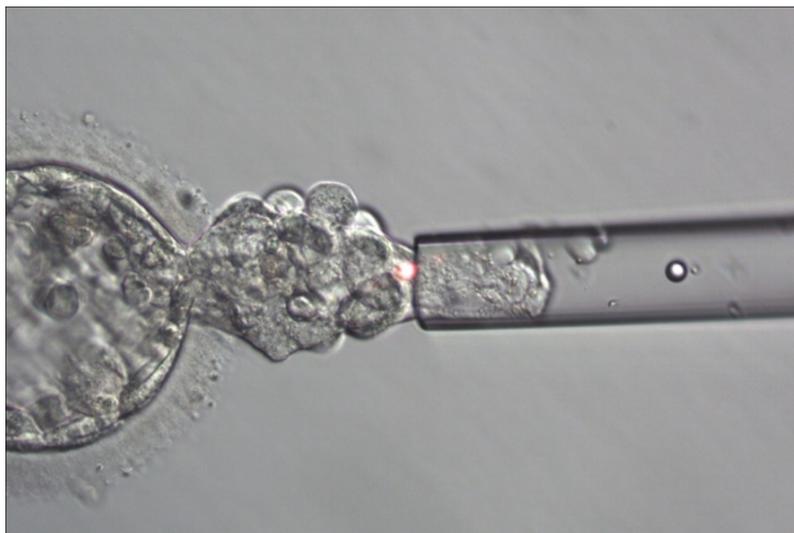
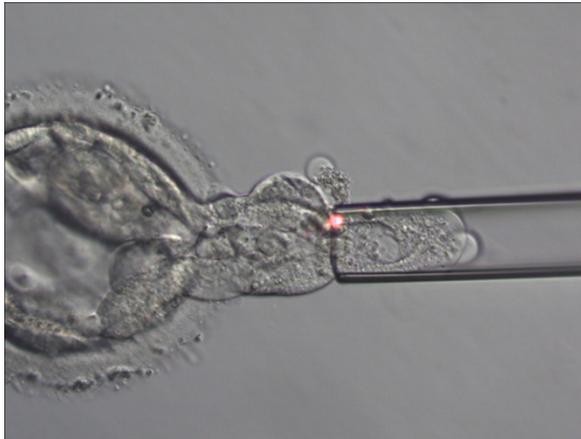


Figura 37. Embrión de D+5 con el trofoectodermo saliendo por la apertura de la ZP, sujetado con una pipeta de biopsia.

Las técnicas utilizadas para el procedimiento de la biopsia de trofoectodermo son: 1. *Pulling*, consiste en una combinación de pulsos de láser intercelular y tracción y aspiración de las células del trofoectodermo (Fig. 38 A) (Veiga et al., 1997) y 2. *Fricking*, consiste en realizar una aspiración de las células del trofoectodermo y movimiento rápido de la micropipeta de biopsia por la punta de la micropipeta de sujeción o *holding* (Fig. 38 B) (Coll et al., 2022).

A)



B)

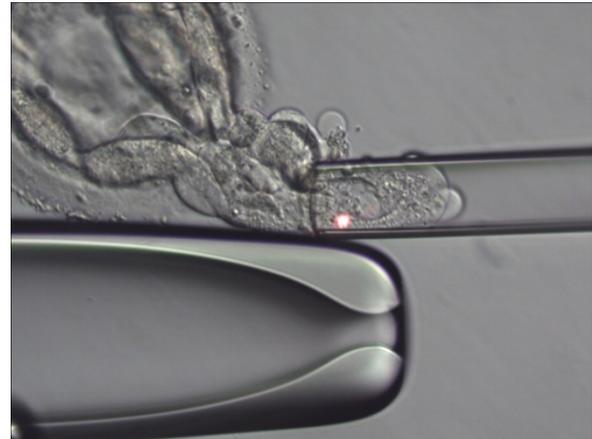


Figura 38. A. Biopsia de un blastocisto por técnica Pulling. B. Biopsia de un blastocisto por técnica Flicking.

La biopsia embrionaria en estadio de blastocisto no debe realizarse con medio de cultivo libre de Ca^{2+} y Mg^{2+} . El medio de elección en este caso debe ser un medio tamponado tipo HEPES. El número de células del trofoectodermo biopsiadas debe estar entre 5-10 (Harton et al., 2010; Kokkali et al., 2020).

Numerosos estudios describen las ventajas de la biopsia embrionaria en día 5-6 frente a la biopsia en día 3, por aportar un menor error en el diagnóstico (Forman et al., 2012) y por ser menos dañino para los embriones, ya que no tiene impacto significativo en la capacidad de desarrollo del embrión al medir tasa de implantación y parto (Scott et al., 2013).

2.3.6. "TUBING" DE LAS CÉLULAS

El *tubing* (Fig. 39) consiste en el aislamiento y lavado de las células biopsiadas, debe realizarse siguiendo unas estrictas precauciones para evitar la contaminación. Las medidas específicas para evitar la contaminación son: eliminar muy bien las células del cúmulo ovigero de los ovocitos y así evitar la contaminación materna e inseminar los ovocitos por ICSI para no tener contaminación con los espermatozoides. Además, se debe evitar la contaminación del embriólogo que realiza el procedimiento con la utilización de guantes y vestimenta adecuada. Se recomienda un control negativo del medio de lavado, por embrión biopsiado, para controlar la contaminación (Carvalho, Moutou, et al., 2020; Harton et al., 2011).

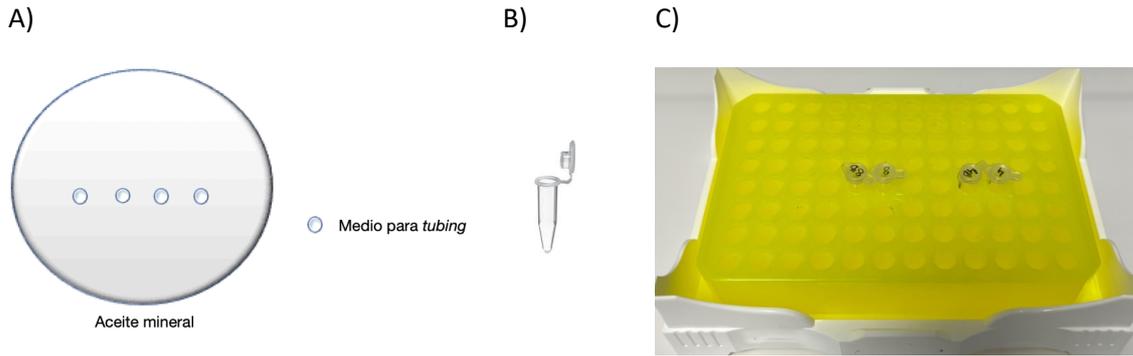


Figura 39. Fases del proceso de tubing: A) Placa de lavado, las células deben lavarse al menos 2 veces con pipeta. B) Tubo de amplificación de las células del trofoctodermo. C) Soporte para el transporte.

2.3.7. ANÁLISIS GENÉTICO

Las técnicas para el diagnóstico de enfermedades monogénicas han ido evolucionando y desarrollándose a lo largo de los años. Inicialmente, estos estudios se basaron en la utilización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la realización de un sexado de embriones para pacientes portadores de una enfermedad ligada al cromosoma Y, mediante amplificación de una secuencia específica del cromosoma Y (Fig. 40) (Handyside et al., 1989).

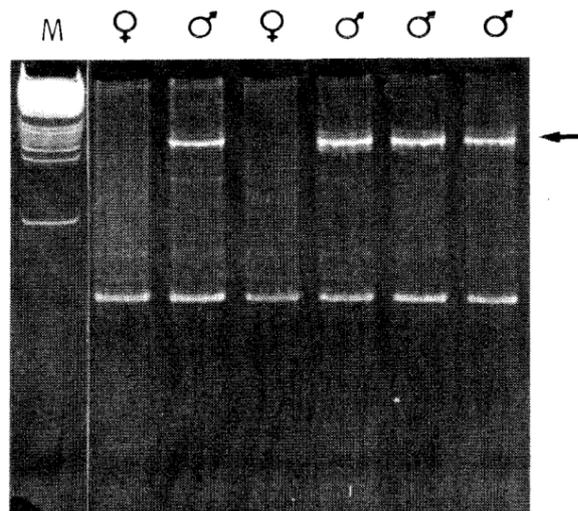


Figura 40. Electroforesis en gel de poliacrilamida utilizando una sonda específica del cromosoma Y para el sexado de embriones. La flecha indica una banda de 149 pb presente en las células masculinas. Fuente: *The Lancet* (Handyside et al., 1989).

Posteriormente, se procedió a la identificación del sexo de los embriones utilizando la hibridación *in situ* fluorescente (FISH). Con la utilización de sondas marcadas con fluorocromos, se marcan los

cromosomas de las células (Fig. 41), aumentando la eficiencia y reduciendo el tiempo necesario para el análisis (Harper et al., 1994).

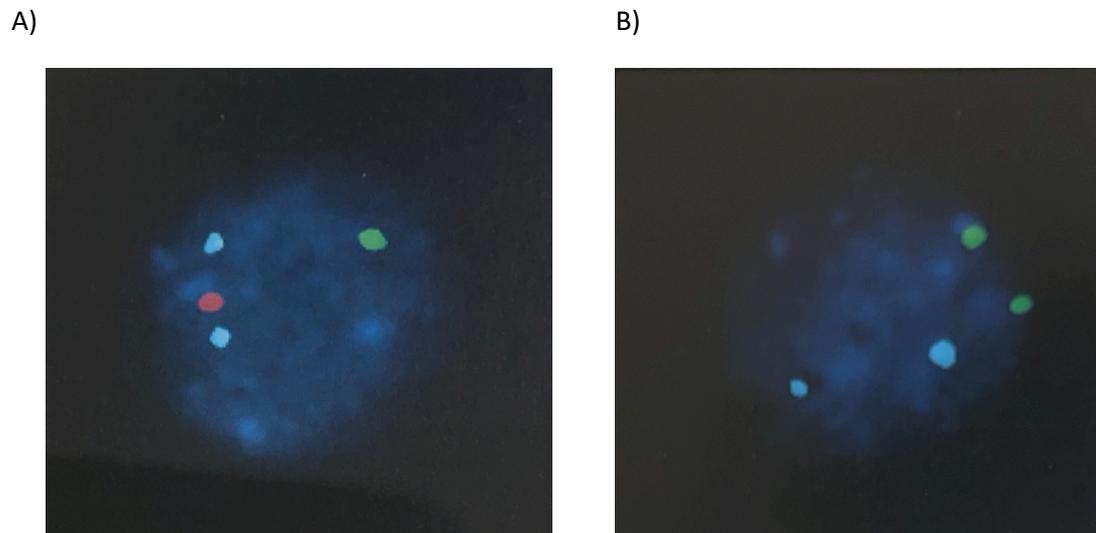


Figura 41. Sexado utilizando hibridación *in situ* fluorescente (FISH) mediante sondas marcadas directamente para los cromosomas X (verde), Y (rojo) y cromosoma 18 (azul). A) (XX, 18,18). B) (XY, 18, 18). Fuente: Cambridge Medicine Press (J. Harper, 2009).

En la actualidad existen diversas estrategias aplicables en el análisis de enfermedades monogénicas, para el diagnóstico de defectos estructurales o para *screening* de aneuploidías (Carvalho et al., 2020).

El método de Mini-secuenciación, basado en la secuenciación de Sanger, sirve para la detección directa de trastornos causados por un solo gen, permitiendo la identificación de distintas mutaciones específicas (Carvalho et al., 2020; Fiorentino et al., 2003). Requiere de un buen diseño del cebador, de forma personalizada para cada pareja, que se adapte a cada variante patogénica a analizar (Carvalho et al., 2020). Tiene un gran poder de diagnóstico, pudiendo detectar mutaciones *de novo* y es compatible con muchos trastornos genéticos (Fesahat et al., 2020).

También se ha utilizado para el diagnóstico de enfermedades monogénicas el estudio de marcadores STRs, gracias a la aplicación de la PCR múltiple o fluorescente (Fiorentino et al., 2006). En este caso se amplifican los STRs alrededor de la zona de interés y al complementarlo con el estudio de ligamiento (punto 2.3.2) se identifican los alelos asociados a la variante patogénica.

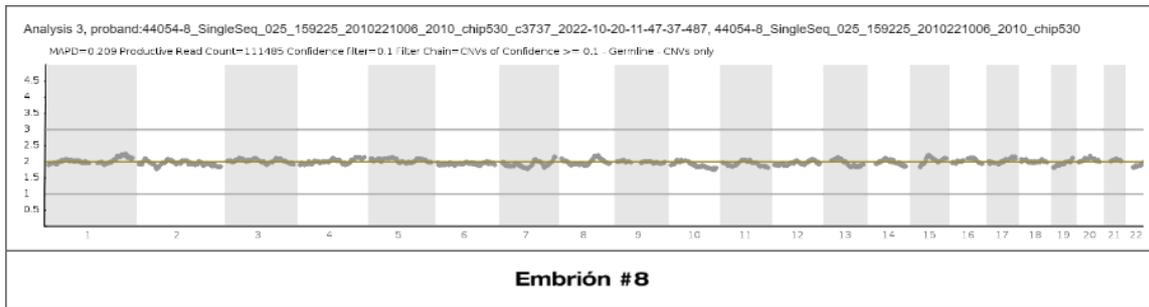
Uno de los mayores desafíos a los que se enfrenta el PGT-M es la baja cantidad de ADN inicial (una o pocas células), por lo que se hace necesario disponer de técnicas de amplificación del genoma completo, WGA (*Whole Genome Amplification*), para de esta forma, disponer de ADN suficiente para

ser analizado (Carvalho et al., 2020; Renwick et al., 2010). En la actualidad, la técnica de amplificación de ADN más utilizada para el diagnóstico de enfermedades monogénicas es la MDA (*Multiple Displacement Amplification*), que amplifica el ADN utilizando la ADN polimerasa de *Phi29* a una temperatura constante de 30°C (Blanco et al., 1989). Esta técnica amplifica fragmentos de un tamaño >10 kb con una baja tasa de error (de 1 en 10^6 - 10^7) (Dean et al., 2002; Zheng et al., 2011).

Otra de las técnicas de análisis para enfermedades monogénicas de manera indirecta son los Microarrays-SNP o *Karyomapping*, que utiliza microsatélites (*microarrays*) diseñados para la evaluación de marcadores (SNPs) o polimorfismos de un solo nucleótido. Esta tecnología consiste en la colocación de SNPs sobre un portaobjetos llamado chip. El ADN amplificado se marca con un fluorocromo y se hibrida con el chip. El apareamiento de las bases complementarias entre la muestra y los SNPs emite luz que puede medirse. Las tasas de SNPs detectados determinarán el haplotipo del embrión, que identifican los genes que se expresan en esa muestra (Poli et al., 2019). Esta técnica determina el haplotipo asociado a la variante patogénica causante del trastorno genético. Además, permite realizar de manera simultánea el PGT-A y PGT-M, al detectar aneuploidías por el análisis de las frecuencias alélicas de los marcadores utilizados, pero no detecta fenómenos de mosaicismo cromosómico (Handyside et al., 2010; Poli et al., 2019).

Más recientemente, se están utilizando las técnicas de secuenciación masiva NGS (*Next Generation Sequencing*) (Fig. 42). En el mercado hay distintas plataformas de secuenciación, como por ejemplo Illumina, pero a pesar de sus diferencias, todas siguen la misma metodología, basada en la segmentación del ADN en distintos fragmentos y el marcaje del ADN a través de cebadores o adaptadores, que marcan el sitio de inicio de la replicación. La amplificación de los fragmentos marcados por técnicas de PCR y la lectura de los fragmentos. La reconstrucción de la secuencia completa que se realiza a través de secuencias de referencia y finalmente la exportación de datos a ficheros de almacenamiento (Santillán-Garzón et al., 2015). Esta tecnología permite, por tanto, el análisis de nucleótidos de millones de fragmentos de ADN al mismo tiempo, es decir, diversos *locis* o posiciones informativas a la vez y de forma rápida, de manera que se puede realizar también, de manera simultánea, el PGT-A y el PGT-M. Una gran ventaja del NGS es la posibilidad de analizar un amplio número de muestras en paralelo, lo que reduce de forma significativa los costes del análisis, así como del tiempo empleado para ello, proporcionando una mayor accesibilidad al PGT (Poli et al., 2019). Además, tiene una alta sensibilidad al mosaicismo y a las anomalías caóticas (Fesahat et al., 2020).

A)



B)

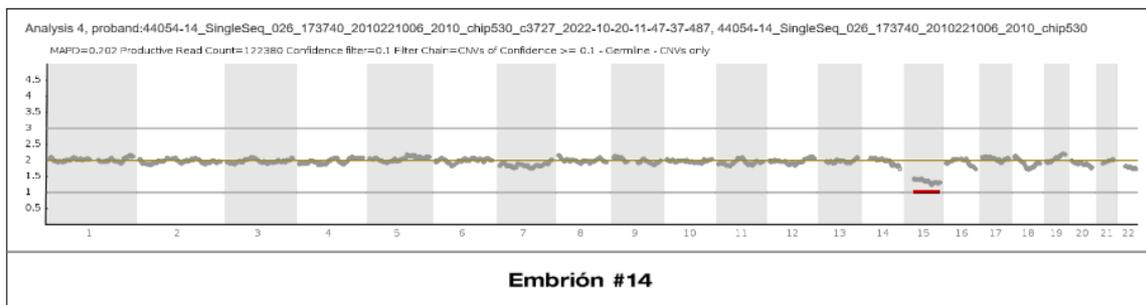
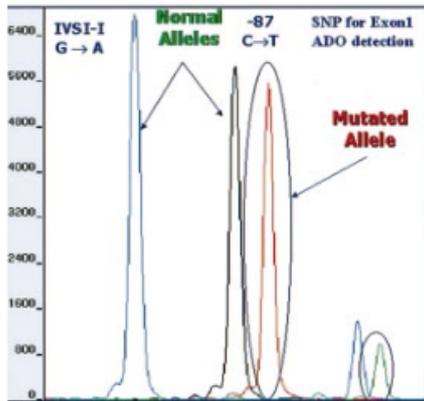


Figura 42. Ejemplo del resultado del análisis por técnicas de secuenciación masiva NGS (Next Generation Sequencing) de Bioarray. A) Embrión 8: embrión euploide. B) Embrión 14: embrión con monosomía del cromosoma 15 (línea roja).

Los avances en secuenciación masiva han hecho que se desarrollen nuevos algoritmos bioinformáticos y métodos de análisis, necesarios para la correcta manipulación e interpretación de los datos generados. El desarrollo de herramientas bioinformáticas es fundamental para la aplicación con éxito de la secuenciación masiva en el diagnóstico genético (Santillán-Garzón et al., 2015).

Por otra parte, las limitaciones de disponer de una cantidad baja de ADN están relacionadas con el mayor riesgo de fallo en la amplificación del ADN, de su contaminación o del fenómeno *Allele drop-out* (ADO). Este último ocurre cuando se produce la amplificación preferente de uno de los alelos mientras que el otro no se amplifica, por lo que no es detectado (Fig. 43). Cuando sucede cualquiera de estos fenómenos puede generar diagnósticos erróneos (Carvalho et al., 2020).

A)



B)

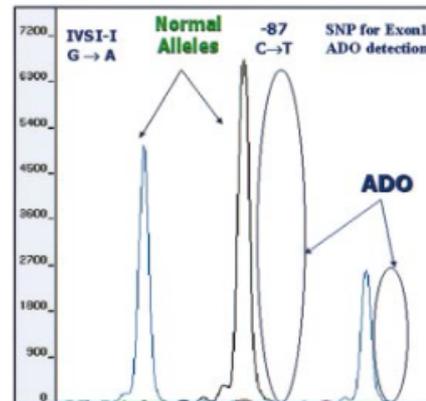


Figura 43. Detección de Allele drop-out (ADO) por el método de mini-secuenciación. A) Blastómero heterocigoto para una variante patológica sin ADO. B) Otro blastómero, del mismo embrión, con ADO de un alelo mutado. Fuente: *Molecular Human Reproduction* (Fiorentino et al., 2003).

2.3.8. TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

La transferencia embrionaria es el último paso en un tratamiento de reproducción asistida. Esta técnica consiste en transferir al útero materno uno o más embriones, a través de un catéter transcervical (Remohí et al., 2013). Se recomienda la transferencia de un solo embrión y así evitar los embarazos múltiples (De Los Santos et al., 2016).

Se pueden distinguir las siguientes fases en la transferencia embrionaria siguiendo las recomendaciones de Buenas prácticas de la ESHRE y el Manual práctico de Esterilidad y Reproducción Humana (De Los Santos et al., 2016; Remohí et al., 2013):

- *Preparación de la transferencia:* distribución de todo el material que se va a utilizar en la cabina de flujo laminar a 37° C para que se atempere (guantes estériles sin talco, cánula de transferencia, jeringa de 1 ml, etc.). La cánula de transferencia está compuesta de una cánula interna y una externa.
- *Carga de embriones:* una vez el ginecólogo, ha canalizado a la paciente con la cánula externa, bajo control ecográfico en el quirófano, el embriólogo saca la placa de transferencia que contiene el embrión del incubador y lo carga con la cánula interna, previamente conectada a la jeringa.

- *Transferencia embrionaria:* en el quirófano el embriólogo introduce la cánula interna a través de la cánula externa. El ginecólogo sitúa la cánula interna en el lugar adecuado y el embriólogo empuja el émbolo (firme y suavemente) para descargar el embrión en el tercio distal del fondo uterino (Fig. 44).



Figura 44. Imagen de una transferencia en el quirófano.

- *Verificación de la cánula y recarga:* se introduce la cánula en la placa de transferencia, aspirando y expulsando medio varias veces. Se comprueba que no haya salido ningún embrión. En caso de visualizar un embrión, se avisaría a quirófano y se repetiría todo el procedimiento utilizando todo el material nuevo.

Los embriones transferidos tras un PGT-M estarán en día 5 o 6 de desarrollo embrionario, por tanto la transferencia se realizará en estadio de blastocisto.

2.3.8.1. TRANSFERENCIA EN FRESCO

En aquellos casos en los que la biopsia embrionaria se realiza en día 3 de cultivo, si llegado el día 5 de desarrollo embrionario, los embriones han alcanzado el estadio de blastocisto y el análisis genético indica que no están afectados de la enfermedad estudiada, se podría realizar la transferencia al útero materno en ese mismo ciclo (Bacus et al., 2021). Se haría, por tanto, la transferencia en fresco,

y no sería necesaria la congelación del embrión, siempre que el endometrio sea adecuado y la medicación de la estimulación así lo permita.

2.3.7.2. CRIOTRANSFERENCIA

La criotransferencia consiste en la transferencia de embriones que han sido previamente criopreservados. La criopreservación de embriones se utiliza siempre en aquellos casos en los que se realiza la biopsia embrionaria en día 5 o 6 de cultivo y se vitrifican los embriones a la espera del análisis genético para realizar la transferencia de los no afectados, tras su desvitrificación.

Para realizar la criotransferencia es necesario realizar una preparación endometrial de manera que se consiga una maduración apropiada del endometrio y una receptividad perfecta que permita la implantación del embrión (Remohí et al., 2012).

VITRIFICACIÓN EMBRIONARIA

La vitrificación es una congelación ultrarrápida basada en la utilización de medios muy concentrados en solutos, los crioprotectores, donde los embriones se someten a bajas temperaturas a una velocidad muy elevada de enfriamiento. Con la vitrificación se consigue que no se formen cristales de hielo ya que el citoplasma se vuelve muy viscoso y solidifica formando una estructura con características similares al vidrio (Remohí et al., 2012).

El método Cryotop proporciona extraordinarios resultados en la vitrificación de embriones en estadio de blastocisto (Kuwayama et al., 2005), es por tanto, uno de los métodos de vitrificación más utilizados en los laboratorios de fecundación *in vitro*.

El proceso de vitrificación se realiza a temperatura ambiente siguiendo el protocolo de Kitazato Bio Pharma, que consta de las siguientes fases (Fig. 45):

1. Se aspira el embrión de la placa de cultivo y se introduce en la solución de equilibrio (ES) entre 11 y 14 minutos.
2. Se aspira el embrión y se introduce en la solución de vitrificación (VS1).

3. Lavado del embrión en el medio de vitrificación durante 30 segundos y cambio al segundo pocillo de vitrificación (VS2), donde se continúa realizando el lavado del embrión y la pipeta, durante 30 segundos más.

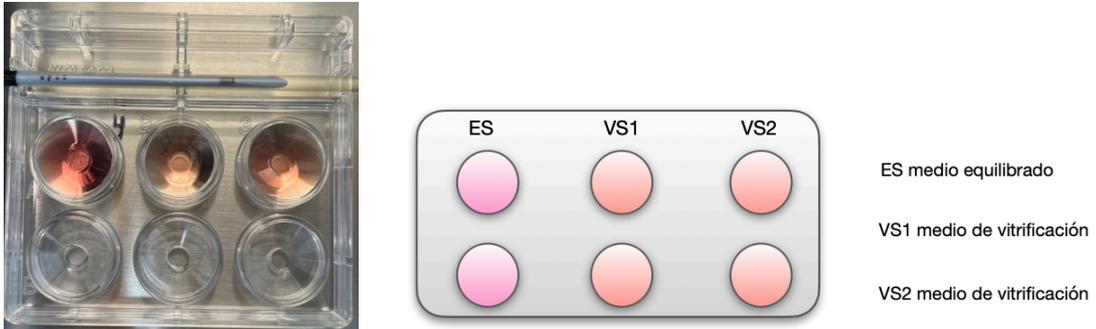


Figura 45. Imagen y esquema de una placa de vitrificación embrionaria.

4. Se aspira el embrión del fondo de la placa y cargar en la pipeta.
5. Colocar el Cryotop bajo la lupa.
6. Se carga el Cryotop dejando el embrión en la lengüeta del Cryotop (Fig. 46).

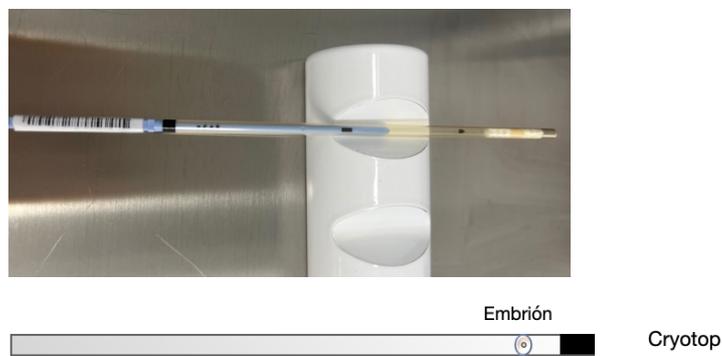


Figura 46. Imagen de un "Cryotop" y esquema de carga de un embrión en este sistema.

7. Se aspira el medio sobrante.
8. Se sumerge el Cryotop en Nitrógeno líquido (LN₂) y se mueve enérgicamente.
9. Se pone el protector del Cryotop bajo el LN₂.
10. Se almacena en el banco.

DESVITRIFICACIÓN EMBRIONARIA

La desvitrificación embrionaria consiste en la rehidratación celular. Se produce la sustitución de los crioprotectores por agua intracelular, para recuperar así, la actividad biológica del embrión.

El proceso de desvitrificación se realiza también a temperatura ambiente siguiendo el protocolo de Kitazato Bio Pharma. Las fases son las siguientes:

1. Se sacan los Cryotops del banco donde están almacenados.
2. Se transportan en N₂L al laboratorio.
3. Manteniendo sumergidos en todo momento los Cryotops, se quita el protector, con ayuda de unas pinzas.
4. Se saca el Cryotop del N₂L rápido con un movimiento recto.
5. Se introduce el Cryotop en la placa con la solución de descongelación (Fig. 47). Esta solución debe estar atemperada a 37º C.

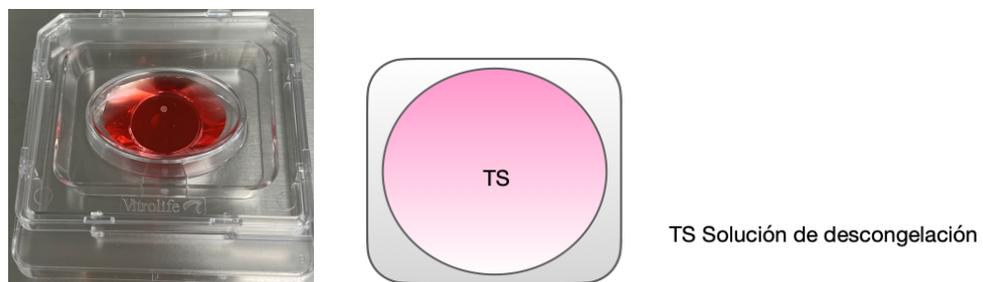


Figura 47. Imagen de la placa de TS de desvitrificación y esquema de la misma.

6. Se visualiza el embrión, sin tocarlo hasta pasados los primeros 40 segundos.
7. Si se mantiene adherido, se desliza suavemente el Cryotop por la base de la placa.
8. Pasado 1 minuto en la solución TS se aspira el embrión y se introduce en la solución DS 3 minutos (Fig. 48).
9. Pasados los 3 minutos se aspira el embrión y se introduce en el medio de lavado (WS1) 5 minutos.
10. Se aspira el embrión y se introduce en la solución de lavado (WS2) 1 minuto.

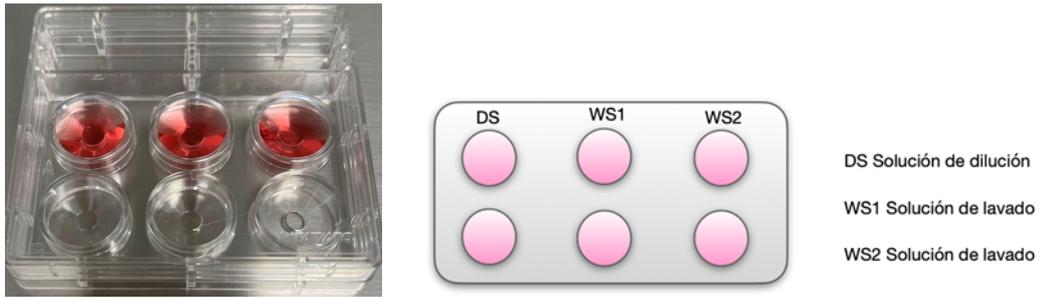


Figura 48. Imagen y esquema de la placa de desvitrificación DS y WS.

11. Se aspira el embrión y se lleva a la placa de cultivo y se evalúa la supervivencia en el microscopio invertido.

Las pacientes de la Unidad de reproducción asistida del HCUVA son pacientes con la función ovárica establecida, sin embargo, algunas de estas pacientes pueden necesitar terapia sustitutiva para conseguir el crecimiento adecuado y la receptividad óptima del endometrio. A continuación se detallan diferentes tipos de preparación endometrial.

En pacientes con función ovárica, la criotransferencia puede realizarse en el transcurso de su ciclo natural sin ser necesaria la terapia hormonal. Se realizan controles del ciclo mediante control ecográfico y cuando el folículo dominante alcanza entre 17-20 mm se desencadena la ovulación con gonadotropina coriónica humana (hCG).

El ciclo sustituido consiste en la administración de estrógenos para el desarrollo endometrial hasta alcanzar el tamaño adecuado, momento en el que se inicia la suplementación con progesterona. Puede realizarse la supresión hipofisaria con la GnRH en el ciclo previo o en ese mismo ciclo para evitar una ovulación espontánea.

2.4. ASPECTOS LEGALES Y PROTOCOLO PGT-M EN LA REGIÓN DE MURCIA

El diagnóstico genético tiene como objetivo la selección de embriones no afectados para su transferencia al útero materno. La ley 14 de 2006 sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida (LTRHA), en su artículo 12.1, establece los siguientes criterios para el Diagnóstico preimplantacional:

- La detección de enfermedades hereditarias graves.
- Enfermedades de aparición precoz.

- Enfermedades no susceptibles de tratamiento curativo posnatal con arreglo a los conocimientos científicos actuales.

Además, la LTRHA establece en el artículo 12.2 la posibilidad de realizar el diagnóstico genético para cualquier otra finalidad que no cumpla los criterios anteriormente citados, previa autorización de la autoridad sanitaria correspondiente y previo informe favorable de la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida (CNRHA), órgano colegiado del Ministerio de Sanidad de carácter permanente y consultivo, enfocado en asesorar y orientar sobre el uso de las técnicas de reproducción humana asistida.

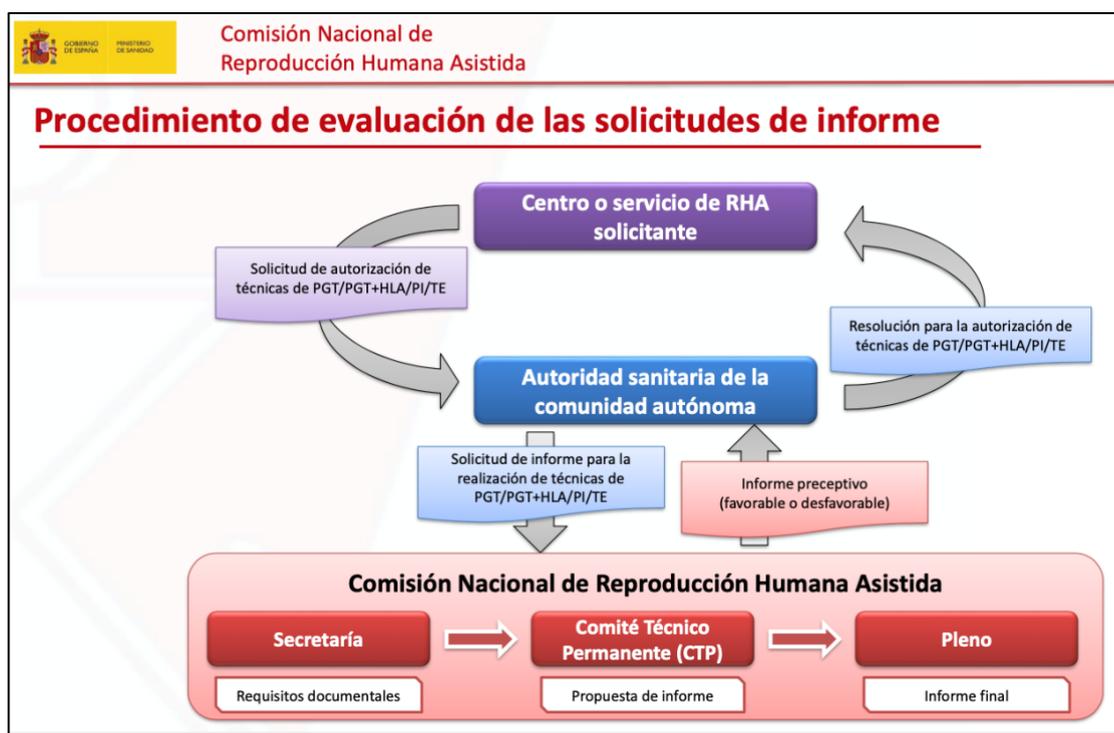


Figura 49. Diagrama del procedimiento de evaluación de las solicitudes de informe por la CNRHA. Fuente: CNRHA.

El procedimiento “normal” de evaluación de las solicitudes de informe sigue el diagrama descrito en la figura 49, donde el Centro o Servicio de Reproducción Humana Asistida solicitante emite una solicitud para la autorización de técnicas de PGT-M a la Autoridad sanitaria correspondiente de cada comunidad autónoma. Ésta, emite una solicitud de informe para la realización de la técnica correspondiente a la secretaria de la CNRHA, que pasa al Comité Técnico Permanente (CTP) y en Pleno se emite el Informe final. Este Informe preceptivo, que puede ser favorable o desfavorable, se entrega a la Autoridad sanitaria de la comunidad autónoma que emitirá la resolución para la autorización de la técnica al centro solicitante.

Así mismo, la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica, regula los análisis genéticos en preembriones y embriones para la realización del PGT. Incluso, en su Artículo 4 regula la necesidad del Consentimiento Informado y el derecho a la información de los pacientes, como “la manifestación de la voluntad libre y consciente válidamente emitida por una persona capaz, o por su representante autorizado, precedida de la información adecuada”, necesaria previa realización de cualquier técnica de PGT.

En la Región de Murcia, la CNRHA tiene delegada la competencia a la Comisión Regional, que es la encargada de la supervisión y autorización de los tratamientos (Fig. 50). Por tanto, la resolución de autorización la emite directamente la Comisión Regional (Autoridad sanitaria de la comunidad autónoma). La Comisión Regional o Comisión de Técnicas de Reproducción Humana Asistida del SMS (CTRHA) se creó según la resolución de 30 de noviembre de 2016 del Director Gerente del Servicio Murciano de Salud, por la que se modificó la Resolución de 6 de mayo de 2008.



Figura 50. Diagrama del procedimiento de evaluación de las solicitudes de informe por la Comisión Regional de Murcia. Fuente: CNRHA.

En cuanto a los Criterios de inclusión y exclusión de una pareja en un programa de PGT deben seguir las indicaciones de la Comisión de DGP de la Asociación Española de Genética Humana, que a continuación se describen, y ser evaluado por un equipo multidisciplinar que incluya profesionales de reproducción asistida, embriología y genética (Bustamante-Aragonés et al., 2016):

- Criterios de inclusión:
 - Tener en cuenta la probabilidad de éxito reproductivo para cada caso de forma individual.

- Que sea técnicamente factible, teniendo una fiabilidad elevada y con aceptables probabilidades de éxito.
- Criterios de exclusión:
 - Si el diagnóstico no es técnicamente posible o las posibilidades de éxito son bajas.
 - Si las TRA no se pueden realizar, clínica o legalmente.
 - Si no se conoce la causa de la enfermedad o si no ha sido posible concretar el diagnóstico en el paciente portador.

Por otra parte, en la Orden SSI/2065/2014, de 31 de octubre, por la que se modifican los anexos I, II y III del Real Decreto 1030/2006, de 15 de septiembre, se introdujo el DGP dentro de la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud (SNS), momento en el que da comienzo el programa de PGT en el Servicio Murciano de Salud. En esta orden se establecen los criterios específicos para la realización de estos tratamientos, en los que se ha basado el Servicio Murciano de Salud para la realización de los TRA a los beneficiarios del SMS:

- Debe existir un elevado riesgo de recurrencia de la enfermedad presente en la familia.
- El trastorno genético debe generar graves problemas de salud, comprometiendo la esperanza y/o calidad de vida por producir anomalías congénitas, discapacidad intelectual, sensorial o motora, sin tratamiento curativo según los conocimientos científicos que existen en la actualidad.
- Las técnicas de PGT deben ser posibles y fiables e incluir un informe de consejo genético donde se especifique el estatus genético de la pareja o familia en relación a la enfermedad. Además debe estar identificado el gen implicado, la mutación causante del trastorno genético y tener la seguridad de que existe una relación fenotipo/genotipo.
- Debe poder realizarse un procedimiento de fecundación *in vitro* con una respuesta adecuada tras estimulación ovárica controlada, por lo que, no deben existir evidencias de mala reserva ovárica.
- La edad de la mujer en el momento de indicación del tratamiento debe ser superior a 18 años e inferior a 40. La edad del varón debe ser superior a 18 años e inferior a 55.
- No debe tener ningún hijo en común la pareja, a excepción del hijo previo con la enfermedad susceptible de PGT.
- El límite máximo será de 3 ciclos de estimulación ovárica. Límite que podrá reducirse en función del pronóstico, dependiendo del resultado de los tratamientos previos.

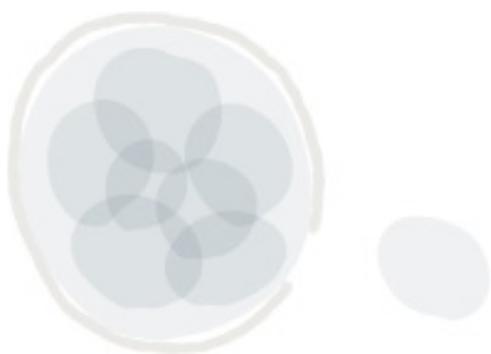
Los criterios de exclusión recogidos en la Orden SSI/2065/2014 son los siguientes:

- Esterilidad voluntaria previa: ligadura tubárica o vasectomía.
- Existencia de contraindicación médica documentada para los TRA.
- Existencia de contraindicación médica documentada para llevar a cabo una gestación.
- Existencia de una situación médica documentada que interfiera de forma grave sobre el desarrollo de la descendencia.
- Imposibilidad de cumplir el TRA por motivos relacionados con la salud u otros motivos familiares o relacionados con el entorno social.
- Existencia de una situación documentada referida a cualquier otra circunstancia que pueda interferir de forma grave sobre el desarrollo de la descendencia sometida a consideración de un comité de ética asistencial u órgano similar.

La Orden SSI/2065/2014 ha universalizado el acceso de las personas al PGT, pero los criterios de aplicación que permite la LTRHA son amplios, lo que provoca un acceso desigual para las personas a dichos tratamientos dependiendo de la Unidad de Reproducción Asistida que realice el tratamiento. Para Jiménez González, la solución podría radicar en la elaboración de un listado de enfermedades susceptibles a realizar un tratamiento de PGT-M, actualizado periódicamente, que evite la mencionada desigualdad, siguiendo modelos como la HFEA en Reino Unido o el CNPMA de Portugal (Jiménez González, 2017). En España, la CNRHA en su Memoria de actividades (2014-2018) elaboró un listado de enfermedades para las que se han realizado Informes clínicos, pero el listado no ha sido actualizado y en las siguientes memorias no aparecen nuevos listados. En comunidades como Andalucía, Castilla-León o Galicia se realizaron listados de enfermedades con autorización para realizar técnicas de PGT-M, previamente a la aprobación de la Orden SSI/2065/2014 (Jiménez González, 2017). Además, el Grupo de Interés en DGP de ASEBIR, también elaboró un listado de enfermedades susceptibles a dichos tratamientos (Boada & Grossmann, 2010) y actualizado en 2017 por el mismo grupo de trabajo de ASEBIR.

La LTRHA no ha previsto la elaboración de listas de enfermedades específicas, pero el artículo 3 del Real Decreto 42/2010 le otorga a la CNRHA funciones como la de proponer listas de enfermedades genéticas y hereditarias objeto de PGT-M. Según la bibliografía consultada, no existe un listado público de enfermedades susceptibles a la realización de PGT-M, y es por ello, que en este estudio se recoge un listado y un catálogo de enfermedades aprobadas por la CNRHA para el PGT-M en el HCUVA, que sirva como guía de consulta en la Región de Murcia.

Además del procedimiento “normal”, la CNRHA también evalúa algunas solicitudes por el procedimiento “abreviado”. En este caso, el informe favorable se emite directamente desde la Secretaría. Las enfermedades susceptibles de técnicas de PGT para las que el informe se emite directamente desde la Secretaría, así como los criterios de inclusión y exclusión se pueden ver en el Anexo 9.1.



3.-HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Actualmente, los tratamientos de reproducción asistida (TRA) suponen el 10,26% de los niños nacidos en España, lo que hace un total de 34.572 nacimientos (16.918 niñas y 17.654 niños), según los últimos datos publicados en el Registro Nacional de Actividad 2021-Registro SEF. En la Región de Murcia los tratamientos de reproducción asistida suponen un total de 1.475 niños y niñas del total de 13.790 nacimientos de la Región en 2021.

Dentro de todos los datos publicados, se recogió la realización 970 tratamientos para detectar enfermedades monogénicas, es decir, el 7% de los PGT fueron PGT-M. En la Unidad de Reproducción Asistida (URA) del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA) durante ese año se realizaron 24 tratamientos para detectar enfermedades monogénicas, por tanto, el 2,4% de los PGT-M se realizaron en la Región de Murcia. A pesar de que el 7% pueda parecer un número bajo, estas enfermedades son graves y afectan a la salud y calidad de vida del individuo. Las técnicas de PGT son necesarias para el diagnóstico de enfermedades monogénicas en los embriones de parejas portadoras o afectas de variantes patogénicas, antes de su transferencia al útero materno, pero suponen un alto coste añadido a los tratamientos de reproducción asistida.

3.2. HIPÓTESIS

En el laboratorio de reproducción asistida se pueden realizar distintos procedimientos y técnicas para llevar a cabo el PGT-M que pueden influir en la tasa de niño sano en casa. Es por ello, que la realización de un estudio retrospectivo del programa de PGT-M permitirá la optimización de los protocolos, metodología y resultados de estas técnicas diagnósticas de alta complejidad y elevado coste.

3.3. OBJETIVOS

3.3.1. OBJETIVO GENERAL

Describir y analizar los resultados del programa de PGT-M de la Región de Murcia durante los últimos 10 años, desde la puesta en marcha del programa de diagnóstico preimplantacional, con la

entrada en vigor de la Orden SSI/2065/2014, en el año 2014 hasta febrero de 2024, y así optimizar la gestión de recursos y los resultados del programa para aumentar el número de niño sano en casa.

3.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir la población sometida a tratamiento de diagnóstico genético preimplantacional de enfermedades monogénicas y examinar los resultados clínicos del programa.
- Analizar los resultados obtenidos cuando la biopsia embrionaria se realiza en día 3 o día 5 de cultivo embrionario y comparar los resultados del programa de PGT-M cuando las transferencias embrionarias se realizan con embriones en fresco o criopreservados.
- Estudiar si existe alguna relación entre el número de ovocitos obtenidos en la punción folicular y el porcentaje de embriones aneuploides que se obtienen.
- Realizar un estudio económico del programa de PGT-M en el SMS y comprobar la efectividad de un programa de PGT-M + PGT-A.
- Elaboración de una clasificación de enfermedades monogénicas y de un catálogo de enfermedades que han sido susceptibles a la realización de un tratamiento PGT-M en la Región de Murcia.



4.-MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. TIPO DE ESTUDIO

Se trata de un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo de los tratamientos de PGT-M realizados a pacientes con diagnóstico genético de portadores o afectados de enfermedades monogénicas, realizados por la Unidad de Reproducción Asistida (URA) del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA), previa aprobación de la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida (CNRHA), realizados desde el año 2014 hasta el 31 de enero de 2024.

Este trabajo es un estudio observacional no intervencionista en el que de manera retrospectiva se realiza un tratamiento de datos clínicos procedentes de la historia clínica del paciente. Estos datos son recogidos de forma anónima por personal autorizado y por tanto, no precisan de la evaluación por parte del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del HCUVA, según su Guía de Investigación (Piñero et al., 2015).

4.2. POBLACIÓN SOMETIDA A PGT-M

El HCUVA es un hospital de tercer nivel de gestión pública, perteneciente al Área de Salud 1 (Fig. 51). Este hospital es centro de referencia regional para el tratamiento de todos los pacientes con disfunción reproductiva de esta comunidad autónoma y para los pacientes subsidiarios de tratamientos de PGT-M.



Figura 51. Mapa de las 9 Áreas de Salud de la Región de Murcia.

En este trabajo se han estudiado 194 tratamientos de PGT-M realizados en la URA del HCUVA, para lo cual, se han incluido 123 pacientes (mujeres solas o con pareja), con diagnóstico genético confirmado como portadores de una variante patogénica (o probablemente patogénica) o afectados de enfermedad monogénica, procedentes de todas las Áreas de Salud de la Región de Murcia (Fig. 51), desde el año 2014 hasta el año 2023.

4.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Pacientes con diagnóstico genético confirmado con identificación del gen implicado o la mutación causante del trastorno genético, con un alto riesgo de recurrencia en la familia. El trastorno debe clasificarse como grave, donde esté comprometida la esperanza y/o calidad de vida y para el cual no haya tratamiento curativo en la actualidad.

La edad de la mujer en el momento de la indicación del tratamiento debe ser superior a los 18 años e inferior a los 40 años. La edad del varón debe ser superior a los 18 años e inferior a los 55 años. La pareja no debe tener ningún hijo en común, a excepción del hijo previo con la enfermedad susceptible de PGT-M.

La paciente debe tener un índice de masa corporal (IMC) por debajo de 32 y un valor de la hormona antimülleriana (HAM) mayor de 1 ng/ml, sin evidencias de mala reserva ovárica.

4.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Pacientes con un índice de masa corporal (IMC) por encima de 32 y un valor de la hormona antimülleriana (HAM) menor de 1 ng/ml, por tanto, con evidencias de mala reserva ovárica. Pacientes con esterilidad voluntaria previa, por ejemplo, ligadura tubárica o vasectomía.

Pacientes con contraindicación médica documentada para realizar tratamientos de reproducción asistida o si existe una contraindicación médica documentada para llevar a cabo una gestación o una situación médica documentada que interfiera de forma grave sobre el desarrollo de la descendencia.

Por otro lado, los casos previstos para PGT-M en los que no se han obtenido embriones viables para realizar el procedimiento de biopsia, no se han tenido en cuenta en este estudio. Este hecho refleja factores más relacionados con los pacientes y el sistema de cultivo. Además, el parámetro es diferente si la biopsia se realiza en día 3 de desarrollo embrionario que si se hace en estadio de blastocisto, por tanto, han sido excluidos del presente estudio.

4.3. LUGAR DE EJECUCIÓN

El estudio de esterilidad de la pareja y el tratamiento previo, incluida la estimulación ovárica y seguimiento de las pacientes se realizó en la Unidad de Reproducción Asistida del HCUVA, por parte de los facultativos Especialistas en Ginecología y Obstetricia de la Unidad. A excepción de 7 ciclos directos, donde la estimulación y seguimiento de las pacientes se llevó a cabo en los centros concertados, según lo acordado en el Pliego de Prescripciones Técnicas de la Gestión del Servicio Público para la realización de Técnicas de Reproducción Asistida en régimen ambulatorio a beneficiarios del Servicio Murciano de Salud, con fecha de 13 de junio de 2017.

El Servicio Murciano de Salud (SMS) mantuvo concierto con las siguientes clínicas privadas: Clínica Tahe Fertilidad, Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI), Instituto Bernabéu (IB) y Unidad de Reproducción de La Vega, para la realización de las Técnicas de Reproducción Asistida y PGT-M:

- Clínica Tahe Fertilidad de 2014 hasta 2018.
- Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI) de 2015 hasta 2018.
- Instituto Bernabéu (IB) en 2016.
- Unidad de Reproducción La Vega de 2018 hasta 2023.

En mayo del año 2022 se inició la labor asistencial en los laboratorios de la Unidad de Reproducción Asistida del HCUVA. A partir de ese momento comenzaron a realizarse los tratamientos de PGT-M en estas instalaciones.

4.4. FUENTES DE DATOS

Los datos específicos sobre los tratamientos de reproducción asistida realizados por la URA del HCUVA se extrajeron del programa V Repro (*Software* de Reproducción Asistida de NaturalSoft), a partir del cual, se creó la base de datos del presente trabajo. Previamente, se procedió a la digitalización de un total de 130 tratamientos al programa V Repro, procedentes de los tratamientos realizados en las clínicas concertadas desde 2014 hasta 2023. La digitalización se realizó a partir de los informes incluidos en la historia clínica en papel de cada paciente y gracias a la colaboración de los facultativos de las distintas clínicas de Reproducción concertadas por el SMS.

Los datos sobre diagnósticos genéticos e identificación del gen implicado o la mutación causante del trastorno genético, así como los datos demográficos, se obtuvieron de la historia clínica

informatizada en SELENE (programa informático utilizado en los hospitales del SMS en la Región de Murcia) y gracias a la colaboración de los facultativos de la Sección de Genética Médica del HCUVA, perteneciente al Servicio de Pediatría del HCUVA.

4.5. VARIABLES ESTUDIADAS

Los datos han sido recogidos, como ya ha sido descrito, de la base de datos sobre los tratamientos de PGT-M realizados por la URA del HCUVA, generada a partir del programa V Repro (Software de Reproducción Asistida de NaturalSoft).

Para la elección de las variables a estudiar nos hemos basado en el objetivo general y los objetivos específicos del presente estudio. Además, también se han empleado algunos de los indicadores clave de calidad (PKI) que los Grupos de Interés en Embriología de la ESHRE y el Grupo de Científicos de Medicina Reproductiva de Alpha, acordaron en el Consenso de Viena (Fig. 52) (ESHRE Special Interest Group of Embryology & Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017) para realizar el análisis de los resultados clínicos. El estudio de estos indicadores puede proporcionar información sobre el rendimiento de un laboratorio y son muy útiles para establecer objetivos y tomar medidas correctivas con la finalidad de mejorar los resultados clínicos (Ferrer Robles et al., 2021; Salinas et al., 2010).

| KPI | Calculation | Competency value (%) | Benchmark value (%) |
|---|--|----------------------|---------------------|
| ICSI damage rate | $\frac{\text{no. damaged or degenerated}}{\text{all oocytes injected}} \times 100$ | ≤10 | ≤5 |
| ICSI normal fertilization rate | $\frac{\text{no. oocytes with 2PN and 2PB}}{\text{no. MII oocytes injected}} \times 100$ | ≥65 | ≥80 |
| IVF normal fertilization rate | $\frac{\text{no. oocytes with 2PN and 2PB}}{\text{no. COCs inseminated}} \times 100$ | ≥60 | ≥75 |
| Failed fertilization rate (IVF) | $\frac{\text{no. cycles with no evidence of fertilization}}{\text{no. of stimulated IVF cycles}} \times 100$ | <5 | |
| Cleavage rate | $\frac{\text{no. cleaved embryos Day 2}}{\text{no. 2PN/2PB oocytes on Day 1}} \times 100$ | ≥95 | ≥99 |
| Day 2 Embryo development rate | $\frac{\text{no. 4-cell embryos on Day 2}}{\text{no. normally fertilized oocytes}^a} \times 100$ | ≥50 | ≥80 |
| Day 3 Embryo development rate | $\frac{\text{no. eight cell embryos on Day 3}}{\text{no. normally fertilized oocytes}^a} \times 100$ | ≥45 | ≥70 |
| Blastocyst development rate | $\frac{\text{no. blastocysts Day 5}}{\text{no. normally fertilized oocytes}^a} \times 100$ | ≥40 | ≥60 |
| Successful biopsy rate | $\frac{\text{no. biopsies with DNA detected}}{\text{no. biopsies performed}} \times 100$ | ≥90 | ≥95 |
| Blastocyst cryosurvival rate | $\frac{\text{no. blastocysts appearing intact}}{\text{no. blastocysts warmed}} \times 100$ | ≥90 | ≥99 |
| Implantation rate (cleavage-stage) ^b | $\frac{\text{no. sacs seen on ultrasound}^c}{\text{no. embryos transferred}} \times 100$ | ≥25 | ≥35 |
| Implantation rate (blastocyst-stage) ^b | $\frac{\text{no. sacs seen on ultrasound}^c}{\text{no. blastocysts transferred}} \times 100$ | ≥35 | ≥60 |

^aDefined as oocytes with 2PN and 2PB on Day 1.
^bBased on total number of embryos transferred to all patients in the reference group, not just those for whom an implantation occurred.
^cDefinition reached after discussion, as some felt that no. fetal hearts / no. embryos transferred was a more meaningful indicator.
 KPI, key performance indicator.

Figura 52. KPI para un laboratorio de Reproducción Asistida. Fuente: Human Reproduction (ESHRE Special Interest Group of Embryology & Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017).

En cuanto a la clasificación de las variables estudiadas en este proyecto se ha realizado de la siguiente forma:

4.5.1. VARIABLES CUALITATIVAS

Las variables cualitativas son aquellas variables estadísticas que expresa una cualidad o propiedad del objeto de estudio. En este estudio las variables cualitativas estudiadas se pueden clasificar a su vez en:

4.5.1.1. VARIABLES CUALITATIVAS DICOTÓMICAS O BINARIAS

Las variables cualitativas dicotómicas o binarias son aquellas variables que permiten conocer la presencia o ausencia de un acontecimiento o característica, por tanto, sólo puede tener 2 valores, que pueden ser: (0, 1) o (Sí, No). Las variables estudiadas han sido:

- Biopsia en D+3: biopsia embrionaria realizada en día 3 de desarrollo embrionario.
- Biopsia en estadio de blastocisto: biopsia embrionaria realizada en día 5 o día 6 de cultivo embrionario.
- Transferencia en fresco: transferencia al útero materno de embriones generados en el ciclo y por tanto no han sido criopreservados.
- Criotransferencia: transferencia al útero materno de embriones que han sido previamente vitrificados.
- Gestación clínica: embarazo confirmado por imagen ecográfica.
- Aborto: pérdida gestacional tras una gestación clínica.
- Consanguinidad: parentesco común de los 2 progenitores.
- Sexo del portador o afecto: masculino o femenino.

4.5.1.2. VARIABLES CUALITATIVAS POLITÓMICAS

Las variables cualitativas politómicas engloban las variables que pueden tener tres o más valores. En este caso las variables estudiadas han sido:

- Datos demográficos: localidad de residencia, grupo étnico y área de salud.
- Enfermedad monogénica: enfermedades para las que se ha realizado tratamiento de PGT-M en la URA del HCUVA.

- Tratamientos realizados por centro: centro donde se realiza el tratamiento de PGT-M de la URA del HCUVA.

4.5.2. VARIABLES CUANTITATIVAS

Las variables cuantitativas son aquellas variables estadísticas que se expresan a partir de cifras, es decir, es aquello que puede ser medido con números. En el presente estudio las variables cuantitativas estudiadas han sido:

- Tratamientos PGT-M realizados.
- Ovocitos: número de ovocitos obtenidos en una punción folicular.
- Ovocitos MII: ovocitos maduros, aptos para la microinyección espermática.
- Ovocitos fecundados: ovocitos con una relación correcta de PN y CP (2,2).
- Blastocistos: embriones que llegan a estadio de blastocisto, día 5-6 de desarrollo embrionario.
- Embriones biopsiados en D+3.
- Embriones biopsiados en estadio de blastocisto (D+5).
- Embriones euploides: embriones con una dotación correcta de cromosomas (46).
- Embriones aneuploides: embriones con alteración en el número de cromosomas.
- Parto: finalización del embarazo con la salida del bebé del útero materno.
- Número de nacidos: hijos nacidos tras tratamiento de PGT-M.
- Edad: edad de la paciente en el momento de realizar el tratamiento.

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Para describir la población sometida a PGT-M se analizaron las variables cualitativas dicotómicas o binarias: sexo del portador o consanguineidad, las variables cualitativas politómicas: localidad de residencia, grupo étnico y área de salud y las variables cuantitativas: edad de la paciente. Las variables cualitativas se describieron con la frecuencia absoluta en porcentajes y las variables cuantitativas con la media y la desviación estándar. Además, para la variable cuantitativa edad de la paciente se establecieron 3 subgrupos y describieron con frecuencia absoluta en porcentajes.

En el análisis de los resultados clínicos del programa de PGT-M se estudiaron las variables cualitativas dicotómicas o binarias: transferencia en fresco, criotransferencia, gestación clínica y aborto. Las variables cualitativas politómicas: tratamientos realizados por centro. Las variables cuantitativas: tratamientos PGT-M realizados, ovocitos MII, ovocitos fecundados, blastocistos, embriones biopsiados en D+3, embriones biopsiados en D+5, partos y número de nacidos. Al igual que en el objetivo anterior las variables cualitativas se describieron con la frecuencia absoluta en porcentajes y las variables cuantitativas con la media y la desviación estándar. En la tabla 1 se describe como calcular las tasas para el análisis de los resultados.

TABLA 1. CÁLCULO DE TASAS EN EL LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

| | |
|---|---|
| Tasa de Fecundación ICSI | |
| <i>Porcentaje de ovocitos fecundados por ovocitos microinyectados.</i> | $X = \frac{\text{n}^\circ \text{ de ovocitos fecundados}}{\text{n}^\circ \text{ de ovocitos microinyectados}} \times 100$ |
| Tasa de Blastocisto | |
| <i>Porcentaje de embriones que llegan a blastocisto por el número de ovocitos fecundados.</i> | $X = \frac{\text{n}^\circ \text{ de blastocistos}}{\text{n}^\circ \text{ de ovocitos fecundados}} \times 100$ |
| Tasa de Transferencia en fresco | |
| <i>Porcentaje de transferencias en fresco realizadas por el número total de transferencias realizadas.</i> | $X = \frac{\text{n}^\circ \text{ de transferencias en fresco}}{\text{n}^\circ \text{ de transferencias realizadas}} \times 100$ |
| Tasa de Criotransferencia | |
| <i>Porcentaje de transferencias de embriones vitrificados por el número total de transferencias realizadas.</i> | $X = \frac{\text{n}^\circ \text{ de criotransferencias}}{\text{n}^\circ \text{ de transferencias realizadas}} \times 100$ |
| Tasa de Gestación clínica | |
| <i>Porcentaje de embarazo clínico por número de transferencias realizadas.</i> | $X = \frac{\text{n}^\circ \text{ de gestación clínica}}{\text{n}^\circ \text{ de transferencias realizadas}} \times 100$ |
| Tasa de Implantación | |
| <i>Porcentaje de sacos embrionarios por número de embriones transferidos.</i> | $X = \frac{\text{n}^\circ \text{ de sacos embrionarios}}{\text{n}^\circ \text{ de embriones transferidos}} \times 100$ |
| Tasa de Aborto | |
| <i>Porcentaje de abortos por número de gestaciones clínicas.</i> | $X = \frac{\text{n}^\circ \text{ de abortos}}{\text{n}^\circ \text{ de gestaciones clínicas}} \times 100$ |

Atendiendo al resto de los objetivos del estudio para el análisis de las demás de variables se utilizó el programa RStudio 1.3.1056, © 2009-2020 Rstudio, PBC con R versión 4.2.0 para realizar los análisis estadísticos:

- Para analizar los resultados obtenidos cuando la biopsia embrionaria se realiza en día 3 o día 5 de cultivo embrionario se realizó un contraste de hipótesis, para así, estudiar si existen diferencias estadísticamente significativas al realizar la biopsia en día 3 o día 5, en relación a la gestación clínica. Debido a las características de la muestra, se utilizará el Test de proporción para dos muestras independientes.
- Para analizar los resultados del programa de PGT-M cuando las transferencias embrionarias se realizan con embriones en fresco o criopreservados se realizó, al igual que en el caso anterior, un contraste de hipótesis, para analizar si existen diferencias significativas con respecto a la tasa de gestación.
- Para estudiar si existe alguna relación entre el número de ovocitos obtenidos en la punción folicular y el porcentaje de embriones aneuploides que se obtienen, se analizó si existen diferencias entre las dos variables, utilizando el coeficiente de correlación de Cramer. Además, se utilizó el test de Kruskal-Wallis para analizar si existen diferencias significativas entre el número de embriones aneuploides y la edad de la paciente, la duración de la estimulación y la dosis total de gonadotropinas.
- Para comprobar la efectividad de un programa de PGT-M + PGT-A, se realizó un contraste de hipótesis, y así comparar si existen diferencias entre la tasa de gestación. Para la tasa aborto se utilizó el test exacto de Fisher.

Finalmente, se realizó una clasificación de las enfermedades monogénicas y un análisis de dichas enfermedades por área de salud, para lo cual, como variables cualitativas, se describieron con la frecuencia absoluta en porcentajes.



5.-RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN SOMETIDA A PGT-M.

En la población sometida a TRA para la selección de embriones no afectados de enfermedades monogénicas se observó una mayor prevalencia mujeres portadoras o afectas (57,1%) que de varones portadores o afectados (34%), siendo del 15,9% portadores ambos miembros de la pareja. La edad media de las pacientes sometidas a PGT-M fue de $33,85 \pm 3,59$, siendo el rango de edad de mayor incidencia el que va de los 30 a los 35 años (48,2%), seguido del rango de edad de las pacientes mayores de 35 años (35,2%) y finalmente las pacientes menores de 30 años (15,6%) (Tabla 2).

TABLA 2. INDICADORES DEMOGRÁFICOS DE LA POBLACIÓN SOMETIDA A PGT-M.

| VARIABLES | VALORES |
|-----------------------------------|---------|
| Sexo del portador o afecto | |
| Masculino | 34% |
| Femenino | 57,1% |
| Ambos | 15,9% |
| Edad de las pacientes | |
| 33,85±3,59 | |
| <30 años | 15,6% |
| 30-35 años | 48,2% |
| >35 años | 35,2% |
| Grupo étnico | |
| Caucásico | 95,12% |
| Árabe | 3,25% |
| Gitano | 1,63% |
| Consanguinidad | |
| Sí | 3,25% |
| No | 96,75% |

El grupo étnico con mayor incidencia fue el caucásico con un 95,12% de los casos, los grupos étnicos minoritarios fueron el árabe con un 3,25% de casos y el gitano con 1,63% de los casos. La mayoría de las parejas, el 96,75% de los casos, no tenían un parentesco genético común cercano, mientras el 3,25% de los casos sí eran consanguíneos (Tabla 2). En el grupo caucásico no hubo ningún caso de consanguinidad, siendo del 50% en los otros 2 grupos étnicos.

Las mutaciones *de novo* han tenido presencia en el 5,55% de los casos, siendo la edad media de los pacientes con mutaciones *de novo* de $34 \pm 3,16$. En el 85,71% de los casos las mutaciones *de novo* se han dado en mujeres, mientras que en el 14,29% de los casos se han dado en los varones.

El número de casos por Área de Salud se puede observar en la Tabla 3. Las Áreas de Salud con mayor número de casos son el Área I Murcia Oeste, con 28 casos, la II Cartagena, con 22 casos, y la VI Vega Media del Segura, con 20 casos. Las Áreas con menor número de casos son el Área IV Noroeste, VI Altiplano y VIII Mar Menor, con 6 casos cada una. Especificar que el número de casos es mayor que el número de pacientes debido a que 3 parejas del estudio son portadoras o afectas de 2 enfermedades monogénicas, por lo tanto el número total de casos del estudio es de 126.

TABLA 3. NÚMERO DE CASOS POR ÁREA DE SALUD DE LA REGIÓN DE MURCIA.

| | ÁREA DE SALUD | Nº DE CASOS |
|--------|-----------------------|-------------|
| (I) | Murcia Oeste | 28 |
| (II) | Cartagena | 22 |
| (III) | Lorca | 12 |
| (IV) | Noroeste | 6 |
| (V) | Altiplano | 6 |
| (VI) | Vega Media del Segura | 20 |
| (VII) | Murcia Este | 15 |
| (VIII) | Mar Menor | 6 |
| (IX) | Vega Alta del Segura | 11 |

En la figura 53 se puede observar la distribución de pacientes por Área de Salud de la Región de Murcia. Al igual que en la tabla anterior, se puede apreciar una mayor incidencia de casos en el Área

I Murcia Oeste con el 22,2% de los casos, seguido por el Área III Cartagena con el 17,4% y el Área VI Vega Media del Segura con el 15,9% de los casos. Las Áreas con menor incidencia son el Área IV Noroeste, V Altiplano y VIII Mar Menor, con el 4,8% de los casos.

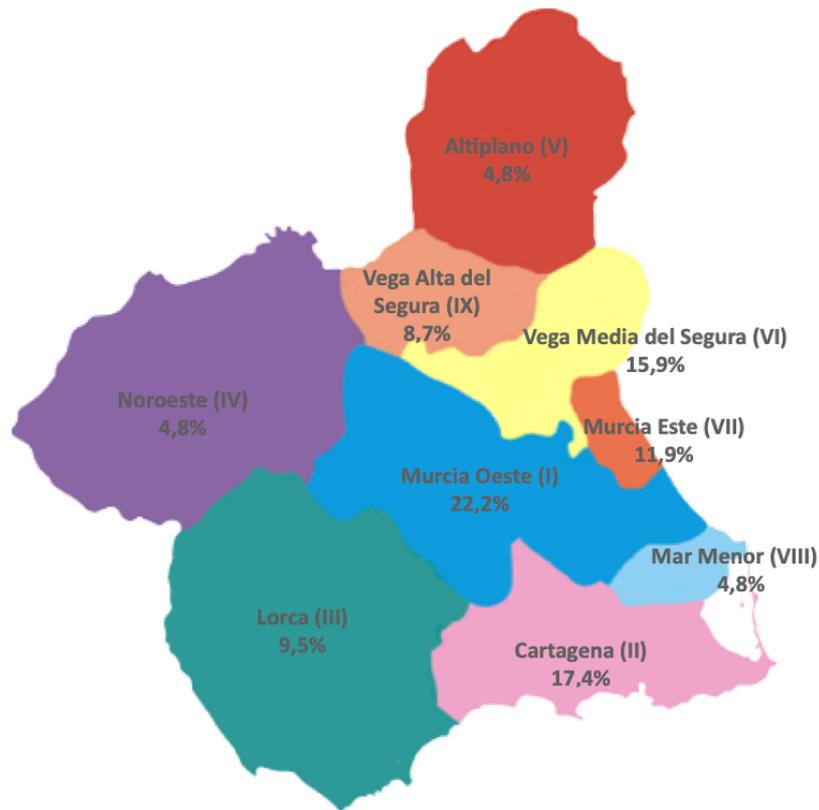


Figura 53. Distribución de pacientes por Área de Salud de la Región de Murcia.

5.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS CLÍNICOS DEL PROGRAMA DE PGT-M

El número de tratamientos de PGT-M fue incrementando a lo largo de los años estudiados (Fig. 54). Inicialmente, se realizaron 2 tratamientos de PGT-M, terminando el año 2023 con 40 tratamientos efectuados. Anotar que los datos recogidos para este estudio finalizan el 31 de enero de 2024, motivo por el cual en 2024 solo aparece un tratamiento. Además, cabe destacar que en el año 2022 el número fue más alto debido al inicio del funcionamiento del laboratorio de la URA en el HCUVA y el concierto simultaneo con la clínica concertada. En el año 2023, los tratamientos realizados fueron 40, cantidad contratada en la licitación "Servicio de *screening* para diagnóstico de enfermedades monogénicas en embriones PGT-M (*preimplantation genetic testing por monogenic diseases*) de la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Virgen de la Arrixaca."

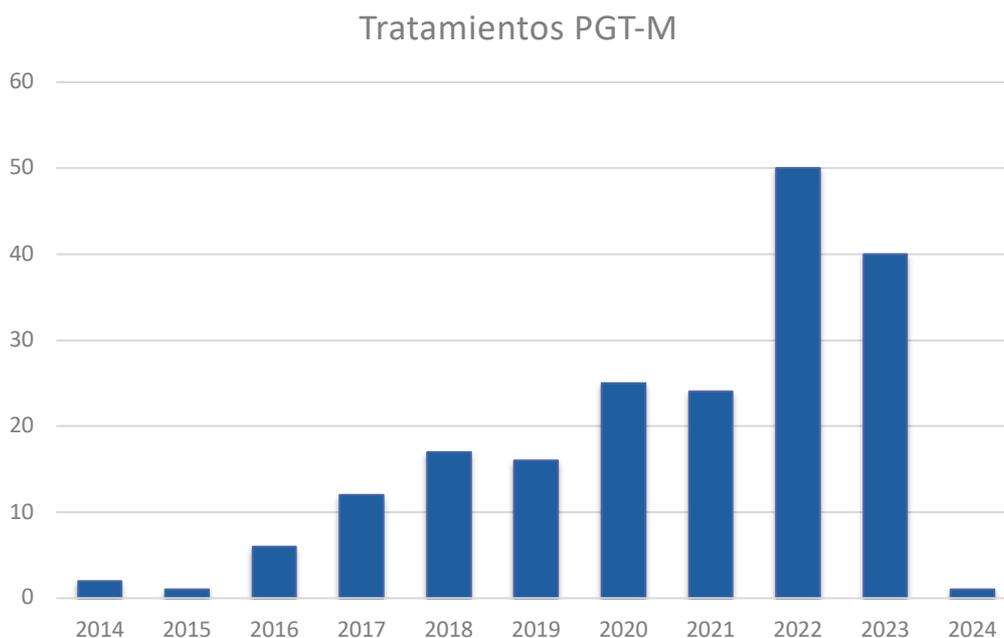


Figura 54. Número de tratamientos de PGT-M en los últimos 10 años. Nota: 2024 no es un año completo, los datos recogidos son hasta final de enero de 2024.

Como ya se ha descrito anteriormente, en mayo del año 2022 comenzó la labor asistencial de los laboratorios de la URA, realizando el 58% de los tratamientos de PGT-M de ese año en las instalaciones de la URA en el HCUVA y el 87,5% de los tratamientos desarrollados en 2023. El Servicio Murciano de Salud (SMS) mantuvo concierto con cuatro clínicas privadas para la realización del 67% de los tratamientos de PGT-M: Instituto Bernabéu (IB), Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI), Clínica Tahe Fertilidad y Unidad de Reproducción de La Vega, para la realización de los tratamientos de PGT-M desde el año 2014 hasta 2023. La distribución de tratamientos de PGT-M realizados durante el periodo de tiempo estudiado se realizó de la siguiente forma (Fig. 55):

- La clínica concertada A realizó 20 tratamientos de PGT-M, lo que supone el 10% de los tratamientos de PGT-M realizados por la URA.
- La clínica concertada B realizó 2 tratamientos de PGT-M, por tanto efectuó el 1% de los tratamientos de PGT-M de la URA.
- La clínica concertada C realizó 16 tratamientos de PGT-M, lo que implica que realizó el 8% de los tratamientos de PGT-M desarrollados por la URA.

- La clínica D realizó 92 tratamientos de PGT-M, lo que significa que efectuó el 48% de los tratamientos realizados por la URA.
- La URA realizó en sus instalaciones del HCUVA 64 tratamientos de PGT-M, lo que supone el 33% de los tratamientos de PGT-M desarrollados por la URA.

TRATAMIENTOS REALIZADOS POR LABORATORIO

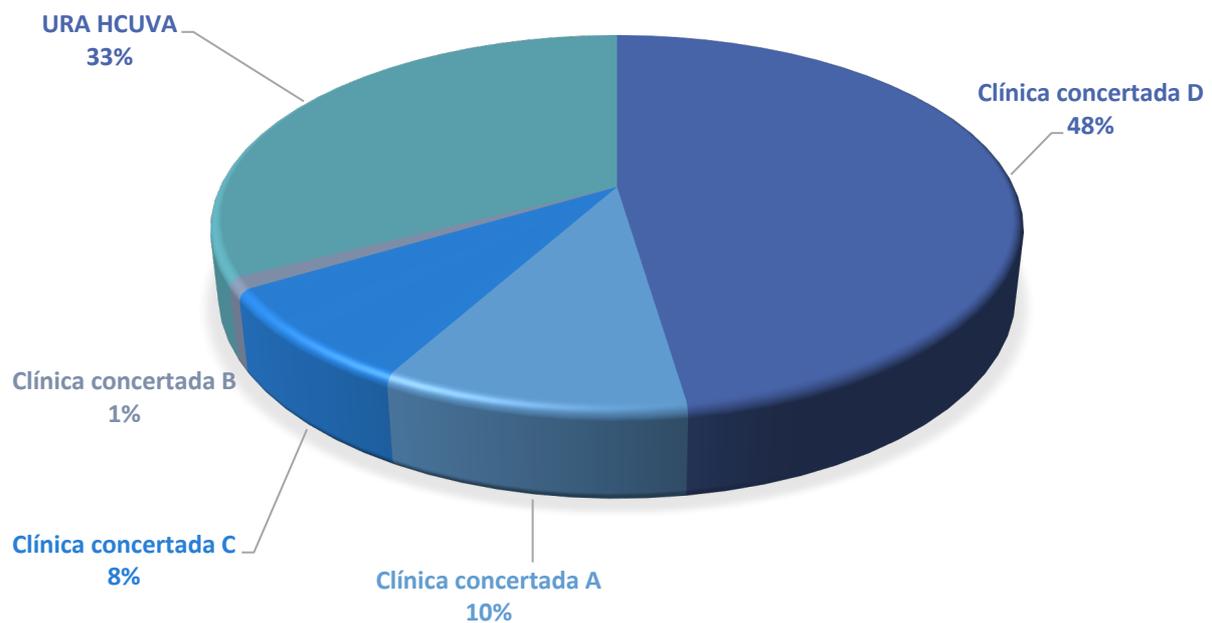


Figura 55: Distribución de tratamientos de PGT-M en los distintos laboratorios de reproducción asistida.

Para evaluar los resultados clínicos nos basamos en algunos de los indicadores clave de calidad (PKI), como son la tasa de fecundación, la tasa de blastocisto, la tasa de gestación clínica y la tasa de implantación recogidos por ASEBIR y ESHRE. Estos indicadores proporcionan información objetiva sobre el rendimiento de un Laboratorio de Reproducción Asistida. En la tabla 4, se pueden observar los resultados generales del programa de PGT-M del HCUVA, durante los 10 primeros años de su puesta en marcha. El número total de pacientes tratadas ha sido de 123, realizándose un total de 194 punciones y para un total de 56 enfermedades monogénicas.

TABLA 4. TABLA RESUMEN DEL PROGRAMA DE PGT-M EN EL HCUVA.

| PROGRAMA DE PGT-M | |
|--|---------------|
| | DATOS TOTALES |
| Nº pacientes | 123 |
| Nº punciones | 194 |
| Total de enfermedades monogénicas | 56 |
| Edad de las pacientes | 33,85±3,59 |
| Media ovocitos MII | 9,51±5,34 |
| Media ovocitos fecundados | 6,67±4,13 |
| Tasa de fecundación ICSI (%) | 70,23 |
| Tasa de blastocisto (%) | 49,15 |
| Tratamientos con embriones biopsiados | 191 |
| Embriones biopsiados | 812 |
| Media embriones biopsiados | 4,20±2,90 |
| Total de tratamientos con embriones biopsiados en D3 | 91 |
| Embriones biopsiados en D3 | 447 |
| Total de tratamientos con embriones biopsiados en D5 | 104 |
| Embriones biopsiados en D5 | 365 |
| Tasa de transferencia en fresco (%) | 10,40 |
| Tasa de criotransferencia (%) | 89,60 |
| Tasa de gestaciones clínica total (%) | 34,10 |
| Tasa de implantación (%) | 31,05 |
| Tasa de aborto (%) | 16,95 |
| Partos | 46* |
| Niños/as nacidos/as | 49* |

(* El número de niños nacidos es un dato incompleto debido a que existen embarazos, que superan el primer trimestre, y que todavía no han llegado a término.

La tasa de fecundación total ha sido del 70,23%, con una tasa de blastocisto del 49,15%. La media de embriones biopsiados ha sido de 4,20±2,90, para conseguir una tasa de gestación clínica total del 34,10%, con una tasa de aborto del 16,95% y una tasa de implantación del 31,05%.

Los resultados clínicos por laboratorio se describen en la Tabla 5, donde se puede apreciar una tasa de fecundación distinta entre los distintos laboratorios, oscilando del 90,90% al 65,82%, con una tasa de blastocisto que va del 66,96% al 32,97%. La media de embriones biopsiados ha sido diferente dependiendo del laboratorio entre 4,97±3,01 y 2,5±0,71. La tasa de gestación también ha sido

diferente, entre el 48,48% y el 25%, al igual que la tasa de implantación, entre el 48,48% y el 22,22%, y la tasa de aborto, que ha estado entre el 50% y el 0%.

TABLA 5. TABLA COMPARATIVA DEL PROGRAMA DE PGT-M EN EL HCUVA SEGÚN EL LABORATORIO

| PROGRAMA DE PGT-M | | | | | |
|---|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| LABORATORIO: | A | B | C | D | URA |
| Nº pacientes | 12 | 1 | 13 | 61 | 36 |
| Nº punciones | 20 | 2 | 16 | 92 | 64 |
| Total de enfermedades monogénicas | 10 | 1 | 8 | 31 | 30 |
| Edad de las pacientes | 34,1±2,55 | 32,5±0,71 | 32,5±3,22 | 34,13±3,71 | 33,73±3,82 |
| Media ovocitos MII | 12,5±6,40 | 5,5±2,12 | 9,25±4,58 | 8,97±5,01 | 9,55±5,49 |
| Media ovocitos fecundados | 9,85±5,56 | 5±2,83 | 7±4,3 | 5,90±3,63 | 6,75±3,92 |
| Tasa de fecundación ICSI (%) | 78,8 | 90,90 | 75,68 | 65,82 | 70,70 |
| Tasa de blastocisto (%) | 49,75 | 50 | 66,96 | 32,97 | 64,58 |
| Tratamientos con embriones biopsiados | 20 | 2 | 16 | 89 | 64 |
| Embriones biopsiados | 98 | 5 | 75 | 457 | 177 |
| Media embriones biopsiados | 4,9±3,22 | 2,5±0,71 | 4,69±3,05 | 4,97±3,01 | 2,77±2,01 |
| Total de tratamientos con embriones biopsiados D3 | 2 | 0 | 1 | 88 | 0 |
| Embriones biopsiados en D3 | 11 | 0 | 2 | 434 | 0 |
| Total de tratamientos con embriones biopsiados D5 | 18 | 2 | 15 | 5 | 64 |
| Embriones biopsiados en D5 | 87 | 5 | 73 | 23 | 177 |
| Tasa de transferencia en fresco (%) | 4,55 | 0 | 11,11 | 14,95 | 0 |
| Tasa de criotransferencia (%) | 95,45 | 100 | 88,89 | 85,05 | 100 |
| Tasa de gestaciones clínica total (%) | 36,36 | 100 | 25 | 29,81 | 48,48 |
| Tasa de implantación (%) | 29,17 | 100 | 22,22 | 26,22 | 48,48 |
| Tasa de aborto (%) | 25 | 50 | 0 | 19,35 | 6,25 |
| Partos | 6 | 1 | 2 | 25 | 12* |
| Niños/as nacidos/as | 6 | 1 | 2 | 28 | 12* |

(*) El número de niños nacidos es un dato incompleto debido a que existen embarazos, que superan el primer trimestre, y que todavía no han llegado a término.

El laboratorio de la URA del HCUVA ha tenido una tasa de fecundación del 70,70%, una tasa de blastocisto del 64,58%, y ha necesitado biopsiar una media de $2,77 \pm 2,01$ para conseguir una tasa de gestación clínica 48,48%, con una tasa de aborto del 6,25% (Tabla 5).

5.3. ANÁLISIS DE LOS DATOS DEPENDIENDO DEL DÍA DE REALIZACIÓN DE LA BIOPSIA EMBRIONARIA.

Para analizar los datos dependiendo del momento en el que se realiza la biopsia embrionaria realizaremos un contraste de hipótesis, y así estudiar, si existen diferencias estadísticamente significativas al realizar la biopsia en día 3 o día 5 en relación a la gestación clínica. En la tabla 6 se pueden observar los datos más importantes.

TABLA 6. RELACIÓN DE LA BIOPSIA D+3 O D+5 FRENTE A LA GESTACIÓN CLÍNICA.

| Día de biopsia | | | p-valor | 0,016 | |
|-------------------|-----------|------------|------------------------|---------------------|-------|
| Gestación clínica | Día 3 | Día 5 | Intervalo de confianza | 0,032 0,317 | |
| | No | 72 (73,5%) | 42 (56%) | Proporción 1 | 0,440 |
| | Sí | 26 (26,5%) | 33 (44%) | Proporción 2 | 0,265 |

El análisis estadístico nos da un p-valor de 0,016, por tanto menor de 0,05, con lo que podemos decir, con un nivel de confianza del 95%, que existen diferencias significativas entre las dos proporciones. También podemos observar que la proporción de gestación clínica al realizar la biopsia en día 3 es del 26,5%, mientras que cuando se realiza en el día 5 está cerca del 45% (Tabla 6). En el siguiente gráfico podemos observar las diferencias según el día de cultivo en el que se realiza la biopsia embrionaria, día 3 o día 5 (Fig. 56).

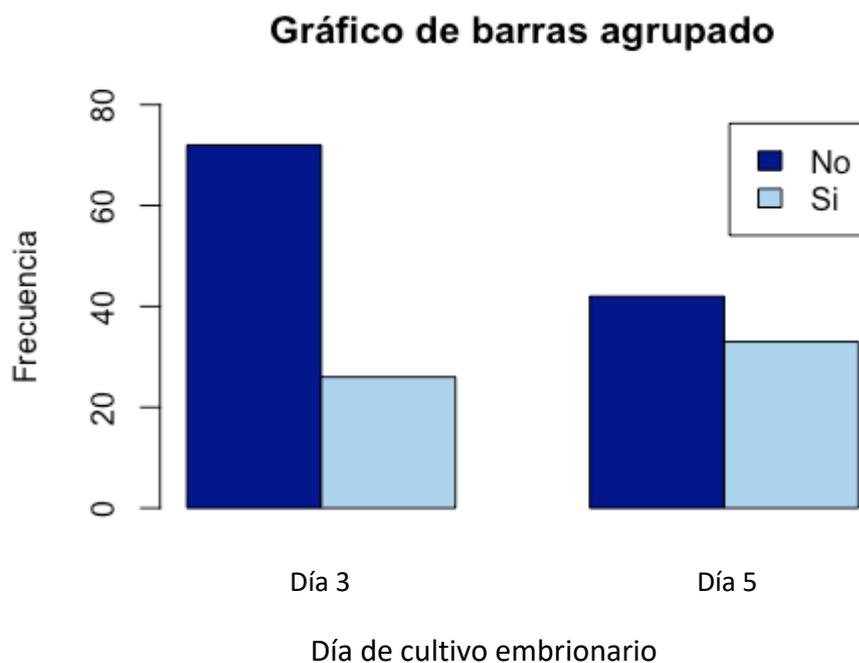


Figura 56. Frecuencia de gestación clínica dependiendo del día de la biopsia.

5.4. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DEL TIPO DE TRANSFERENCIA EMBRIONARIA.

En el análisis de los resultados del programa de PGT-M dependiendo de cuando se realiza la transferencia embrionaria: transferencia embrionaria en fresco (TF) o criotransferencia (CT), realizaremos un contraste de hipótesis, al igual que en el caso anterior, para analizar si existen diferencias significativas al realizar la transferencia embrionaria en relación con la gestación clínica (Tabla 7).

TABLA 7. RELACIÓN DE LA TRANSFERENCIA EMBRIONARIA, TE O CT, FRENTE A LA GESTACIÓN CLÍNICA.

| Tipo de transferencia | | | p-valor | 0,049 |
|-----------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|------------------|
| Gestación clínica | TF | CT | Intervalo de confianza | -0,459 -0,068 |
| | No | 16 (88,9%) 95 (62,5%) | Proporción 1 | 0,111 |
| Sí | 2 (11,1%) 57 (37,5%) | Proporción 2 | 0,375 | |

El resultado estadístico nos da un p-valor menor de 0,05, por lo tanto, podemos afirmar que existen diferencias significativas entre las proporciones en la gestación si se realiza la transferencia en

fresco o si se realiza criotransferencia (Tabla 7). Gráficamente se puede observar las diferencias al realizar la transferencia en fresco o criopreservadas (Fig. 57). También podemos observar que la tasa de gestación clínica al realizar la CT es del 37,5%, mientras que al realizar la TF es del 11% (Tabla 7).

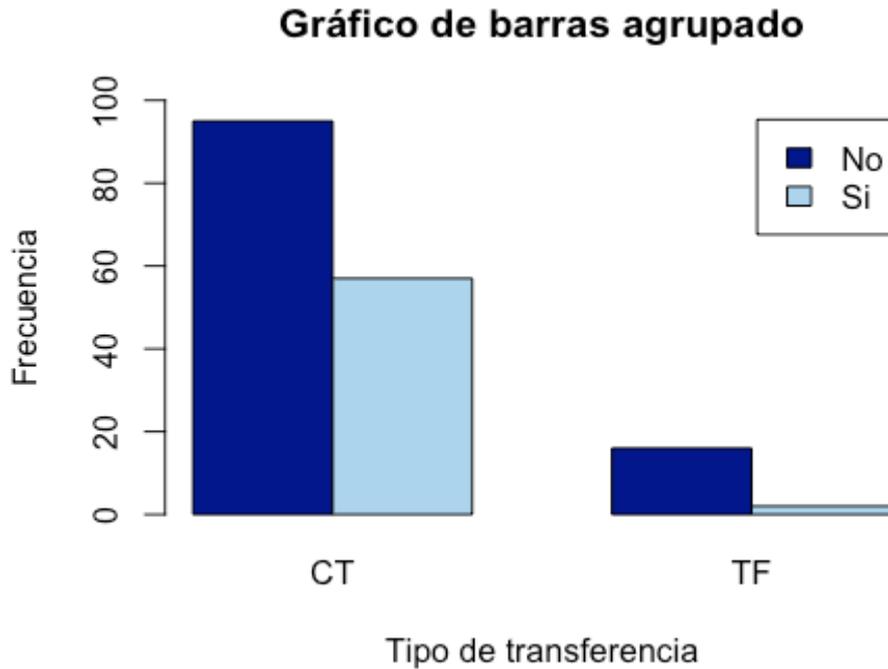


Figura 57. Frecuencia de gestación clínica dependiendo de la transferencia embrionaria.

5.5. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LA RELACIÓN DE ANEUPLOIDÍAS VERSUS CANTIDAD DE OVOCITOS OBTENIDOS EN LA PUNCIÓN FOLICULAR.

Para analizar si existe relación entre el número de ovocitos obtenido en una punción folicular y el porcentaje de embriones aneuploides, se utilizó el coeficiente de correlación de Cramer. En la figura 58 podemos observar que existe una correlación entre el número de ovocitos y embriones aneuploides. A mayor número de ovocitos obtenidos, mayor número de embriones aneuploides. Esta relación nos la confirma el coeficiente de correlación de Cramer, obteniendo un valor de 0,582 que nos indica una relación moderada.

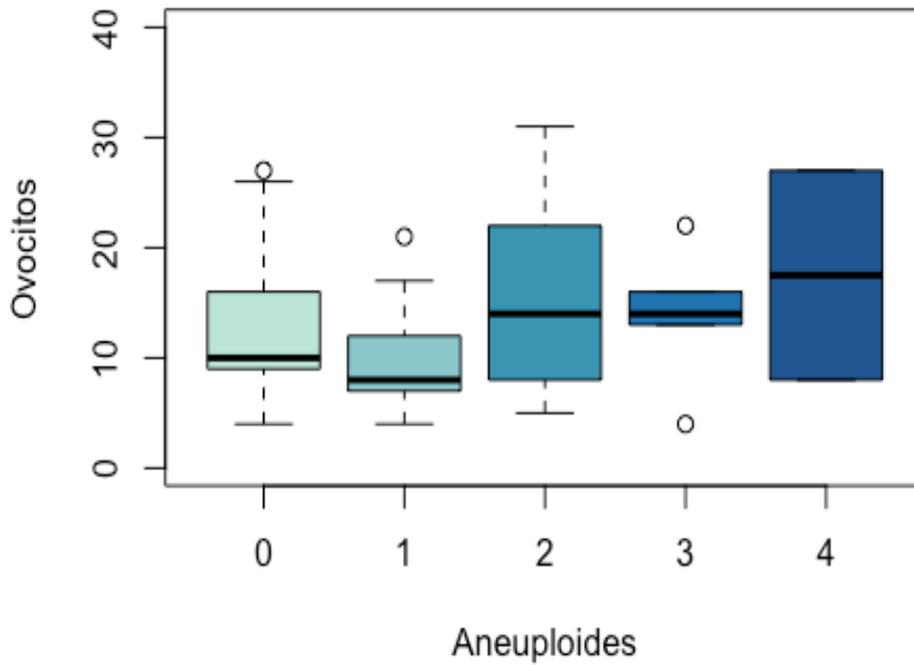


Figura 58. Relación entre el número de ovocitos y el número de embriones aneuploides (n=65).

Por otra parte, también se estudiaron las aneuploidías según la edad de la paciente. Se establecieron 3 grupos de edad: 1. Pacientes menores de 30 años, 2. Pacientes entre 30 y 35 años y 3. Pacientes mayores de 35 años. Al aplicar el test de Kruskal-Wallis nos da un p-valor de 0,335 lo que indica que no existen diferencias significativas entre el número de aneuploidías y los diferentes grupos de edad, que se puede observar en el gráfico de barras agrupado (Fig. 59).

Gráfico de barras agrupado

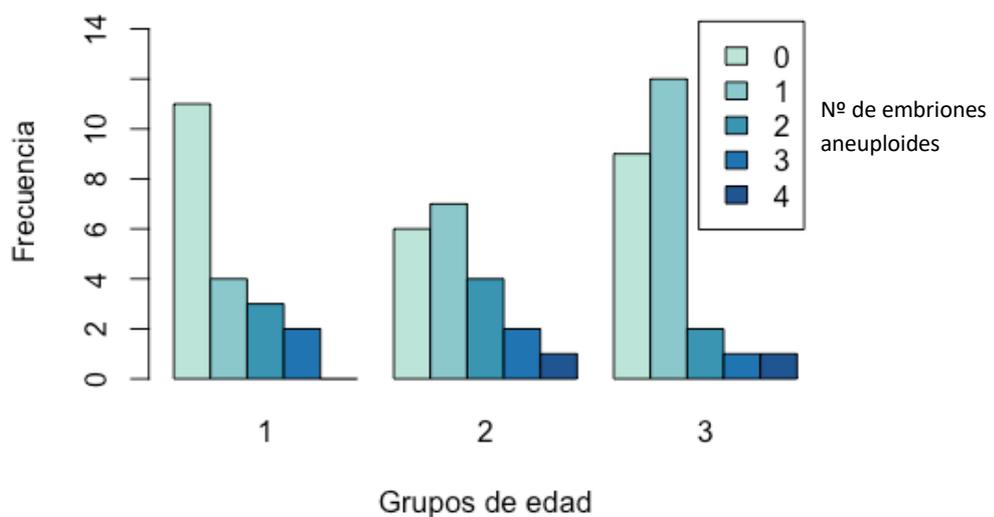


Figura 59. Relación entre el grupo de edad de la paciente (Gedad) y el número de embriones aneuploides (G1 n=20, G2 n=20 y G3 n= 25).

Además, se analizaron las aneuploidías según los días que duró la estimulación. Se establecieron 3 grupos: 1. Duración menor a 9 días, 2. Entre 10 y 12 días y 3. Más de 12 días. El test de Kruskal-Wallis nos da un p-valor de 0,552 lo que indica que no existen diferencias significativas entre el número de aneuploidías y los distintos grupos, que podemos observar en el gráfico de barras agrupado (Fig. 60).

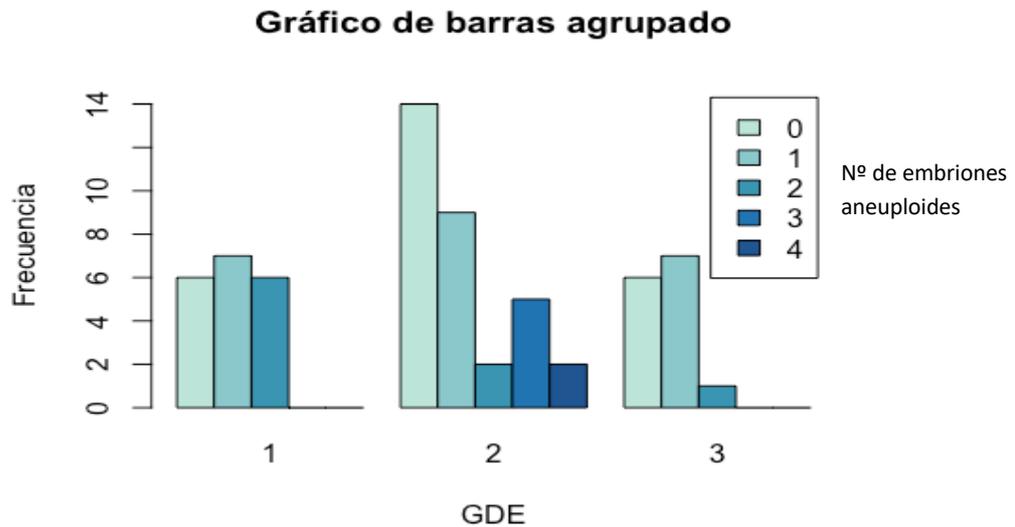


Figura 60. Relación entre los grupos de duración de la estimulación (GDE) y el número de embriones aneuploides (G1 n=19, G2=32 y G3 n=14).

Finalmente, se estudiaron las aneuploidías dependiendo de la dosis total de gonadotropinas. Se crearon 4 grupos: 1. Dosis total menor de 1000 UI, 2. Dosis total entre 1000 y 2000 UI, 3. Dosis total entre 2000 y 3000 UI y 4. Dosis total mayor de 3000 UI. El test de Kruskal-Wallis nos da un p-valor de 0,462 lo que indica que no existen diferencias significativas entre el número de aneuploidías y la dosis total de gonadotropinas, representado en el gráfico de barras agrupado (Fig. 61), al igual que ocurre con el resto de análisis realizados.

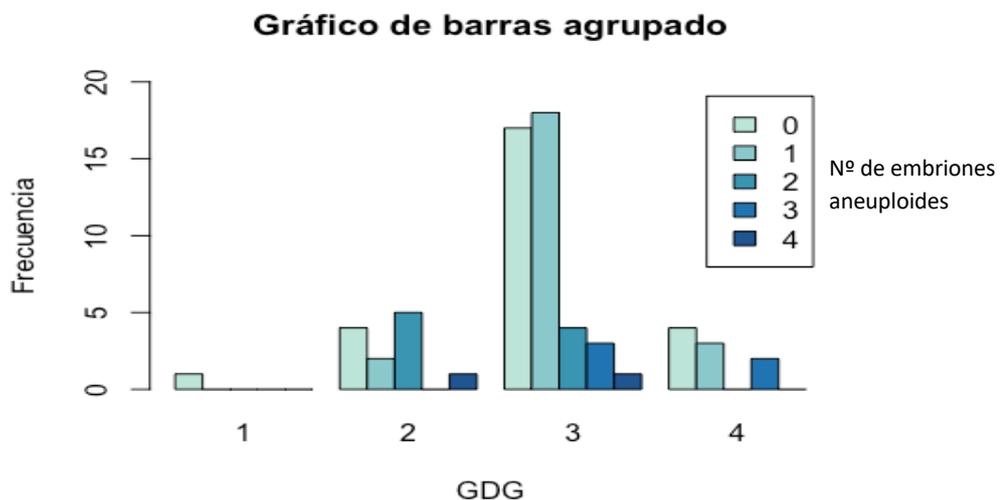


Figura 61. Relación entre los grupos de dosis total de gonadotropinas (GDG) y el número de embriones aneuploides (G1 n=1, G2 n=12, G3 n=44 y G4 n=8).

5.6. ANÁLISIS ECONÓMICO DEL PROGRAMA DE PGT-M EN EL SMS

Los tratamientos de reproducción asistida tienen un elevado coste, que se incrementa, todavía más, al añadir el test genético preimplantacional. El SMS concertó estas técnicas en distintos contratos públicos para dar cobertura al PGT, incluido por el Sistema Nacional de Salud (SNS) en la cartera de servicios comunes en la Orden SSI/2065/2014.

En la Memoria Económica del Contrato de Gestión del Servicio Público para la realización de Técnicas de Reproducción Asistida en régimen ambulatorio a beneficiarios del Servicio Murciano de Salud, se recoge un estudio económico sobre los precios de las citadas técnicas, incluidos los precios de los conciertos del SMS.

Los precios del concierto anterior a este estudio, con fecha de 13 junio de 2017, recogerían los tratamientos realizados por las clínicas concertadas A, B, C, durante 4 años, desde 2014 a 2018, donde el precio total por tratamiento ascendería a 9.430 € (Tabla 8).

TABLA 8. TÉCNICAS Y PRECIOS CONCIERTO SMS (DESDE 2014-2018)

| | |
|------------------------------------|----------------|
| Fecundación <i>in vitro</i> (ICSI) | 1.900 € |
| Vitrificación embrionaria | 130 € |
| PGT-M | 6.900 € |
| Criotransferencia | 500 € |
| TOTAL | 9.430 € |

Los precios máximos licitados, según los datos recogidos en la Memoria Económica de 2017, para el concierto con la clínica D, desde el año 2018 hasta el 2023, ascienden a 4.699,09€ por tratamiento de PGT-M (Tabla 9).

TABLA 9. TÉCNICAS Y PRECIOS CONCIERTO SMS (DESDE 2018-2023)

| | |
|------------------------------------|-------------------|
| Fecundación <i>in vitro</i> (ICSI) | 1.259,5 € |
| Vitrificación embrionaria | 97,90 € |
| PGT-M | 3.120,7 € |
| Criotransferencia | 220,99 € |
| TOTAL | 4.699,09 € |

En el año 2022 comenzó la labor asistencial del laboratorio de reproducción asistida de la URA del HCUVA, y a partir de ese momento, la única técnica a licitar ha sido el “Servicio de *screening* para el diagnóstico de enfermedades monogénicas en embriones, PGT-M”. Los precios de los tratamientos realizados durante la primera licitación (2022-2023) ascienden a 2.604,08€ por tratamiento de PGT-M (Tabla 10).

TABLA 10. TÉCNICAS Y PRECIOS (2022-2023)

| | |
|--|-------------------|
| Fecundación <i>in vitro</i> (ICSI) (URA) | 222,8 € |
| Vitrificación embrionaria (URA) | 115,28 € |
| PGT-M (Licitación CSE/1100/1101038164/21/PASU) | 2.160 € |
| Criotransferencia (URA) | 106 € |
| TOTAL | 2.604,08 € |

En el año 2023 se firmó una segunda licitación para el “Servicio de *screening* para el diagnóstico de enfermedades monogénicas en embriones, PGT-M”. Los precios de cada tratamiento de PGT-M realizado a partir de ese momento asciende a 2.426,08€ (Tabla 11).

TABLA 11. TÉCNICAS Y PRECIOS (2023-2024)

| | |
|--|-------------------|
| Fecundación <i>in vitro</i> (ICSI) (URA) | 222,8 € |
| Vitrificación embrionaria (URA) | 115,28 € |
| PGT-M (Licitación CSE/1100/1101092333/23/PA) | 1.982 € |
| Criotransferencia (URA) | 106 € |
| TOTAL | 2.426,08 € |

En la figura 62 se puede observar la variación en los precios del tratamiento de PGT-M a lo largo de los 10 años que se lleva realizando en el SMS.

Precios tratamientos PGT-M

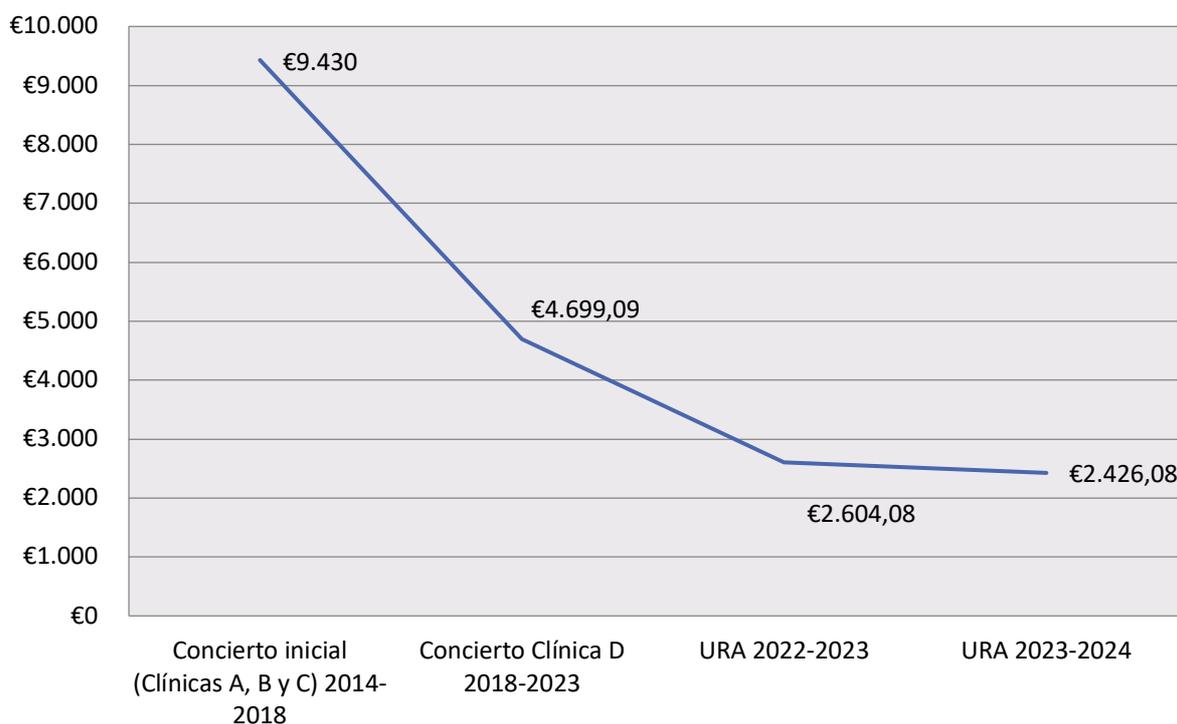


Figura 62. Precios de los tratamientos de PGT-M, durante los últimos 10 años, desde el año 2014 hasta el año 2024.

Finalmente, indicar que todos los tratamientos de PGT-M realizados en la URA del HCUVA llevan incluido el estudio de PGT-A. Este análisis no tiene coste adicional en el precio del tratamiento de PGT-M en los tratamientos de la URA. En los tratamientos de los conciertos anteriores, el *screening* de aneuploidías o PGT-A no estaba incluido, y de haberse realizado, el precio total por tratamiento de PGT-M ascendería a 13.430 € en el caso del Concierto inicial (Clínicas A, B y C) y a 7.048,69 € en el caso del Concierto con la Clínica D. Indicar además que para el cálculo de gasto de la URA del HCUVA no se ha tenido en cuenta el gasto en personal, dato que sí se tiene en cuenta en los dos conciertos.

5.7. ANÁLISIS DE LA EFECTIVIDAD DE UN PROGRAMA DE PGT-M + PGT-A.

Para analizar la efectividad del programa de PGT-M más PGT-A se estudió la tasa de gestación clínica y la tasa de aborto en el grupo que sólo realizó PGT-M y en el grupo que realizó PGT-M+A. Además, se realizó un contraste de hipótesis para examinar si existen diferencias en ambos grupos en relación a la tasa de gestación clínica, del 43,2% para el PGT-M+A y del 31,6% para el PGT-M (Tabla 12). El resultado estadístico dio un p-valor de 0,259, por encima de 0,05, lo que indica que no existen diferencias significativas en la tasa de gestación clínica entre ambos grupos (Tabla 12).

TABLA 12. RELACIÓN DE LA TÉCNICA UTILIZADA Y LA TASA DE GESTACIÓN CLÍNICA.

| Técnica utilizada | | | p-valor | 0,259 |
|-------------------|-------------|-------------|------------------------|--------|
| Gestación clínica | PGT-M | PGT-M+A | Intervalo de confianza | -0,078 |
| | | | | 0,311 |
| No | 93 (68,38%) | 21 (56,76%) | Proporción 1 | 0,432 |
| Sí | 43 (31,62%) | 16 (43,24%) | Proporción 2 | 0,316 |

Gráficamente también se puede observar las diferencias al realizar PGT-M únicamente o ambos análisis PGT-M+A (Fig. 63).

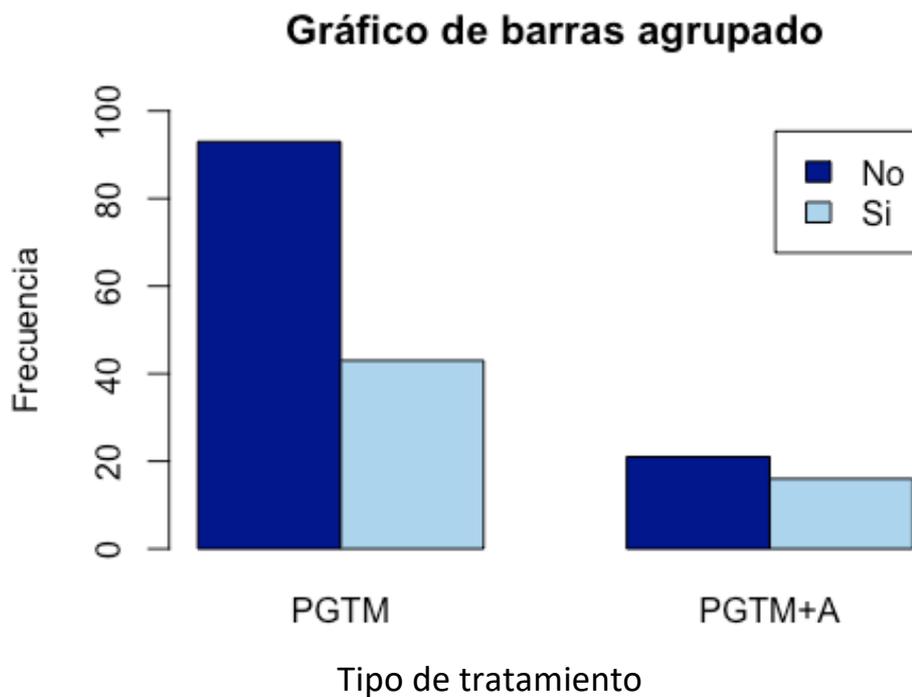


Figura 63. Frecuencia de tasa de gestación en relación a la técnica utilizada (PGT-M o PGT-M+A).

También se realizó un contraste de hipótesis para comparar si existen diferencias entre la tasa de aborto discriminado por la técnica utilizada: PGT-M o PGT-M+A (Tabla 13).

TABLA 13. RELACIÓN DE LA TÉCNICA UTILIZADA Y LA TASA DE ABORTO.

| Técnica utilizada | | | p-valor | 0,2592 |
|-------------------|------------|-------------|-------------------------------|----------------|
| Aborto | PGT-M | PGT-M+A | Intervalo de confianza | 0,005 2,156 |
| No | 34 (79,1%) | 15 (93,75%) | Proporción 1 | 0,062 |
| Sí | 9 (20,9%) | 1 (6,25%) | Proporción 2 | 0,209 |

Como uno de los valores en las frecuencias esperadas es menor 5 se recomienda utilizar el test exacto de Fisher, el cual, nos arroja un p-valor mayor de 0,05, por lo que no se puede rechazar la hipótesis nula, es decir, no hay evidencias de que existan diferencias estadísticamente significativas en la tasa de aborto según la técnica utilizada. Si observamos los valores de la proporción, se puede ver que la tasa de aborto estaría alrededor de un 6% utilizando la técnica PGT-M+A mientras que utilizando PGT-M estaría alrededor del 20% (Tabla 13). Gráficamente también se pueden observar las diferencias al realizar un análisis u otro (Fig. 64).

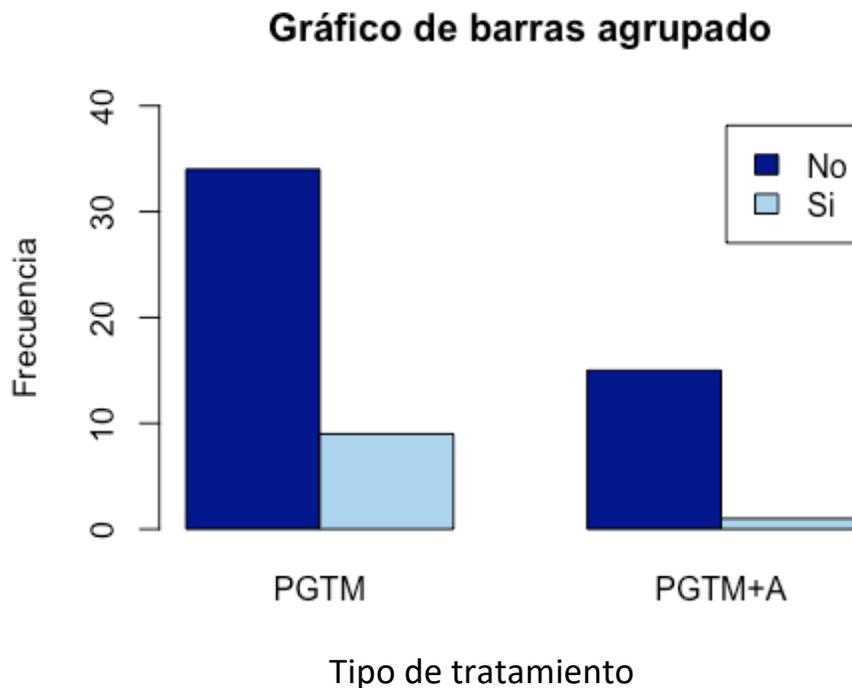


Figura 64. Frecuencia de aborto en relación a la técnica utilizada (PGT-M o PGT-M+A).

5.8. CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES SUSCEPTIBLES A REALIZAR UN TRATAMIENTO DE PGT-M.

Las enfermedades raras son aquellas enfermedades poco frecuentes, con una prevalencia inferior a 5 casos por cada 10.000 habitantes, con peligro de muerte o invalidez crónica (Real Decreto 1091, 2015). En este Real Decreto, del 4 de diciembre, se crea y regula el Registro Estatal de Enfermedades Raras con la finalidad de proporcionar información epidemiológica, mejorar la planificación y gestión sanitaria con conductas preventivas y asistenciales, y promoviendo indicadores básicos, sobre estas enfermedades, que permitan realizar comparativas entre las distintas comunidades autónomas. Según la base de datos Orphanet al menos el 75% de estas enfermedades tienen un origen genético. En la Región de Murcia, el Sistema de información sobre enfermedades raras de la Región (SIER), ha realizado una clasificación de dichas enfermedades (Fig. 65) y en base a esa clasificación y a la que la CNRHA elaboró en su Memoria de actividades (2014-2018) sobre enfermedades con informe favorable para realización de PGT-M, se han ordenado las enfermedades susceptibles a PGT-M de este estudio (Tabla 14), para de esta forma, poder realizar comparativas por grupos de enfermedades y de algunas de las enfermedades susceptibles a PGT-M con mayor incidencia en el HCUVA.

TABLA 14. CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES MONOGÉNICAS TRATADAS CON PGT-M EN LA URA.

| ENFERMEDAD | Nº DE CASOS |
|--|-------------|
| ENFERMEDADES ENDOCRINAS, NUTRITIVAS Y METABÓLICAS | 21 |
| Fibrosis quística | 7 |
| Déficit de ornitina transcarbilaminasa | 1 |
| Fenilcetonuria | 1 |
| Hiperplasia adrenal congénita por deficit de 21 hidroxilasa/ Hiperplasia suprarrenal | 2 |
| Defecto congénito de glicosilación: deficiencia de fosfomanomutasa | 1 |
| Deficiencia de adenilsuccinato liasa Tipo I | 1 |
| Deficiencia primaria sistémica de carnitina | 1 |
| Mucopolisacaridosis tipo 1 | 1 |
| MEN 1 | 3 |
| MEN 2 | 3 |
| ENFERMEDADES DEL SISTEMA NERVIOSO Y DE LOS ÓRGANOS DE LOS SENTIDOS | 23 |
| Enfermedad Huntington | 6 |
| Retinosis pigmentaria | 1 |
| Enfermedad Charcot-Marie-Tooth tipo1 | 5 |

| | |
|--|-----------|
| Albinismo ocular (sentidos) | 1 |
| Síndrome de Poretti-Boltshauser | 1 |
| Neurofibromatosis tipo 1 | 6 |
| Miopatía nemalínica | 1 |
| Síndrome de Axenfeld Rieger | 1 |
| Síndrome de Neu-Laxova | 1 |
| ENFERMEDADES DEL SISTEMA CIRCULATORIO | 14 |
| Síndrome del QT largo | 1 |
| Miocardopatía hipertrófica familiar (MCH familiar) | 7 |
| Cardiomiopatía dilatada familiar | 2 |
| Angiopatía hereditaria, enf. de pequeños vasos o microangiopatía | 1 |
| Telangiectasia familiar | 1 |
| Cavernomatosis cerebral familiar | 2 |
| ENFERMEDADES HEMATOLÓGICAS | 6 |
| Beta Talasemia | 1 |
| Anemia de Blackfan-Diamond | 2 |
| Hemofilia A | 1 |
| Esferocitosis hereditaria | 1 |
| Trombocitopenia neonatal aloinmune | 1 |
| ENFERMEDADES DEL SISTEMA OSTEOMUSCULAR Y TEJIDO CONECTIVO | 15 |
| Distrofia muscular de Duchenne | 1 |
| Paramiotonía congénita de Von Eulenburg | 1 |
| Síndrome de Muenke | 1 |
| Distomía mioclónica | 1 |
| Displasia Epifisaria Múltiple | 1 |
| Miotonía central tipo CORE | 1 |
| Paraplejía espástica familiar tipo 4 | 1 |
| Distrofia Facio-escápulo-humeral tipo 1 | 1 |
| Síndrome Trico-rino-falángico Tipo I | 1 |
| Miotonía de Steinert | 1 |
| Distrofia Muscular Congénita por deficiencia de Merosina | 1 |
| Osteogénesis Imperfecta | 1 |
| Síndrome uña-rótula | 1 |
| Atrofia muscular espinal proximal tipo I | 1 |

| | |
|--|-----------|
| Síndrome de Marfan | 1 |
| ENFERMEDADES DEL SISTEMA GENITOURINARIO | 14 |
| Poliquistosis Renal autosómica dominante | 13 |
| Poliposis adenomatosa familiar | 1 |
| TRASTORNOS MULTISISTÉMICOS | 14 |
| Síndrome de Noonan | 1 |
| Síndrome de Townes-Brocks | 1 |
| Síndrome del X Frágil | 12 |
| NEOPLASIAS | 19 |
| Retinoblastoma | 1 |
| Síndrome de Lynch | 5 |
| Cáncer de mama hereditario (BRCA-1, BRCA-2 o ATM) | 13 |
| ENFERMEDADES DE LA PIEL Y TEJIDO SUBCUTÁNEO | 1 |
| Incontinencia pigmentaria | 1 |

Los datos sobre las enfermedades tratadas con PGT-M en la URA del HCUVA (Fig. 66) muestran una mayor incidencia en los grupos de Enfermedades del sistema nervioso y órganos de los sentidos (18%) y en Enfermedades endocrinas, nutritivas y metabólicas (16%), datos correlacionados con la distribución porcentual de los mismos grupos de enfermedades en los datos epidemiológicos de enfermedades raras en la Región (Fig. 65).

Enfermedades raras según sexo y clasificación CCS. Número de casos y distribución porcentual (%). Región de Murcia.

| Grupo de enfermedad | Hombre | | Mujer | | Total | |
|--|---------------|----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| | N | % | N | % | N | % |
| 1. Enfermedad infecciosa y parasitaria | 16 | 0,04% | 11 | 0,02% | 27 | 0,03% |
| 2. Neoplasias | 645 | 1,50% | 590 | 1,23% | 1.235 | 1,36% |
| 3. Enfermedades endocrinas | 6.571 | 15,32% | 8.759 | 18,24% | 15.330 | 16,86% |
| 4. Enfermedades de la sangre y órganos hematopoyéticos | 3.827 | 8,92% | 5.235 | 10,90% | 9.062 | 9,97% |
| 5. Enfermedades mentales | 260 | 0,61% | 212 | 0,44% | 472 | 0,52% |
| 6. Enfermedades del sistema nervioso y órganos de los sentidos | 5.851 | 13,64% | 6.790 | 14,14% | 12.641 | 13,91% |
| 7. Enfermedades del aparato circulatorio | 2.476 | 5,77% | 2.297 | 4,78% | 4.773 | 5,25% |
| 8. Enfermedades del aparato respiratorio | 1.090 | 2,54% | 636 | 1,32% | 1.726 | 1,90% |
| 9. Enfermedades del aparato digestivo | 1.038 | 2,42% | 1.014 | 2,11% | 2.052 | 2,26% |
| 10. Enfermedades del sistema genitourinario | 1.249 | 2,91% | 952 | 1,98% | 2.201 | 2,42% |
| 12. Enfermedades de la piel y tejido subcutáneo | 1.263 | 2,94% | 1.725 | 3,59% | 2.988 | 3,29% |
| 13. Enfermedades del sistema osteomuscular y tejido conectivo | 2.954 | 6,89% | 5.021 | 10,46% | 7.975 | 8,77% |
| 14. Anomalías congénitas | 15.015 | 35,01% | 14.117 | 29,40% | 29.132 | 32,05% |
| Otros y no clasificados | 636 | 1,48% | 658 | 1,37% | 1.294 | 1,42% |
| Total | 42.891 | 100,00% | 48.017 | 100,00% | 90.908 | 100,00% |

Figura 65. Distribución porcentual de enfermedades raras en la Región de Murcia. Fuente: Sistema de Información sobre Enfermedades raras de la Región de Murcia (SIER).

GRUPOS DE ENFERMEDADES TRATADAS EN LA URA

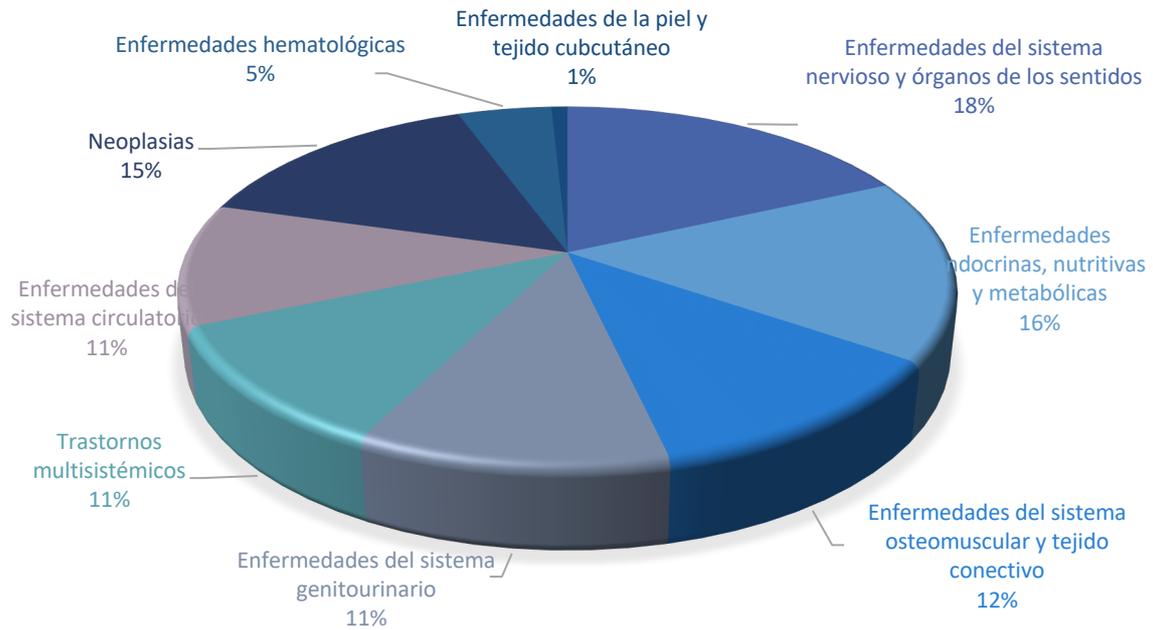


Figura 66. Distribución porcentual por grupo de enfermedades tratadas con PGT-M en la Región de Murcia.

Los grupos de enfermedades con menor incidencia tratadas en la URA (Fig. 66) son las Enfermedades de la piel y tejido subcutáneo, con una incidencia del 1%. El mismo grupo en los datos epidemiológicos de enfermedades raras de la Región de Murcia tienen una incidencia del 3,29%.

Al analizar alguna de las enfermedades con mayor incidencia en la URA, como el Síndrome del X Frágil, se observa mayor número de tratamientos de PGT-M realizados (Fig. 67) en las zonas con mayor incidencia del Síndrome (Fig. 68) y ningún tratamiento realizado en las zonas con menor incidencia.



Figura 67. Distribución de PGT-M realizados para el Síndrome del X-frágil en la Región de Murcia.

ENFERMEDADES SELECCIONADAS ⓘ

X Frágil (Síndrome)

Número de casos y tasa por 10.000 habitantes según enfermedad y sexo. Región de Murcia.

| Enfermedad | N Hombres | Tasa Hombres | N Mujeres | Tasa Mujeres | N Total | Tasa Total |
|---------------------|-----------|--------------|-----------|--------------|---------|------------|
| X Frágil (Síndrome) | 114 | 1,49 | 34 | 0,44 | 148 | 0,97 |

| Codificación | |
|---------------|-------------|
| Clasificación | Códigos |
| CIE10ES | Q99.2 |
| CIE9MC | 759.83 |
| OMIM | 300624 |
| ORPHA | 908, 449291 |
| SNOMED | 613003 |

Para ampliar información, pulse en los iconos.



Tasa por 10.000 habitantes según sexo y grupo de edad (izq.) y área de salud (dcha) . Región de Murcia. ⓘ

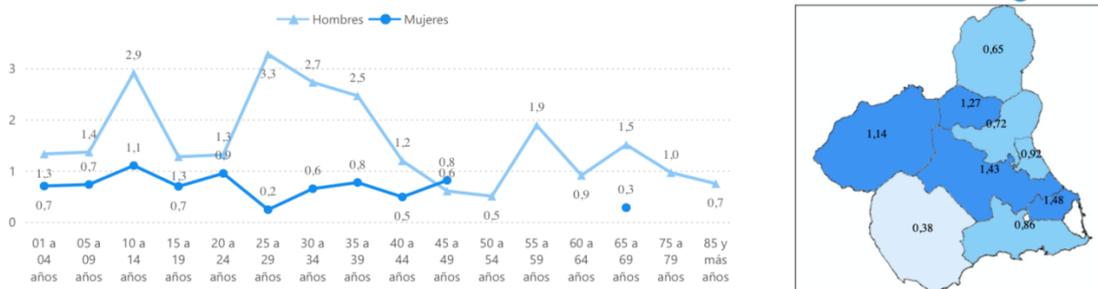


Figura 68. Distribución de Síndrome del X-frágil en la Región de Murcia. Fuente: SIER.

Al observar lo que ocurre con la Enfermedad de Huntington vemos que el mayor número de tratamientos de PGT-M realizados para esta enfermedad en la URA se da en el Área 9 (50%) (Fig. 69),

mientras que la mayor incidencia de esta enfermedad según el SIER también se da en el Área 9 (1,46) (Fig. 70).



Figura 69. Distribución de PGT-M realizados para la Enfermedad de Huntington en la Región de Murcia.

ENFERMEDADES SELECCIONADAS i

Enf. De Huntington

Número de casos y tasa por 10.000 habitantes según enfermedad y sexo. Región de Murcia.

| Enfermedad | N Hombres | Tasa Hombres | N Mujeres | Tasa Mujeres | N Total | Tasa Total |
|--------------------|-----------|--------------|-----------|--------------|---------|------------|
| Enf. De Huntington | 18 | 0,23 | 31 | 0,41 | 49 | 0,32 |

| Codificación | |
|---------------|-------------|
| Clasificación | Códigos |
| CIE10ES | G10 |
| CIE9MC | 333.4 |
| OMIM | 143100 |
| ORPHA | 399, 248111 |
| SNOMED | 58756001 |

Para ampliar información, pulse en los iconos.



Tasa por 10.000 habitantes según sexo y grupo de edad (izq.) y área de salud (dcha) . Región de Murcia. i

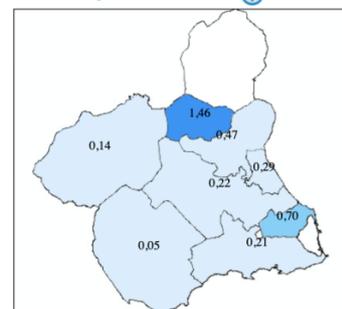
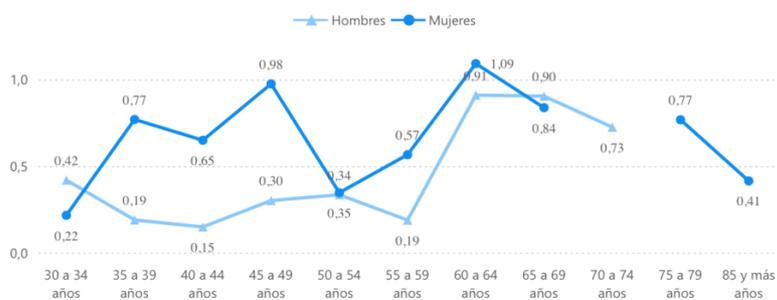


Figura 70. Distribución de la Enfermedad de Huntington en la Región de Murcia. Fuente: SIER.

En el caso de la Fibrosis quística el mayor número de casos tratados por la URA para PGT-M se da en el Área II (Fig. 71), mientras que la mayor incidencia de esta enfermedad según el SIER se da en el Área I con una incidencia del 1,24 (Fig. 72).

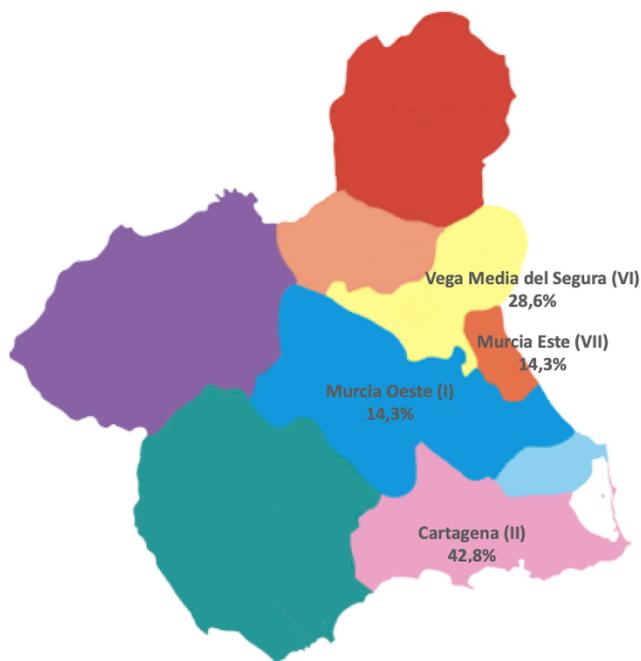


Figura 71. Distribución de de PGT-M realizados para Fibrosis quística en la Región de Murcia.

ENFERMEDADES SELECCIONADAS ⓘ

Fibrosis Quistica ←

Número de casos y tasa por 10.000 habitantes según enfermedad y sexo. Región de Murcia.

| Enfermedad | N Hombres | Tasa Hombres | N Mujeres | Tasa Mujeres | N Total | Tasa Total |
|-------------------|-----------|--------------|-----------|--------------|---------|------------|
| Fibrosis Quistica | 80 | 1,04 | 66 | 0,86 | 146 | 0,95 |

| Codificación | |
|---------------|--|
| Clasificación | Códigos |
| CIE10ES | E84, E84.9, E84.11, E84.0, E84.1, E84.8, E84.19 |
| CIE9MC | 277.0, 277.00, 277.01, 277.02, 277.03, 277.09 |
| OMIM | 219700 |
| ORPHA | 586 |
| SNOMED | 190905008, 81423003, 86092005, 86555001, 707536003 |

Para ampliar información, pulse en los iconos.



Tasa por 10.000 habitantes según sexo y grupo de edad (izq.) y área de salud (dcha) . Región de Murcia. ⓘ

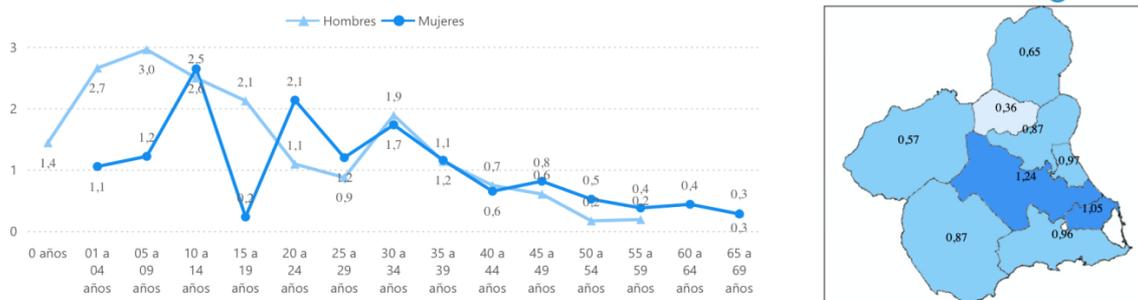


Figura 72. Distribución de la Fibrosis quística en la Región de Murcia. Fuente: SIER.

5.9. CATÁLOGO DE ENFERMEDADES MONOGÉNICAS ANALIZADAS EN LA REGIÓN DE MURCIA

A continuación, se describe el catálogo de enfermedades estudiadas en la URA del HCUVA y de esta forma crear un registro, como de guía de consulta, de la mayoría de las enfermedades monogénicas realizadas en la Región de Murcia.

5.9.1. ENFERMEDADES LIGADAS AL CROMOSOMA X

5.9.1.1. RECESIVAS LIGADAS AL CROMOSOMA X

ALBINISMO OCULAR (XLOA) (#OMIM: 300500; ORPHA: 54)

Descripción clínica

Trastorno ocular hereditario caracterizado por nistagmo (movimientos oculares rítmicos e involuntarios y oscilaciones repetitivas), fotofobia (sensibilidad a la luz), alteración de la agudeza visual, hipopigmentación del iris con translucidez, fondo de ojo albinótico, hipoplasia macular, y piel y cabello con pigmentación normal. La reducida agudeza visual y las consecuencias sociales de esta patología pueden tener un efecto importante en el desarrollo de la vida diaria del paciente. El albinismo ocular está causado por una mutación en el gen *GPR143* (Xp22) (#OMIM: 300808) que codifica la proteína G (GPCR) que se expresa exclusivamente en melanocitos y epitelio pigmentario de la retina (EPR). Tiene una prevalencia aproximada de 1/60.000-1/150.000 en recién nacidos varones (Summers, 2013; O'Neill, 2011; O'Neill, 2009).

Caso clínico

Paciente portadora asintomática en heterocigosis de la delección que afecta los exones 7 y 8 del gen *GPR143* (#OMIM: 300808) asociado al Albinismo ocular en su familia. El 50% de los hijos varones de la paciente serán afectados, por tanto, la paciente tiene un riesgo para su descendencia masculina del 50%. En el caso de las hijas tienen un riesgo del 50% de ser portadoras heterocigóticas, con expresión clínica variable, que depende del porcentaje de inactivación de sus cromosomas X materno o paterno.

DEFICIENCIA DE ORNITINA TRANSCARBAMILASA (OTC) (#OMIM: 311250; ORPHA: 664)

Descripción clínica

Trastorno del metabolismo del ciclo de la urea y de la detoxificación de amonio, que tiene como consecuencia la acumulación de amoniaco en sangre. Existen dos formas de la enfermedad dependiendo del momento de su aparición: 1. La forma temprana, de inicio neonatal y más grave. Los pacientes son normales al nacimiento, desarrollando a los pocos días, problemas de succión, hipotonía y letargia, que avanza rápidamente a somnolencia y coma. Además, pueden experimentar crisis epilépticas e hiperventilación y 2. La forma tardía, que puede comenzar a cualquier edad y más leve. Los pacientes pueden manifestar delirio, problemas de comportamiento, dolores de cabeza, vómitos, aversión a los alimentos proteínicos, y convulsiones. La deficiencia de ornitina transcarbamilasa está causada por mutaciones en el gen *OTC* (#OMIM: 300461), que codifica para la OTC, responsable de catalizar la síntesis de citrulina. Dependiendo si las mutaciones suprimen completamente la actividad de la OTC o si se produce una disminución de la misma, podemos clasificar la enfermedad en sus distintas formas. Cuando las mutaciones suprimen totalmente la actividad de la OTC el resultado es la forma temprana (grave), mientras si las mutaciones que conducen a una disminución de la actividad OTC resultan en la forma tardía del trastorno (leve). La prevalencia estimada a nivel mundial está en torno a 1/56.000-1/113.000 nacidos vivos (Haberle, 2019; Vernon, 2023).

Caso clínico

Paciente portadora de una mutación en el gen *OTC* (#OMIM: 300461) *de novo*. En el caso de la paciente, los hijos varones tienen un riesgo del 50% de heredar la enfermedad, mientras que en el caso de las hijas tienen un 50% de probabilidad de ser portadoras como su madre.

DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE (DMD) (#OMIM: 310200; ORPHA: 98896)

Descripción clínica

Enfermedad hereditaria que cursa con debilidad y atrofia muscular como consecuencia de la degeneración progresiva del músculo esquelético, liso y cardíaco. Los síntomas de la distrofia Muscular de Duchenne generalmente comienzan en la infancia temprana y progresan con el tiempo. Los niños afectados suelen presentar retraso en el desarrollo motor, debilidad muscular progresiva, dificultad para levantarse desde el suelo, marcha anormal, pérdida de la deambulación independiente y complicaciones respiratorias y cardíacas a medida que la enfermedad avanza. La DMD está causada por la mutación en el gen *DMD* (Xp21.2) (#OMIM: 300377) que codifica la proteína distrofina, esencial

para el funcionamiento y la integridad de las fibras musculares. Tiene una prevalencia estimada de 1/3.500-1/3.300 varones nacidos (Pula & Quinlivan, 2020; Gross, 2022).

Caso clínico

Paciente portadora de Distrofia Muscular de Duchenne, delección exones 48-50 gen *DMD* (#OMIM: 300377) con hijo afecto de DMD. La paciente tiene un 50 % de probabilidad de transmitir el gen mutado a sus hijos varones. Los hijos varones de la paciente tienen un 50 % de probabilidad de heredar la mutación y desarrollar la enfermedad, por tanto el riesgo de recurrencia es del 50 %. Las hijas de la paciente tienen un 50 % de probabilidad de ser portadoras como su madre. La mayoría de las portadoras suelen ser asintomáticas, aunque algunas pueden presentar formas leves de la enfermedad.

HEMOFILIA A (#OMIM: 306700; ORPHA: 98878)

Descripción clínica

Enfermedad hematológica hereditaria causada por una deficiencia en la actividad del factor de coagulación VIII, que afecta a la capacidad de coagulación de la sangre y cursa con episodios de sangrado o hemorragias. Dependiendo del grado de deficiencia del factor VIII, la afectación se puede clasificar en: 1. Hemofilia A grave: la actividad biológica del factor VIII es menor de 1UI/dl. Cursa con hemorragias espontáneas y sangrado anómalo tras lesiones leves, traumatismos o intervenciones quirúrgicas, 2. Hemofilia A moderada: la actividad del factor VIII está entre 1 y 5 UI/dl. Cursa con sangrado anómalo tras lesiones leves, traumatismos o intervenciones quirúrgicas, siendo las hemorragias espontáneas poco frecuentes y 3. Hemofilia A leve: la actividad biológica del factor VIII está entre 5-40UI/dl o mayor de 40 UI/dl con la variante patogénica. Cursa con sangrado anómalo tras lesiones leves, traumatismos o intervenciones quirúrgicas, pero no con hemorragias espontáneas. Afecta en su mayoría a los varones, aunque las mujeres también pueden presentar un cuadro más leve. La hemofilia A se caracteriza por mutaciones del gen *F8* (Xq28) (#OMIM: 300841) que codifica el factor de coagulación VIII de la sangre. Tiene una prevalencia entre 1-9/100.000 (Dargaud & Fenaux, 2022; Hamosh, 2023).

Caso clínico

Paciente portadora heterocigótica de una variante patogénica de origen materno en exón 22 del gen *F8* (#OMIM: 300841), relacionada con la aparición de hemofilia A moderada. La paciente tiene un 50 % de probabilidad de transmitir el gen mutado a sus hijos varones, siendo el riesgo de tener un hijo varón afecto por embarazo del 25 %. La probabilidad de tener descendencia femenina portadora,

como su madre, es del 50 %, siendo el riesgo de tener una hija portadora por embarazo del 25 %. Alrededor de un 10% de las mujeres portadoras de Hemofilia A pueden presentar una disminución del factor VIII que está relacionada con la posibilidad de sangrado asociado.

RETINOSIS PIGMENTARIA (RP) (#OMIM: 312600; ORPHA: 791)

Descripción

La RP es una distrofia hereditaria de la retina. Se caracteriza por el estrechamiento del campo visual, ceguera nocturna y cambios en el fondo de ojo, incluidos depósitos de pigmento. La RP no asociada con otras anomalías se hereda con mayor frecuencia (84%) como autosómica recesiva, luego como autosómica dominante (10%) y con menos frecuencia (6%) como recesiva ligada al cromosoma X. La RP está causada por mutaciones en el gen *RP2* (#30057) (Xp11). Tiene una prevalencia de 1-5 / 10 000 (Kelly, 2016).

Caso clínico

Paciente portadora de una variante patogénica en el gen *RP2* (#OMIM: 30057), responsable de la aparición de Retinosis Pigmentaria ligada al cromosoma X, el riesgo de transmisión a su descendencia es de un 50% en cada embarazo independientemente del sexo. Las hijas serían portadoras como la paciente, los hijos sería afectos de la enfermedad.

5.9.1.2. DOMINANTES LIGADAS AL CROMOSOMA X

SÍNDROME DEL X FRÁGIL (SXF) (#OMIM: 300624; ORPHA: 908)

Descripción clínica

Esta enfermedad cursa con discapacidad intelectual que puede presentar una gravedad variable, retrasos en el desarrollo, discapacidad en el aprendizaje, problemas sociales y de conducta. El Síndrome del X Frágil es un trastorno genético causado por el silenciamiento transcripcional del gen *FMR1* (Xq27.3) (#OMIM: 309550), que afecta a la producción de la proteína FMRP (*Fragile X Mental Retardation Protein*). Esta proteína regula la síntesis proteica y otras vías de señalización en las dendritas neuronales. En este gen existe un segmento específico caracterizado por la repetición del trinucleótido CGG. Dependiendo del número de repeticiones el individuo será: 1. Normal (5-44 repeticiones), 2. Intermedio (45-54 repeticiones), 3. Premutación (55-200 repeticiones) y 4. Mutación completa (más de 200 repeticiones) (Tabla 15). Los síntomas suelen aparecer durante la infancia y

tiene una prevalencia estimada de 1/2.400-1/6.000, aunque puede ser diferente dependiendo de la zona geográfica donde se realice el estudio (Hagerman, 2020).

TABLA 15. NIVELES DE MUTACIÓN PARA X-FRÁGIL

| NO AFECTO | NO AFECTO | PORTADOR | AFECTO |
|--------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------|
| Normal | Intermedio | Premutación | Mutación completa |
| 5-44 repeticiones CGG | 45-54 repeticiones CGG | 55-200 repeticiones CGG | >200 CGGs |

Caso clínico

Paciente portadora de una expansión patológica del triplete CGG (95 repeticiones +/-1CGG) en el gen *FMR1* (#OMIM: 309550). Alelos con este número de repeticiones (premutación) se han relacionado con el síndrome de Temblor-Ataxia vinculado al SXF (varones) o al fallo ovárico precoz (mujeres). El patrón de herencia del SXF es dominante ligado al cromosoma X, el 50% de la descendencia será afectada en cada embarazo, con penetrancia reducida en las mujeres. Además, este síndrome presenta anticipación genética, la descendencia de padres portadores puede heredar alelos de tamaño mayor que el parental.

INCONTINENCIA PIGMENTARIA (IP) (#OMIM: 308300; ORPHA: 464)

Descripción clínica

Displasia ectodérmica multisistémica que cursa con manifestaciones cutáneas, que se presentan en cuatro etapas o estadios: vesicular (vesículas inflamatorias perinatales), verrucoso (placas verrugosas), pigmentado (hiperpigmentación) y atrófico (cicatrización dérmica). Otras manifestaciones pueden ser el retraso en la dentición, la ausencia de dientes o dientes con morfología cónica. Además, también pueden presentar oncodistrofia, alopecia y anomalías oftalmológicas. Las anomalías del sistema nervioso central (SNC) pueden incluir microcefalia e ictus neonatal, que resultan en crisis y discapacidad neurocognitiva y motora. La mayoría de los pacientes (>60%) es neurológicamente normal. La IP es una enfermedad causada por mutaciones en el gen *IKBK* (*Xq28*) (#OMIM: 300248), antes conocido como NEMO. Esta mutación produce una falta de activación de NF-kappa-B, que tiene como consecuencia una susceptibilidad extrema a la apoptosis, que lleva a la

muerte embrionaria en los varones y explica la inactivación de X tan sesgada que se observa en las mujeres con IP. Entre el 10-25 % de los casos está causada por mutaciones familiares, siendo en la mayoría de los casos (>50 %) debidas a mutaciones de *novo*. Tiene una prevalencia al nacimiento de 1/143.000 (Scheuerle, 2019; Kniffin, 2020).

Caso clínico

Paciente portadora de una delección de los exones 4-10 (ambos incluidos) en el gen *IKBKG* (Xq28) (#OMIM: 300248), relacionado con la aparición de IP. Esta enfermedad tiene un patrón de herencia dominante ligada al cromosoma X, por tanto la paciente tiene un riesgo de transmisión a su descendencia del 50% en cada embarazo, con diferente implicación en el caso de varones y mujeres. En varones, la mutación es letal durante el desarrollo del feto, por lo que produciría un aborto espontáneo. Mientras que en mujeres, la enfermedad tiene expresividad variable. Por lo tanto, teniendo en cuenta que la mayoría de los niños afectados no nacerían, las probabilidades de la descendencia al nacimiento serían de 33 % de niñas no afectas, 33 % de niñas afectas y 33 % de niños no afectos.

5.9.2. ENFERMEDADES AUTOSÓMICAS

5.9.2.1. AUTOSÓMICAS RECESIVAS

FIBROSIS QUÍSTICA (FQ) (#OMIM: 219700; ORPHA: 586)

Descripción clínica

Trastorno genético multisistémico caracterizado por la producción de sudor con un alto contenido en sales y de secreciones mucosas con una viscosidad elevada. Afecta principalmente a los pulmones y sistema digestivo. Los síntomas clínicos pueden provocar infección pulmonar crónica con aumento de secreciones respiratorias, problemas digestivos como diarreas voluminosas, retraso del crecimiento, falta de peso y elevación de cloro en sudor. La esterilidad masculina también es frecuente en los pacientes con FQ debido a que presentan azoospermia obstructiva, ausencia de espermatozoides en el eyaculado. Este trastorno está causado por mutaciones en el gen *CFTR* (7q3) (#OMIM: 602421), gen regulador de la conductancia transmembrana de la FQ, que codifica la proteína CFTR, glucoproteína transportadora de membrana dependiente del AMPc, que se encarga del transporte de iones de cloro en la células epiteliales. Además, también puede regular la actividad de otros canales iónicos. La FQ es el trastorno genético más común en los caucásicos, siendo en Europa,

la prevalencia media al nacimiento es de 1/5.000 y la prevalencia media en la población general de 1/9.000 (Liou, 2020; Hamosh, 2023; Lige, 2022).

Se han identificado 2106 variantes en este gen, 382 causantes de la FQ, las cuales se clasifican en 6 clases, dependiendo de la consecuencia de la mutación del gen en la síntesis, estructura o función de la proteína (Andrade & Pizarro, 2022).

Caso clínico

Mujer sana portadora de una mutación en el gen *CFTR* (#OMIM: 602421), cuya pareja, también sana, es portadora de una mutación distinta pero el mismo gen, *CFTR* (#OMIM: 602421). La combinación de ambas mutaciones en heterocigosis está asociada a la fibrosis quística, trastorno que padece su hijo. La herencia de la fibrosis quística sigue un patrón autosómico recesivo, lo que significa que una persona debe heredar una copia mutada del gen de cada uno de sus progenitores para desarrollar la enfermedad, tienen por tanto, un 25% de riesgo de tener un hijo/a afecto. Los portadores tienen una copia normal y una copia mutada del gen y por lo general no presentan síntomas.

BETA TALASEMIA (BT) (#OMIM: 603902 613985; ORPHA: 848)

Descripción clínica

Se caracteriza por la deficiencia (Beta+) o ausencia (Beta0) de la síntesis de las cadenas beta globina de la hemoglobina (Hb). Esta afección influye en la capacidad de transportar oxígeno a los tejidos y puede tener como consecuencia la anemia. Los síntomas pueden ser fatiga, debilidad, palidez, retraso en el crecimiento, etc. Hay descritas tres formas principales: 1. BT minor: asintomática (forma heterocigota), 2. BT intermedia: anemia menos grave y 3. BT mayor: anemia grave (forma homocigota) que requiere transfusiones periódicas. Este trastorno sanguíneo está causado por mutaciones en el gen *HBB* (#OMIM: 141900) (11p15) y afectan a la síntesis normal de hemoglobina, proteína encargada del transporte de oxígeno. La prevalencia es desconocida, pero tiene una incidencia al nacimiento de 1/100.000 (Thuret, 2011).

Caso clínico

Pareja portadora heterocigota de BT minor. Es necesaria la combinación de 2 variantes patogénicas, bialélicas, para desarrollar la enfermedad (BT mayor). En estos casos, cuando los dos miembros de la pareja son portadores de la enfermedad, existe un riesgo del 25% de tener un hijo/a con BT mayor.

DISTROFIA MUSCULAR CONGÉNITA MEROSINA NEGATIVA (MDC1A) (#OMIM: 607855; ORPHA: 258)

Descripción clínica

La distrofia muscular congénita por deficiencia de merosina forma parte del grupo de enfermedades neuromusculares. Se caracteriza por debilidad muscular evidente al nacimiento o en durante los 6 primeros meses de vida. Los pacientes muestran hipotonía, dificultad para succionar y llorar y retraso en el desarrollo motor; la mayoría nunca consigue la deambulación de forma independiente. También pueden presentar problemas respiratorios y alimentarios. En la mayoría de los casos los pacientes presentan un desarrollo intelectual normal, manifestando crisis epilépticas sólo en raras ocasiones. La DMC1A está causado por mutaciones en el gen *LAMA2* (6q22.33) (#OMIM: 156225), que codifica para la cadena alfa2 de la laminina o merosina, proteína esencial para la integridad de la membrana muscular. Tiene una prevalencia de 1-9 / 1 000 000 (Fardeau, 2009).

Caso clínico

Pareja consanguínea portadora mutaciones en el gen *LAMA2* (#OMIM: 156225), con un hijo previo afecto de MDC1A. Este trastorno genético sigue un patrón de herencia autosómico recesivo, por lo que la pareja (portadora ambos miembros de la mutación) tienen un 25% de riesgo de tener un hijo/a afecto.

HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA POR DEFICIENCIA DE 21-HIDROXILASA (#OMIM: 201910; ORPHA: 418)

Descripción clínica

La hiperplasia suprarrenal congénita (HSC) por deficiencia de 21-hidroxilasa, es la forma más frecuente de HSC. Se trata un trastorno genético hereditario que afecta la producción de hormonas corticosteroides en las glándulas suprarrenales. La 21-hidroxilasa es una enzima clave en la síntesis de cortisol y aldosterona. Los síntomas de la HSC por deficiencia de 21-hidroxilasa varían según la gravedad y pueden incluir virilización en mujeres afectadas, ambigüedad genital en recién nacidos, deshidratación, y trastornos electrolíticos. Las mutaciones en el gen *CYP21A2* (6p21.3) (#OMIM: 613815), que codifica la 21-hidroxilasa, producen una disminución o ausencia de la actividad enzimática. Esto conduce a la acumulación de precursores hormonales y a la disminución de la síntesis de cortisol y aldosterona, lo que puede llevar a un exceso de producción de andrógenos. Tiene una prevalencia de 1/10.000 y la incidencia varía entre 1/5.000 y 1/15.000 (Leger, 2022).

Caso clínico

Paciente portadora de HSC mutación en heterocigosis en gen *CYP21A2* (#OMIM: 613815) y pareja portadora de HSC por déficit de 21-deshidroxilada forma clásica mutación en el gen *CYP21A*. La HSC es una enfermedad genética de herencia autosómica recesiva, al ser ambos miembros de la pareja portadores existe un riesgo de descendencia afectada del 25%.

FENILCETONURIA (PKU) (#OMIM: 261600; ORPHA: 716)

Descripción clínica

La PKU es trastorno genético que afecta al metabolismo de los aminoácidos. Está causada por mutaciones en el gen *PAH* (12q22-q24.2) (#OMIM: 612349) que codifica la fenilalanina hidroxilasa, enzima que transforma la fenilalanina en tirosina, su ausencia o deficiencia provoca la acumulación de fenilalanina en sangre y cerebro. Los síntomas comienzan a los pocos meses del nacimiento y pueden incluir; retraso psicomotor progresivo, retraso del crecimiento, microcefalia, crisis epilépticas, temblores, eccema, vómitos y olor a moho. Sin tratamiento puede conducir a discapacidad intelectual, trastornos de la conducta y problemas motores. Tiene una prevalencia de 1-9/100.000 (Blau, 2020).

Caso clínico

Pacientes portadores de Enfermedad Charcot-Marie-Tooth y Fenilcetonuria. La Fenilcetonuria tiene una transmisión autosómica recesiva, por lo que al ser ambos individuos portadores de una variante patogénica causante de la enfermedad existe un riesgo del 25% en cada embarazo de tener un hijo/a afecto/a.

DEFICIENCIA SISTÉMICA PRIMARIA DE CARNITINA (SPCD) (#OMIM: 212140; ORPHA: 158)

Descripción clínica

La deficiencia sistémica primaria de carnitina es un trastorno hereditario raro del ciclo y transporte de la carnitina. Está causada por mutaciones en el gen *SLC22A5* (5q23.3) (#OMIM: 603377), que codifica la proteína transportadora de carnitina OCTN2. El inicio de esta enfermedad normalmente se produce en la infancia, entre los 3 meses a los 2 años de vida. Los síntomas que pueden presentar incluyen debilidad muscular, hipotonía, hipoglucemia hipocetósica, insuficiencia cardíaca y otros problemas metabólicos. La prevalencia en Europa se estima en 1/20.000-1/70.000, variando entre distintas etnias y zonas (Croft & Olpin, 2019).

Caso clínico

Pacientes con hija afectada de una mutación patogénica en homocigosis en el gen *SLC22A5* (#OMIM: 603377), con confirmación de la presencia en heterocigosis de la misma mutación en ambos progenitores. Esta enfermedad tiene un patrón de herencia autosómico recesivo, por lo que al ser ambos miembros de la pareja portadores, existe un riesgo de descendencia afectada del 25%. La probabilidad de portadores sanos es del 50% y la probabilidad de hijo sano no portador es del 25%.

SÍNDROME DE PORETTI-BOLTSHAUSER (#OMIM: 615960; ORPHA: 370022)

Descripción clínica

El síndrome de Poretti-Boltshauser, es un trastorno hereditario neuro-oftalmológico. Se caracteriza por displasia cerebelosa, hipoplasia del vermis cerebeloso, quistes cerebelosos, miopía, distrofia retiniana variable y anomalías del movimiento ocular. Los pacientes suelen tener un retraso en el desarrollo motor y, frecuentemente, un retraso en el habla. La función cognitiva puede variar desde normal hasta discapacidad intelectual. Este trastorno está causado por mutaciones en el gen *LAMA1* (18p11) (#OMIM: 150310) (Kniffin, 2014c).

Caso clínico

Pareja no consanguínea, portadora de una mutación en el gen *LAMA1* (#OMIM: 150310), con 2 hijos afectados del Síndrome de Poretti-Boltshauser. El patrón de herencia de esta enfermedad es autosómico recesivo, esta pareja portadora, tiene un riesgo de descendencia afectada del 25%. La probabilidad de portadores sanos es del 50% y la probabilidad de hijo sano no portador es del 25%.

MUCOPOLISACARIDOSIS TIPO 1 (MPS1) (#OMIM: 607015; ORPHA: 579)

Descripción clínica

La MPS1 es una enfermedad por almacenamiento lisosomal del grupo de las mucopolisacaridosis. Existen 3 variantes en función de su gravedad: S. de Hurler (grave) (#OMIM: 2607014) (MPS1-H), S. Scheie (leve) (#OMIM: 607016) (MPS 1-S) y S. Hurler-Scheie (intermedio) (#OMIM: 607015) (MPS 1H/S). Esta enfermedad hereditaria está causada por mutaciones en el gen *IDUA* (4p16.3) (#OMIM: 252800), que provocan un déficit de la enzima (MPS1-H) o el funcionamiento parcial de la misma (MPS 1-S). Esta enzima está implicada en la degradación de glucosaminoglicanos (GAG) o mucopolisacáricos provocando interferencia con la función de las células, los tejidos y los órganos. El inicio de la

enfermedad se produce entre los 6-8 meses después del nacimiento. Tiene una prevalencia de 1/100.000 (Beck, 2011; Vernon, 2022b).

Caso clínico

Pareja no consanguínea, portadores asintomáticos de una mutación heterocigota en gen *IDUA* (4p16.3) (#OMIM: 252800), con hija afectada de MPS1 por mutación homocigota en gen *IDUA* (4p16.3) (#OMIM: 252800), forma Hurler-Scheie. Al tratarse de una enfermedad autosómica recesiva, y al ser ambos miembros de la pareja portadores, existe un riesgo de descendencia afectada del 25%, un 50% de descendencia portadora asintomática y un 25% de descendencia sana.

SÍNDROME DE NEU-LAXOVA (SNL) (#OMIM: 256520; ORPHA: 2671)

Descripción clínica

Síndrome de malformaciones múltiples con mal pronóstico. Se caracteriza por retraso del crecimiento intrauterino, microcefalia grave y dismorfismo facial. Además, presentan defectos graves del SNC como lisencefalia, cerebelo y tronco encefálico hipoplásicos, ventrículos cerebrales grandes o calcificaciones intracerebrales. Anomalía de Dandy-Walker o agenesia del cuerpo calloso. Los rasgos faciales también son característicos con orejas malformadas, nariz aplanada y labios con expresión boquiabierta. El SNL está causado por una mutación homocigótica en el gen *PHGDG* (1p12) (#OMIM: 606879). Tiene una prevalencia menor de 1/1.000.000 y únicamente se han descrito unos 60 casos de este trastorno (Verloes, 2006).

Caso clínico

Pareja consanguínea, con antecedente de muerte intrauterina y 2 ILE por anomalías congénitas múltiples (microcefalia, malformaciones del sistema nervioso central, miembros en flexión y pielectasia bilateral). Tras el estudio molecular en las muestras de los fetos se detecta una mutación de significado incierto en el gen *PHGDG* (#OMIM: 606879) en homocigosis. Los padres son portadores sanos de la variante de significado incierto en el gen *PHGDG* (#OMIM: 606879) en heterocigosis asociado a SNL, al ser una enfermedad genética con herencia autosómica recesiva, la probabilidad de recurrencia en la descendencia es del 25%.

DEFICIENCIA DE ADENILSUCCINATO LIASA (#OMIM: 103050; ORPHA: 46)

Descripción clínica

Trastorno genético del metabolismo de las purinas. Está causado por mutaciones en el gen *ADSL* (22q13.1) (#OMIM: 608222) que causan un defecto enzimático en la vía de síntesis *de novo* de purinas. La deficiencia de ADSL provoca la acumulación de intermediarios tóxicos en los fluidos corporales. Hay tres formas fenotípicas principales del trastorno: la forma neonatal mortal, grave (tipo I) y la forma leve a moderada (tipo II). El inicio de la enfermedad suele darse entre el nacimiento y la infancia temprana. Este trastorno se caracteriza por discapacidad intelectual, retraso y/o regresión psicomotora, convulsiones y rasgos autistas. La prevalencia e incidencia son desconocidas (Jurecka & Tyłki-Szymanska, 2015).

Caso clínico

Pareja no consanguínea, portadora sana, con 1 hijo, fallecido, afecto de dos variantes alélicas nuevas en el gen *ADSL* (22q13.1) (#OMIM: 608222) causantes de la Deficiencia de adenilsuccinato liasa tipo I (forma grave), trastorno con un patrón de herencia autosómico recesivo con un riesgo de descendencia afectada del 25%.

DEFICIENCIA DE FOSFOMANOMUTASA (CDG 1a) (#OMIM: 212065; ORPHA: 79318)

Descripción clínica

La CDG1a es un trastorno genético multisistémico caracterizado por una glicosilación defectuosa. Suele presentarse como un trastorno grave en la etapa neonatal. Puede presentar encefalopatía grave con hipotonía axial, movimientos oculares anormales y retraso psicomotor, así como neuropatía periférica, hipoplasia cerebelosa y retinitis pigmentosa. Los pacientes muestran una distribución peculiar de la grasa subcutánea, retracción del pezón e hipogonadismo. Existe una letalidad del 20% en el primer año de vida por infecciones graves, insuficiencia hepática o miocardiopatía. La CDG1a está causada por mutaciones en el gen *PMM2* (16p13) (#OMIM: 601785), que codifica la fosfomanomutasa-2 (Vernon, 2022c).

Caso clínico

Pareja portadores sanos, heterocigotos, de variantes patogénicas en el gen *PMM2* (16p13) (#OMIM: 601785), con hijo afecto del Defecto congénito de Glicosilación: Deficiencia de fosfomanomutasa (CDG), y con una interrupción legal del embarazo (ILE) con el mismo diagnóstico fetal. Al tratarse de una enfermedad autosómica recesiva, y al ser ambos miembros de la pareja

portadores, existe un riesgo de descendencia afecta del 25%, una probabilidad de descendencia portadora asintomática del 50% y un 25% de descendencia sana.

ATROFIA MUSCULAR ESPINAL PROXIMAL TIPO I (AME) (#OMIM: 253300; ORPHA: 83330)

Descripción clínica

La AME tipo 1 es un trastorno de aparición neonatal caracterizado por debilidad muscular que afecta mayoritariamente a la parte proximal de las extremidades de forma grave y simétrica, pudiendo progresar hasta afectar a la extremidad completa. Los pacientes suelen tener problemas de succión y deglución, con dificultades para alimentarse. Está causada por mutaciones o deleciones en el gen *SMM1* (#OMIM: 60354), que provocan la degeneración y pérdida de motoneuronas inferiores de la médula espinal y de los núcleos del tronco encefálico. La AME tiene un prevalencia estimada de 1/12.000, siendo aproximadamente el 60% de tipo 1 (Mercuri, 2021).

Caso clínico

Pareja no consanguínea, él es portador de AME. Ella también es portadora, con una peculiaridad, en un cromosoma no tiene copia del gen *SMM1* (#OMIM: 60354), pero tiene 2 copias del gen *SMN1* (#OMIM: 60354) en el otro cromosoma. La pareja tiene un hijo afecto de AME por deleción homocigótica en el gen *SMN1* (#OMIM: 60354). El patrón de herencia de la AME es autosómico recesivo, por tanto la pareja tiene un riesgo de descendencia afecta del 25%, 50% de portadores asintomáticos y un 25% de hijos sanos.

MIOPATÍA NEMALÍNICA TÍPICA (#OMIM: 256030; ORPHA: 171436)

Descripción clínica

La Miopatía Nemalínica (NM) típica aparece en el periodo neonatal caracterizándose por debilidad muscular facial y esquelética, pudiendo presentar problemas respiratorios leves. La NM típica está causada por variantes patogénicas en diversos genes: *ACTA1* (#OMIM: 102610), *NEB* (#OMIM: 161650) o *TPM2* (#OMIM: 190990). Tiene una incidencia anual de la estimada de 1/50.000 nacidos vivos, prestando esta forma aproximadamente el 50% de todos los casos de NM (McKusick & Kniffin, 2021; Ryan, 2011).

Caso clínico

Pareja portadora en heterocigosis de variantes patogénicas en el gen *NEB* (2q22) (#OMIM: 161650), con hija afecta de miopatía nemalínica típica (forma leve). En este caso clínico, el trastorno tiene un patrón de herencia autosómico recesivo, teniendo una probabilidad de recurrencia de descendencia afecta del 25%.

5.9.2.2. AUTOSÓMICAS DOMINANTES

NEUROFIBROMATOSIS TIPO 1 (NF1) (#OMIM: 162200; ORPHA: 636)

Descripción clínica

La Neurofibromatosis es un trastorno neurocutáneo clínicamente variable, caracterizado por manchas de color café con leche en la piel, nódulos de Lisch en el iris, pecas axilares o inguinales y múltiples neurofibromas. Está causada por mutaciones en el gen supresor de tumores neurofibromina 1 *NF1* (17q11.2) (#OMIM: 613113) y sólo en el 5% de los casos por la microdelección 17q11. Tiene una prevalencia de 1/3.000 nacidos vivos (Legius, 2014).

Caso clínico

Paciente portadora de una variante patogénica en heterocigosis en el gen *NF1* (#OMIM: 613113), afecta de Neurofibromatosis *de novo* (padres no afectados). La NF tiene un patrón de herencia autosómico dominante, por lo que el riesgo de descendencia afecta es del 50% en cada embarazo, con independencia del sexo. Este trastorno tiene una penetrancia del 100% pero las manifestaciones de la enfermedad varían (Legius, 2014).

CÁNCER DE MAMA HEREDITARIO (#OMIM: 114480; ORPHA: 227535)

Descripción clínica

Tumor mamario maligno asociado a mutaciones en los genes *BCRA1* (17q21.31) (#OMIM: 113705), *BCRA2* (13q13.1) (#OMIM: 600185) o *ATM* (#OMIM: 607585), estas mutaciones además, incrementan el riesgo de otras neoplasias: cáncer de ovarios, próstata, páncreas o melanoma. *BCRA1* (#OMIM: 113705), *BCRA2* (#OMIM: 600185) y *ATM* (#OMIM: 607585) desempeñan funciones fundamentales en la reparación del ADN, el control del ciclo celular y el mantenimiento de la estabilidad genómica (Lige, 2020).

Caso clínico 1

Pareja donde el varón es portador de una mutación en el exón 5 del gen *BRCA1* (#OMIM: 113705) de origen materno. Madre afecta de cáncer de útero y colón y hermana afecta de cáncer de páncreas, ambas con la misma mutación que el paciente. El patrón de herencia de este trastorno es autosómico dominante, por lo tanto, los portadores de mutación presentan un riesgo de transmisión a su descendencia del 50% en cada embarazo, independientemente del sexo.

Caso clínico 2

Paciente portadora de una variante patogénica, de origen materno, en heterocigosis en el gen *ATM* (#OMIM: 607585) asociado a Predisposición a cáncer de mama y páncreas y a Ataxia Telangiectasia (#OMIM 208900), con patrón de herencia autosómico recesivo. El paciente no es portador de Ataxia Telangiectasia, por lo que basándonos en la herencia autosómica dominante de la Predisposición a cáncer, la descendencia de esta pareja tendría un riesgo de padecer Predisposición a cáncer del 50%, con independencia del sexo.

ENFERMEDAD DE HUNTINGTON (EH) (#OMIM: 143100; ORPHA: 399)

Descripción clínica

Enfermedad neurodegenerativa del sistema nervioso central causada por una expansión de repeticiones del triplete CAG en el brazo corto del cromosoma 4 (4p16.3) en el gen *HTT* (#OMIM: 613004). Se caracteriza por movimientos coreicos involuntarios, trastornos conductuales y psiquiátricos, y demencia. La edad de aparición suele estar entre los 30-50 años. Tiene una prevalencia en la población caucásica de 1/10.000-1/20.000 (Roos, 2011)

Caso clínico

Paciente portadora de una expansión patológica del triplete CAG en el gen *HTT* (#OMIM: 613004), de origen paterno, responsable de la aparición de la Enfermedad de Huntington. La EH se transmite de forma autosómica dominante, por lo que existe un riesgo de descendencia afecta del 50% en cada embarazo.

NEOPLASIA ENDOCRINA MÚLTIPLE TIPO 1 (MEN 1) (#OMIM: 131100; ORPHA:652)

Descripción clínica

La neoplasia endocrina múltiple es un trastorno que se caracteriza por combinaciones variables de tumores de paratiroides, islotes pancreáticos, células endocrinas duodenales e hipófisis anterior. El MEN1 se debe a variantes patogénicas germinales inactivadoras en heterocigosis en el gen *MEN1* (11q13) (#OMIM: 613733), que codifica la proteína menina, un supresor tumoral. Los tumores pueden aparecer a cualquier edad, aunque el 95% de los pacientes manifiestan síntomas clínicos antes de los 50 años, teniendo una penetrancia del 94% a los 50 años. Tiene una prevalencia estimada entre 1/10.000 y 1/30.000. (Brandi et al., 2020b; Kniffin, 2008).

Caso clínico

Paciente portador de una variante patogénica en el exón 10 del gen *MEN1* (#OMIM: 613733) responsable del MEN1. Trastorno autosómico dominante, por lo que la pareja tiene un riesgo de descendencia afectada del 50%, independientemente del sexo.

NEOPLASIA ENDOCRINA MÚLTIPLE TIPO 2 (MEN 2A) (#OMIM: 171400; ORPHA: 653)

Descripción clínica

La neoplasia endocrina múltiple tipo 2A (MEN 2A), es un síndrome de cáncer poliglandular causado por una mutación en heterocigosis, que activa el protooncogén *RET* (10q11.2) (#OMIM: 164761) en la línea germinal, que codifica el receptor de membrana RET de la tirosina quinasa. Este trastorno engloba cuatro subvariantes: 1) NEM2A clásica, con carcinoma medular de tiroides (CMT) y feocromocitoma (FCC), 2) MEN2 con liquen amiloide cutáneo (LAC), 3) NEM2A con enfermedad de Hirschsprung y 4) carcinoma de tiroides medular familiar (CMTF). El conjunto de todas las variantes de MEN2 tienen una prevalencia de 1/35.000 (Brandi et al., 2020; Charis, 2019).

Caso clínico

Paciente portadora de mutación familiar en heterocigosis en el exón 10 del gen *RET* (#OMIM: 164761). Además, la paciente es portadora de 2 mutaciones patogénicas en el exón 6, del gen *NR2E3* (#OMIM: 604485) asociado a Síndrome de conos S, autosómico recesivo. Se realiza despistaje de portadores a su pareja (Secuenciación/MLPA gen *NR2E3*) *FJD* y no se identifican variantes patogénicas en este gen, por lo que no está indicado realizar estudios preimplantacionales para esta afección. Por otro lado, MEN 2A se hereda de manera autosómica dominante, y para esta afección los pacientes

presentan un riesgo de transmisión para su descendencia del 50% en cada embarazo, independientemente del sexo y sí está indicado realizar estudio preimplantacionales.

ENFERMEDAD CHARCOT MARIE TOOTH TIPO 1 (CMT1) (#OMIM: 118220; ORPHA: 65753)

Descripción clínica

La CMTA1 es un grupo de neuropatías periféricas desmielinizantes. Se caracterizan por debilidad y atrofia distal, privación sensorial, deformaciones del pie y una velocidad de conducción nerviosa disminuida. La CMTA1A es la forma más común de Enfermedad de Charcot Marie Tooth, puede estar causada por pequeñas duplicaciones o por mutaciones puntuales en el gen *PMP22* (17p12) (#OMIM: 601097). La edad de aparición se da desde la infancia hasta la edad adulta. La prevalencia de la CMT1 está entre 1/7.000 y 1/5.000, siendo el grupo CMT1A un 70% de los casos (Pareyson & Pisciotta, 2016).

Caso clínico 1

Paciente portadora de una duplicación en 17p11.2 en el gen *PMP22* (#OMIM: 601097) relacionado con el desarrollo de la CMT1A de origen materno. Esta enfermedad tiene un patrón de herencia autosómico dominante, por lo que tiene un riesgo de transmisión a la descendencia del 50% en cada embarazo.

Caso clínico 2

Pacientes con un hijo afecto de Enfermedad Charcot-Marie-Tooth y Fenilcentonuria. La Enfermedad Charcot-Marie-Tooth tiene un patrón de transmisión autosómica dominante, para esta afección los pacientes presentan un riesgo de transmisión a su descendencia del 50% en cada embarazo, independientemente del sexo.

ANEMIA DE BLACKFAN-DIAMOND (ADB) (#OMIM: 612561; ORPHA: 124)

Descripción clínica

La ADB es una aplasia hereditaria de los eritrocitos que suele aparecer en el primer año de vida. Las características principales son anemia macrocítica normocrómica, reticulocitopenia y progenitores eritroides casi ausentes en la médula ósea (Kniffin, 2014a). Esta anemia congénita causada por mutaciones en genes que codifican para proteínas ribosómicas o de la subunidad pequeña (*RPS7*,

RPS17, RPS19, RPS24) o grande (*RPL5, RPL11, RPL35A*) del ribosoma. Tiene una incidencia de 1/150.000 y una prevalencia desconocida (Leblanc, 2009).

Caso clínico

Paciente portador de una variante patogénica en el gen *RPL5* (#OMIM: 603634) relacionada con la anemia de Blackfan-Diamond, con un patrón de herencia autosómico dominante, de forma que, los portadores de esta variante patogénica presentan un riesgo de transmisión a su descendencia del 50% en cada embarazo, independientemente del sexo.

DISTROFIA FACIO-ESCÁPULO-HUMERAL (DFEH) TIPO1 (#OMIM: 158900; ORPHA: 269)

Descripción clínica

La distrofia muscular Facio-escapulo-humeral es un trastorno progresivo del músculo esquelético con un fenotipo muy variable. En la mayoría de los casos comienza en la edad adulta, aunque alrededor del 10% muestra síntomas antes de los 5 años. En general, en un principio la enfermedad afecta la parte superior del cuerpo, incluida la cara y las escápulas, continuando con debilidad en los dorsiflexores del pie y la cintura de la cadera. Las características típicas son una asimetría en la afectación muscular de lado a lado y la preservación de los músculos extraoculares y respiratorios bulbares. Se ha identificado dos subtipos genéticos de DFEH: la DFEH1 clásica, asociada con la contracción de la repetición macrosatélite D4Z4 en la región subtelomérica del cromosoma 4q35 y la DFEH2 asociada a mutaciones de *SMCHD1* (18p11.32) (#OMIM: 614982). La DFEH tiene una expresividad clínica variable incluso dentro de la misma familia, con una penetrancia incompleta y aproximadamente el 30% de portadores no manifiesta la enfermedad. Tiene una prevalencia aproximada de 1/8.000-20.000 (Sacconi, 2020; Vernon, 2023).

Caso clínico

Paciente portador de un alelo deletado en la región D4Z4, de origen paterno, responsable de la Distrofia Facio-escapulo-humeral tipo I. La FSHD1 es una enfermedad genética con un patrón de herencia autosómico dominante, por lo que el paciente tiene un riesgo de transmisión a su descendencia del 50% en cada embarazo, independientemente del sexo.

PARAPLEJIA ESPÁSTICA FAMILIAR TIPO 4 (SPG4) (#OMIM: 182601)

Descripción clínica

La SPG4 pertenece a un grupo de trastornos hereditarios clínica y genéticamente múltiple, caracterizados principalmente por espasticidad y debilidad progresiva de las extremidades inferiores. El SPG se clasifica según el modo de herencia (autosómico dominante, autosómico recesivo y ligado al cromosoma X). El SPG4 es la forma más común de SPG, con un patrón de herencia autosómico dominante y engloba hasta el 45% de los casos. El SPG4 está causado por una mutación heterocigótica en el gen *SPAST* (#OMIM: 604277) en el cromosoma 2p22. Tiene una prevalencia desconocida (Kniffin, 2014b).

Caso clínico

Paciente portador heterocigoto de una variante patogénica en el gen *SPAST* (#OMIM: 604277) responsable de la aparición de Paraplejia Espástica Familiar tipo 4, de origen materno. Trastorno con herencia autosómica dominante, con un 50% de riesgo de descendencia afecta, con independencia del sexo.

CAVERNOMATOSIS CEREBRAL MÚLTIPLE (CCM) (#OMIM: 116860; ORPHA: 221061)

Descripción clínica

La cavernomatosis cerebral múltiple son malformaciones vasculares, caracterizadas por densos racimos de capilares dilatados de forma irregular, que pueden ser asintomáticas o pueden causar manifestaciones neurológicas variables tales como crisis epilépticas (40-70%), cefaleas inespecíficas (10-30%), déficits neurológicos focales transitorios o progresivos (35-50%) y hemorragias cerebrales (41%). La edad de inicio suele ser entre los 20 y los 30 años, aunque las manifestaciones clínicas pueden aparecer a cualquier edad. Se han encontrado tres genes causantes del CCM familiar: el gen *KRIT1* (7q21) (#OMIM: 604214), el gen *CCM2* (7p13) (#OMIM: 607929) y el gen *PDCD10* (3q26.1) (#OMIM: 609118). Tiene una prevalencia entre 1/200 y 1/1.000 individuos (Hamosh, 2019; Tournier-Lasserre, 2019).

Caso clínico

Paciente portadora de una variante patogénica en gen *KRIT1* (7q21) (#OMIM: 604214), relacionada con la aparición de la cavernomatosis cerebral familiar con pareja portadora para Fibrosis quística. Tras realizar el estudio completo del gen *CFTR* en la paciente, no se identifican variantes patogénicas probablemente patogénicas relacionadas con la FQ. La CCM es una enfermedad de

transmisión autosómica dominante con penetrancia incompleta por lo que la paciente tiene un riesgo de transmisión a su descendencia del 50% en cada embarazo, con independencia del sexo.

SÍNDROME DE LYNCH (ORPHA: 144).

Descripción clínica

El Síndrome de Lynch es un trastorno hereditario de predisposición al cáncer, causado por variantes patogénicas de la línea germinal que afecta a los genes de corrección de errores (MMR). Dependiendo del gen implicado, con mayor frecuencia, se encuentran: gen *MLH1* (#OMIM: 609310), gen *MSH2* (#OMIM: 120435), gen *MLH3* (#OMIM: 614385), gen *MSH6* (#OMIM: 614350), gen *PMS2* (#OMIM: 614337), gen *EPCAM* (#OMIM: 613244) y gen *TGFBR2* (#OMIM: 614331), causantes del cáncer colorrectal hereditario sin poliposis. La prevalencia de variantes patogénicas en la línea germinal de los genes MMR es de aproximadamente 1:279, variando la incidencia dependiendo del sexo, población y tipo de cáncer (Aretz et al., 2023).

Caso clínico

Paciente portador asintomático de una mutación familiar, de origen paterno, en el exón 4 del gen *MSH6* (#OMIM: 614350). Este trastorno tiene un patrón de herencia autosómico dominante con un riesgo de transmisión a su descendencia del 50% por embarazo, con independencia del sexo.

RETINOBLASTOMA (RB) (#OMIM: 180200; ORPHA: 790)

Descripción clínica

El Retinoblastoma es una enfermedad tumoral ocular causada por mutaciones inactivantes en ambos alelos de *RB1* (13q14) (#OMIM: 614041) con una alta penetrancia (90%) para la mayoría de las mutaciones. En la mayoría de los casos la edad de aparición es temprana, por debajo de los tres años. Los primeros signos clínicos son leucocoria y estrabismo. Normalmente es indoloro y los niños no acusan la discapacidad visual y la enfermedad progresa hacia la pérdida de visión en el ojo afectado. En Europa el RB tiene una incidencia de 1/ 15-20.000 (Doz, 2019).

Caso clínico

Paciente portadora de una mutación en mosaico, postcigótica, con hija afecta de la misma variante patogénica en heterocigosis, situada en el exón 3 del gen *RB1* (#OMIM: 614041). Esta variante

patogénica es causante del Retinoblastoma bilateral grado E. Los pacientes con RB hereditario heredan la mutación en *RB1* (#OMIM: 614041) de un progenitor y, por lo tanto, la predisposición a esta enfermedad se transmite de manera autosómica dominante. Aunque, en más del 75% de los pacientes el RB se debe una mutación *de novo* postcigótica, como en este caso clínico. (Doz, 2019). Además, al tratarse de una mutación en mosaico, el riesgo de transmisión de descendencia afecta podría ser inferior al 50%, aunque no puede determinarse de forma exacta, por no ser posible cuantificar el porcentaje de mosaicismo somático que afecta también a células germinales.

SÍNDROME DE MARFAN (MFS) (#OMIM: 154700; ORPHA: 558)

Descripción clínica

El Síndrome de Marfan es un trastorno hereditario del tejido conectivo que proporciona soporte estructural a diversos sistemas y órganos del cuerpo, como el esquelético, ocular, cardiovascular y pulmonar. Está causado por mutaciones en el gen *FBN1* (15q21) (#OMIM: 134797) que codifica la proteína fibrilina-1, proteína esencial de este tejido. Los síntomas pueden aparecer a cualquier edad, caracterizándose por: 1. Afección cardiovascular, con dilatación progresiva de la aorta e insuficiencia mitral, 2. Afección esquelética con dilicostenomelia, talla grande, aracnodactilia, hiper movilidad articular, deformaciones escolióticas, protrusión del acetábulo, deformidad torácica, dolicocefalia del eje anteroposterior, micrognatismo o hipoplasia malar y 3. Afección oftalmológica, miopía axial. La prevalencia es de 1/5.000 y de igual forma para hombres y mujeres (Jondeau, 2010).

Caso clínico

Paciente con mutación patogénica identificada en gen *FBN1* (#OMIM: 134797) y anomalía cromosómica estructural por inversión pericéntrica en el cromosoma 14, aparentemente equilibrada. El patrón de herencia del MFS es autosómico dominante, por lo que un riesgo de transmisión de la mutación responsable del MFS en cada uno de sus descendientes es del 50%, independiente del sexo.

PARAMIOTONÍA CONGÉNITA DE VON EULENBURG (#OMIM: 168300; ORPHA: 684)

Descripción clínica

La Paramiotonía congénita de Von Eulenburg es un trastorno genético causado por mutaciones en el gen *SCN4A* (17q23.3) (#OMIM: 603967) que codifica la subunidad alfa del canal de sodio dependiente de voltaje del músculo esquelético. Los síntomas suelen aparecer en la primera década

de la vida y cursan con rigidez muscular episódica que empeora con el ejercicio físico y con el frío. Tiene una prevalencia en Europa inferior a 1/100.000 (Vicart & Villar, 2023).

Caso clínico

Paciente portadora de variante *missense* probablemente patogénica en el gen *SCN4A* (#OMIM: 603967) responsable de la aparición de Parmiotonía Congénita de Von Eulenburg. Esta enfermedad se transmite de manera autosómica dominante por lo que el riesgo para la descendencia de la paciente es de 50% independientemente del sexo.

POLIQUISTOSIS RENAL (#OMIM: 173900 613095; ORPHA: 730)

Descripción clínica

La poliquistosis renal es una disfunción renal hereditaria. Está causada por una mutación genética en los genes *PKD1* (#OMIM: 601313) o *PKD2* (#OMIM: 173910). Estos genes están involucrados en la producción de proteínas que regulan el crecimiento y la función de las células renales. Se produce un crecimiento anormal de los túbulos renales, formando quistes que pueden afectar a la función renal. Los síntomas clínicos, incluyen hipertensión, distensión y dolor abdominal, hematuria e infecciones del tracto urinario, y de forma progresiva avanzan en fallo renal. Tiene una prevalencia en Europa aproximada de 1 /2.500 (Mekahli, 2020; Tiller, 2011).

Caso clínico

Paciente portador de una variante en el gen *PKD1* (#OMIM: 601313) de origen materno responsable de la aparición de la Poliquistosis renal. Este trastorno se hereda de manera autosómica dominante de forma que el 50% de los hijos del paciente serán afectados, independientemente del sexo de los mismos.

SÍNDROME DE MUENKE (#OMIM: 602849; ORPHA: 53271)

Descripción clínica

El síndrome de Muenke se caracteriza por sinostosis uni o bicoronal, macrocefalia, hipoplasia mediofacial y retraso en el desarrollo. Además también puede incluir falanges medias en forma de dedal, braquidactilia, fusión carpiano/tarsal y sordera. Se debe a una mutación en el gen *FGFR3* (4p16.3) (#OMIM: 134934), que codifica para el receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos

que se requiere para el desarrollo esquelético normal. Se estima una prevalencia al nacimiento de aproximadamente 1/30.000 (Addissie et al., 2017; M. J. F. O'Neill, 2022).

Caso clínico

Paciente portadora de la variante patogénica en el gen *FGFR3* (#OMIM: 134934) responsable del Síndrome de Muenke. Este trastorno tiene un patrón de herencia autosómico dominante, los pacientes tienen un 50% de probabilidad de transmitir la variante patogénica a su futura descendencia.

SÍNDROME TOWNES-BROCKS (TBS) (#OMIM: 107480; ORPHA: 857)

Descripción clínica

El síndrome de Townes-Brocks se caracteriza por la tríada de ano imperforado, orejas displásicas y malformaciones del pulgar. Las características menores de la afección incluyen pérdida de audición, malformaciones de los pies, insuficiencia renal con o sin malformaciones renales, malformaciones genitourinarias y cardiopatía congénita. Está causado por mutaciones en el gen *SALL1* (16q12.1) (#OMIM: 602218). El TBS puede aparecer a cualquier edad y tiene una prevalencia desconocida, y difícil de determinar, aunque se ha estimado en 1/250.00. (Hamosh, 2018a; Kohlhase, 2013).

Caso clínico

Paciente asintomática portadora de una variante probablemente patogénica en el exón 1 del gen *SALL1* (#OMIM: 602218), de origen paterno, asociada al Síndrome Townes-Brocks. Este síndrome se hereda de manera autosómica dominante de forma que el 50% de los hijos de la paciente serán afectados, con independencia del sexo.

SÍNDROME DE AXENFELD-RIEGER (ARS) (#OMIM: 180500; ORPHA: 782)

Descripción clínica

El Síndrome de Axenfeld-Rieger tiene diversas manifestaciones clínicas, aunque la afectación más importante es la disgenesia del segmento anterior del ojo, produciendo ceguera por glaucoma en aproximadamente el 50% de los pacientes afectados. Se debe a mutaciones en los factores de transcripción de los genes *PITX2* (4q25) (#OMIM: 601542) y *FOXC1* (6p25) (#OMIM: 601090), con una edad de inicio neonatal. Se estima una prevalencia de 1/200.000 (Bach-Holm & Tümer, 2011; Stumpf, 2021).

Caso clínico

Paciente afecta del Síndrome de Axenfeld-Rieger causado por mutación en heterocigosis en el gen *PITX2* (#OMIM: 601542). Síndrome con herencia autosómica dominante, por lo que la paciente tiene un 50% de transmitir la enfermedad a su descendencia.

DISTROFIA MIOTÓNICA DE STEINERT (DM1) (#OMIN: 160900; ORPHA: 273)

Descripción clínica

La Distrofia miotónica de Steinert se trata de un trastorno multisistémico que se caracteriza fundamentalmente por miotonía, distrofia muscular, cataratas, hipogonadismo, calvicie frontal y cambios en el electrocardiograma (ECG). Se debe a una expansión anómala del triplete CTG en la región no traducida del gen *DMPK* (19q13.3) (#OMIM: 605377). La gravedad de la enfermedad depende del número de repeticiones: los individuos normales tienen de 5 a 37 repeticiones, los individuos levemente afectados tienen de 50 a 150 repeticiones, los pacientes con DM1 clásica tienen de 100 a 1000 repeticiones y aquellos con inicio al nacer pueden tener más de 2000 repeticiones (Tabla 16). La edad de aparición puede ser variable, desde la etapa prenatal hasta la edad adulta. Esta enfermedad está presente en todo el mundo, teniendo una prevalencia mayor en una provincia de Quebec, Canadá (Hamosh, 2017; Meola, 2020).

TABLA 16. NIVELES DE MUTACIÓN PARA DM1.

| NO AFECTO | AFECTO | AFECTO | AFECTO |
|-----------------------|-------------------------|---------------------------|---------------|
| Normal | Levemente afecto | DM1 Clásica | DM1 Congénita |
| 5-37 repeticiones CTG | 50-150 repeticiones CTG | 100-1000 repeticiones CTG | >2000 CTGs |

Caso clínico

Paciente con alelo expandido patológico en el gen *DMPK* (#OMIM: 605377), de origen paterno, relacionada con la DM1. Tiene un patrón de herencia autosómico dominante, por tanto, el riesgo de transmisión de la enfermedad de un progenitor afecto a su descendencia es del 50%, aunque la enfermedad muestra una penetrancia variable. Además, este trastorno muestra anticipación genética, alelos mayores de 35 repeticiones son inestables y pueden expandirse durante la meiosis, y

como consecuencia, la descendencia de padres portadores pueden heredar alelos de tamaño mayor que el parental.

SÍNDROME DE NOONAN 10 (NS10) (#OMIM: 616564; ORPHA: 648)

Descripción clínica

El Síndrome de Noonan es un trastorno multisistémico, muy variable, caracterizado fundamentalmente por baja talla, dimorfismos creneofacial, cuello corto y/o palmeado, cardiopatías congénitas, miocardiopatía, criptorquidia, defectos de coagulación y un riesgo elevado de desarrollar tumores en la infancia. Este síndrome está causado por una mutación heterocigótica en el gen *LZTR1* (600574) en el cromosoma 22q11. Tiene una prevalencia entre el 1/1.000-1/2.500 (Hamosh, 2018b; Verloes, 2020).

Caso clínico

Paciente portadora de una variante heterocigota probablemente patogénica en el gen *LZTR1* (#OMIM: 600574), de origen materno, responsable de la aparición del Síndrome de Noonan 10. Este síndrome sigue un patrón de herencia autosómico dominante, existiendo un riesgo de transmisión para la descendencia del 50%, independientemente del sexo, con una expresividad muy variable y la penetrancia puede ser incompleta.

SÍNDROME UÑA-RÓTULA (SUR) (#OMIM: 161200; ORPHA: 2614)

Descripción clínica

El Síndrome uña-rótula es un trastorno multisistémico caracterizado por displasia ungueal y anomalías de la rótula, displasia del codo, cuernos ilíacos, nefropatía y glaucoma. Está causado por variantes patogénicas en el gen *LMX1B* (9q33.3) (#OMIM: 602575) que resultan en la pérdida de función de la proteína LMX1B. Tiene una prevalencia de 1/50.000 (Kniffin, 2009; Sangiorgi, 2020).

Caso clínico

Paciente portador de variante patogénica en el gen *LMX1B* (#OMIM: 602575) relacionado con el Síndrome uña-rótula. El SUR tiene una herencia autosómica dominante, por tanto, cada uno de los hijos del paciente tiene un 50% de probabilidad de heredar la variante patogénica causante del SUR. La penetrancia de la enfermedad es completa, aunque tiene una expresión clínica variable incluso dentro de una misma familia.

SÍNDROME DE DISTONÍA-MIOCLONÍA (MDS) (#OMIM: 159900; ORPHA: 36899)

Descripción clínica

El Síndrome de distonía mioclónica se caracteriza por sacudidas mioclínicas (sacudidas musculares rápidas y fulgurantes). También pueden presentar distonía, tortícolis o calambre del escritor. La edad de inicio suele producirse en la primera o segunda década. El MDS está causado por variantes en el gen *SGCE* (7q21.3) (#OMIM: 604149) que codifica una proteína transmembrana que forma parte del complejo glicoproteico asociado a distrofina, localizada en los músculos esqueléticos y cardíaco. En Europa tiene una prevalencia estimada de 1/500.000 (Kamm, 2013; Kniffin, 2013).

Caso clínico

Paciente portador de variante familiar, de origen paterno, en heterocigosis situada en el gen *SGCE* (#OMIM: 604149), responsable de la aparición de la Distonía mioclónica 11. Tiene un patrón de herencia autosómico dominante, con un 50% de descendencia afectada, independientemente del sexo. Además, el gen *SGCE* (#OMIM: 604149) tiene impronta materna y penetrancia incompleta, si la mutación se hereda de la madre permanecerá sin manifestaciones clínicas, en este caso, al ser el paciente el portador la probabilidad de desarrollar síntomas severos en su descendencia es superior al 95%.

OSTEOGÉNESIS IMPERFECTA TIPO 1 (O1) (#OMIM:166200; ORPHA:216796)

Descripción clínica

La Osteogénesis imperfecta es un trastorno generalizado del tejido conectivo caracterizado principalmente por fragilidad ósea y escleróticas azules. La O1 está causada por una mutación heterocigótica en el gen *COL1A1* (17q21.33) (#OMIM: 120150) o el gen *COL1A2* (#OMIM: 120160) que tiene como consecuencia la reducción de la cantidad de colágeno. Se estima una prevalencia entre 1/10.000 y 1/20.000 (Vernon, 2022a).

Caso clínico

Paciente portadora de una mutación en heterocigosis en el gen *COL1A1* (#OMIM: 120150), con hijo afecto de la misma mutación, responsable de la Osteogénesis imperfecta. Este trastorno tiene un patrón de herencia autosómico dominante, por tanto, el 50% de los hijos e hijas de la paciente serán afectados.

TELANGIECTASIA HEMORRÁGICA HEREDITARIA TIPO2 (HHT2) (#OMIM: 600376; ORPHA: 774)

Descripción clínica

La telangiectasia es una displasia vascular que afecta a la angiogénesis, causando malformaciones arteriovenosas de la piel, mucosas y vísceras. La edad de inicio puede variar entre individuos, desde la infancia hasta la edad adulta. La HHT se debe a variantes patogénicas en los genes *ENG* (9q34.11) (131195) o *ACVRL1* (12q13.13) (#OMIM: 601284), que codifican proteínas implicadas en el desarrollo vascular y en la homeostasis angiogénica vascular. Tiene una prevalencia aproximada de 1/6.000 (HHT Working Group, 2019; Sonja A. Rasmussen, 2019).

Caso clínico

Pareja donde ella es portadora de una mutación en el exón 7 del gen *ACVRL1* (#OMIM: 601284), también conocido como gen *ALK1*, asociado a Telangiectasia Hemorrágica tipo 2 y él es portador de una mutación en el gen *PKD1* (#OMIM: 601313) asociado con PRAD. Ambas afecciones tienen un patrón de herencia autosómico dominante, por lo que los pacientes tienen un 50% de riesgo de padecer dichas afecciones en cada embarazo, independientemente del sexo.

LEUCOENCEFALOPATÍA VASCULAR FAMILIAR ASOCIADA AL GEN COL4A1 (#OMIM: 175780; ORPHA: 36383)

Descripción clínica

La enfermedad cerebral de pequeños vasos se caracteriza por la alteración de las membranas basales vasculares, en concreto, en la vascularización cerebral. Estos vasos se caracterizan por una gran debilidad que los hace sensibles a sufrir hemorragias, en la etapa prenatal, en el nacimiento o durante toda la vida. También puede incluir defectos vasculares renales y retinianos. Este trastorno está causado por una mutación heterocigótica en el gen *COL4A1* (#OMIM: 120130) situado en el cromosoma 13q34. El trastorno presenta una penetrancia y expresividad variable (Kniffin, 2019).

Caso clínico

Paciente portadora de una variante probablemente patogénica en el exón 25 del gen *COL4A1* (#OMIM: 120130), causante de enfermedad de pequeños vasos, microangiopatía o leucoencefalopatía vascular familiar y de la variante patogénica en heterocigosis del gen *PKD1* (#OMIM: 601313), responsable de la aparición de PRAD. Ambas afecciones presentan un patrón de

herencia autosómico dominante, por lo que la paciente tiene un riesgo de tener descendencia afectada del 50%, independiente del sexo.

DISPLASIA EPIFISARIA MÚLTIPLE (EDM1) (#OMIM: 132400; ORPHA: 93308)

Descripción clínica

La Displasia Epifisaria Múltiple es un trastorno esquelético caracterizado por talla baja y osteoartrosis de aparición precoz que se manifiesta durante la infancia, con dolor de rodillas y caderas. La EDM1 puede estar causada por mutaciones en distintos genes, entre los que se encuentra la mutación en heterocigosis del gen *COMP* (#OMIM: 600310) situado en el cromosoma 19p13 que codifica la proteína de la matriz oligomérica del cartílago. Tiene una prevalencia desconocida (M. J. F. O'Neill, 2021).

Caso clínico

Paciente afectada de una mutación en heterocigosis, de origen materno, en el gen *COMP* (#OMIM: 600310) causante de la EDM1, pareja no afectada. Esta enfermedad tiene un patrón de herencia autosómico dominante, por lo que el 50% de los hijos de la pareja tienen probabilidad de heredarla.

SÍNDROME DE QT LARGO FAMILIAR (SQTL) (#OMIM: 609620; ORPHA: 768)

Descripción clínica

El Síndrome de QT largo es un grupo de trastornos que se distinguen por una prolongación del intervalo QT en el electrocardiograma (ECG) basal y por un riesgo aumentado de padecer arritmias graves. Las manifestaciones se caracterizan por episodios sincopales, que pueden concluir con muerte súbita cardíaca, y las alteraciones electrocardiográficas descritas anteriormente. Los genes asociados a SQTL codifican subunidades de canales iónicos cardíacos o proteínas que participan en la modulación de las corrientes iónicas. Las mutaciones relacionadas con SQTL están presentes en los genes *KCNQ1* (11p15.5-p15.4) (#OMIM: 607542), *KCNH2* (7q36.1) (#OMIM: 152427), *SCN5A* (3p22.2) (#OMIM: 600163) siendo la causa principal, una prolongación en la duración de la repolarización y, por tanto, del potencial de acción. La forma más frecuente del SQTL está causada por variantes de *KCNQ1* (#OMIM: 607542) (M. J. F. O'Neill, 2006; Schwartz, 2020).

Caso clínico

Paciente portador de una mutación en el gen *KCNH2* (#OMIM: 152427), causante del síndrome de QT largo. El SQTl tiene un patrón de herencia autosómico dominante, teniendo la descendencia del paciente 50% de riesgo de padecer la enfermedad, con independencia del sexo.

MIOPATÍA CENTRAL CORE (CCD) (#OMIM: 117000; ORPHA: 597)

Descripción clínica

La Enfermedad Central del Core es un trastorno del músculo esquelético caracterizado por debilidad muscular que afecta, en mayor medida, a los músculos proximales de las extremidades inferiores. Los síntomas comienzan desde la infancia o la lactancia, con hipotonía y retraso del desarrollo motor, aunque también puede presentar una aparición más tardía de los síntomas. Existe una gran variabilidad fenotípica, incluso dentro de la misma familia, que probablemente depende de la gravedad de la mutación *RYR1* (#OMIM: 180901). Los individuos afectados suelen presentar un retraso en el desarrollo motor, y por lo general, logran una deambulación independiente, aunque muchos tienen dificultades para correr o subir escaleras. Las complicaciones ortopédicas son comunes y la susceptibilidad a la hipertermia maligna (SHM) es una complicación habitual. La CCD está causada por mutaciones en el gen del receptor de rianodina del músculo esquelético, *RYR1* (19q13.2) (#OMIM: 180901), que codifica para el principal canal de liberación de calcio del retículo sarcoplásmico del músculo esquelético (RyR1). Tiene una prevalencia desconocida. (Jungbluth, 2007; Kniffin, 2023)

Caso clínico

Paciente portadora de una mutación en heterocigosis, *de novo*, en el gen *RYR1* (#OMIM: 180901) causante de la Miopatía Central Core. La CCD tiene un patrón de herencia autosómico dominante, por lo que el riesgo de transmisión que la paciente tiene para transmitirlo a su descendencia es del 50% en cada embarazo, con independencia del sexo de los afectados.

POLIPOSIS ADENOMATOSA FAMILIAR (PAF) (#OMIM: 175100; ORPHA: 733)

Descripción clínica

La PAF es un trastorno caracterizado por la aparición de un elevado número de adenomas en la zona del recto y del colon. Suele aparecer en la segunda década de vida del paciente. La PAF se debe a una mutación en la línea germinal en el gen *APC* (5q21-q22) (#OMIM: 611731). Tiene una incidencia

al nacimiento de 1/8.300, con independencia del sexo y una prevalencia estimada entre 1-9/100.000 (Bercovich et al., 2009).

Caso clínico

Paciente portadora de una variante patogénica de el gen *APC* (#OMIM: 611731) causante de poliposis adenomatosa. Este trastorno tiene un patrón de herencia autosómico dominante, desarrollándolo el 50% de su descendencia, independientemente de si son niños o niñas.

TROMBOCITOPENIA ALOINMUNE (TFNA) (ORPHA: 853)

Descripción clínica

La TFNA es un trastorno protombótico, resultado del paso trasplacentario de aloanticuerpos (IgG) de la madre, contra antígenos plaquetarios (HPA) fetales heredados por el padre. Los mecanismos de inmunización materna no se conocen totalmente. Tiene una prevalencia de entre 1-5 / 10 000 y una incidencia estimada de entre 1/800 y 1/2.000 (Bertrand & Winer, 2022).

Caso clínico

Paciente homocigota para el HPA-5b (b/b) y pareja heterocigoto HPA-5a (a/b), por lo que la pareja tiene un 50% de tener fetos afectados que tengan un genotipo a/b y por tanto sufrir una trombocitopenia aloinmune fetal/neonatal).

SÍNDROME TRICO-RINO-FALÁNGICO TIPO 1 (#OMIM: 190350; ORPHA: 77258)

Descripción clínica

El Síndrome trico-rino-falángico (TRF) engloba anomalías congénitas múltiples. Está caracterizado por baja talla, cabello escaso y despigmentado, rasgos faciales característicos (bermellón del labio superior fino, orejas prominentes, cejas anchas, etc.), anomalías de las extremidades y displasia de cadera entre otros. El TRF está causado por variantes patogénicas en heterocigosis del gen *TRPS1* (#OMIM: 604386). Tiene una prevalencia desconocida, con tan solo 250 casos descritos en la literatura a nivel mundial (Hennekam & Maas, 2023).

Caso clínico

Pareja no consanguínea donde ella es portadora de una variante patogénica en el gen *TRPS1* (#OMIM: 604386), con una hija con Síndrome trico-rino-falángico tipo 1. Este síndrome tiene un

patrón de herencia autosómico dominante, por lo que la pareja tiene un 50% de riesgo de tener descendencia afectada, con independencia del sexo de la misma.

CARDIOPATÍA HIPERTRÓFICA FAMILIAR (#OMIM: 115197)

Descripción clínica

La Cardiopatía hipertrófica familiar (CMH) se caracteriza por una hipertrofia ventricular. La obstrucción progresiva del flujo de salida ventricular puede causar palpitaciones asociadas con arritmia, insuficiencia cardíaca congestiva y muerte súbita (McKusick & Bocchini, 2023). La CMH tipo 4 está causada por una mutación en el gen *MYBPC3* (#OMIM: 600958), que codifica la proteína C de unión a miosina cardíaca en el cromosoma 11p11 (O'Neill, 2015).

Caso clínico

Paciente portadora de mutación familiar en el gen *MYBPC3* (#OMIM: 600958), de origen paterno, relacionada con la CMH4. Esta enfermedad genética tiene un patrón de herencia autosómico dominante, lo que significa que los portadores de esta mutación tienen un riesgo del 50% de transmisión de la variante a su descendencia en cada embarazo, con independencia del sexo, con penetrancia elevada y expresividad clínica variable.

MIOCARDIOPATÍA DILATADA FAMILIAR (#OMIM: 609909; ORPHA: 154)

Descripción clínica

La Miocardiopatía dilatada familiar (MDF) es un trastorno caracterizado por la dilatación del ventrículo izquierdo y el deterioro, de forma progresiva, de la función ventricular sistólica. También puede producir insuficiencia cardíaca o arritmias. El origen se le atribuye a más de 50 genes, *TTN3* (#OMIM: 191044), *MYH6* (#OMIM: 160710) y *PLN* (#OMIM: 172405), entre otros. La prevalencia y la incidencia es desconocida, aunque sí se conoce la prevalencia (1/2.500) e incidencia (1/12.000-28.000) de la miocardiopatía dilatada, donde la MDF representa entre el 20-30% de los casos (Charron, 2020).

Caso clínico

Paciente asintomático portador de una variante patogénica en gen *PLN* (#OMIM: 172405) asociada a miocardiopatía dilatada familiar de origen materno. La MDF tiene un patrón de herencia autosómico dominante con un riesgo de transmisión a la descendencia del 50%.

ESFEROCITOSIS HEREDITARIA (#OMIM: 822; ORPHA: 182900)

Descripción clínica

La Esferocitosis hereditaria es una anemia hemolítica congénita, que se caracteriza por ictericia variable, esplenomegalia y colelitiasis. Este trastorno está causado por mutaciones en diversos genes: *SPTA1* (#OMIM: 182860) , *SPTB* (#OMIM: 182870) , *ANK1* (#OMIM: 612641), entre otros. Estas mutaciones provocan defectos en las proteínas, pérdida de cohesión de la membrana del glóbulo rojo y del área superficial de la membrana, producen una esferificación del eritrocito, una reducción de la deformabilidad y su destrucción prematura en el bazo. Tiene mayor prevalencia en el norte de América, aunque formas más leves o subclínicas aumentarían la prevalencia en el norte de Europa a 1/2.000 (Barcellini, 2016).

Caso clínico

Paciente portadora de una variante posiblemente patogénica *de novo*, en heterocigosis en el gen *ANK1* (#OMIM: 612641) y NF1 mutación también *de novo*. Ambos trastornos tienen un patrón de herencia autosómico dominante, por lo que el riesgo de descendencia afecta, en ambos casos, es del 50% en cada embarazo, con independencia del sexo.



6.-DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

La base de datos *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM), a fecha de 31 de mayo de 2024, tiene registradas 6.859 enfermedades cuya base molecular está asociada al fenotipo de los pacientes que la padecen (<https://www.omim.org/statistics/entry>).

En este estudio se han incluido un total de 56 de estas enfermedades, que debido a su prevalencia, descrita en el punto 5.8 de este estudio, entrarían dentro de la clasificación de enfermedad rara. A pesar de la baja prevalencia en la población, estas enfermedades tienen un gran impacto en la salud y calidad de vida de los pacientes que las padecen. Se estima que en su conjunto pueden afectar entre el 6-8% de la población en Europa. Por todo ello, han pasado a considerarse un problema de salud pública (Grupo del Registro Estatal de Enfermedades Raras, 2023; Palomar Rodríguez & Mira Escolano, 2015).

A continuación, se analizarán los resultados del programa de PGT-M para estas 56 enfermedades en la Región de Murcia durante los últimos 10 años.

6.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN SOMETIDA A PGT-M

Al analizar las características generales de la población, se observa un predominio del mujeres portadoras o afectas de la variante patogénica que desencadena la enfermedad monogénica (57,1%). Esta mayor incidencia también se puede observar al comparar la prevalencia de enfermedades raras por sexo y grupo de edad en la Región de Murcia (Fig. 73). Estos datos que no pueden correlacionarse a nivel nacional ya que en el Informe ReeR 2022 se establecen grupos por sexo pero no por edad (Grupo del Registro Estatal de Enfermedades Raras, 2023).

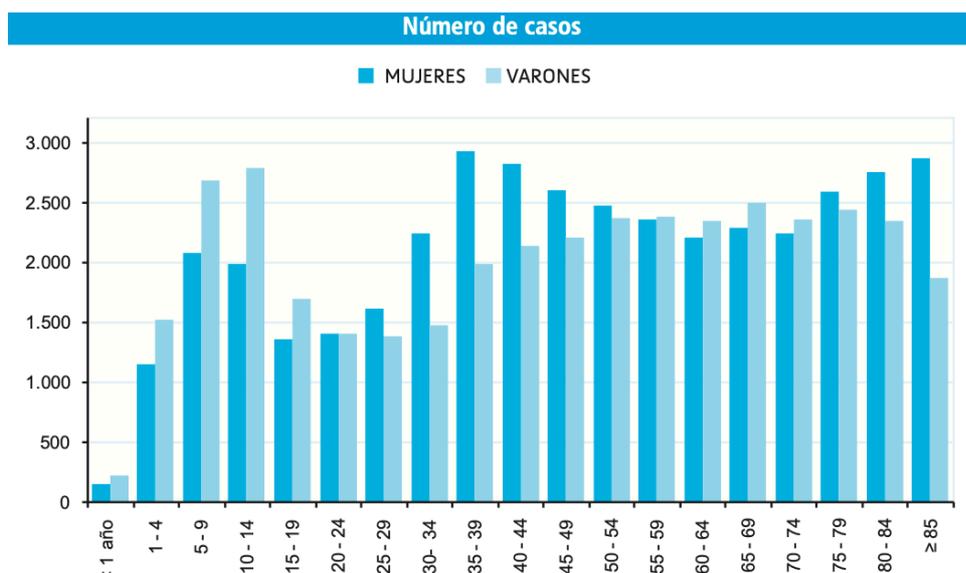


Figura 73. Prevalencia de enfermedades raras según sexo y grupos de edad. Fuente: SIER Región de Murcia 2015.

El grupo de edad materna, con mayor prevalencia, lo componen las pacientes por debajo de 35 años (63,8%), con una edad media de $33,85 \pm 3,59$, datos que no se correlacionan con lo publicado en el Registro SEF'21 (https://www.registrosef.com/public/docs/sef2021_IAFIV.pdf) para tratamientos con ovocitos propios, donde el grupo con mayor incidencia lo componen las pacientes entre 35-39 años (46,6%), seguido del grupo por debajo de 35 años con 29,5%. Este hecho podría deberse a que la gran mayoría de los pacientes tienen un diagnóstico previo de la enfermedad y no pospondrían la maternidad a edades más avanzadas.

En relación al origen de los pacientes, el grupo étnico mayoritario fue el caucásico con un 95,12%, grupo mayoritario también en la Región. En cuanto a la prevalencia de la consanguinidad y el grado de endogamia algunos autores indican que varían de una población a otra dependiendo del grupo étnico, religión, cultura y la zona geográfica (Anwar et al., 2014; Fareed & Afzal, 2017). Según nuestros datos, la mayoría de las parejas (96,75%) no tenían un parentesco genético en común, no encontrándose ningún caso de endogamia en el grupo mayoritario (caucásico). La tasa de consanguinidad del 3,25% se dio en los 2 grupos minoritarios (árabe y gitano), en igual proporción (50%), lo cual podría estar relacionado con el nivel socioeconómico y educativo de los pacientes (Fareed & Afzal, 2017).

Por otro lado, las mutaciones *de novo* tuvieron una baja incidencia (4,06%) en este estudio, siendo la edad media de las pacientes $33,8 \pm 3,42$. La edad materna está relacionada con una mayor incidencia de mutaciones *de novo* (Wong et al., 2016), esto podría explicar la baja incidencia ya que el 63,8% de las pacientes tenían menos de 35 años. Además, debido a la gran heterogeneidad genética de las mutaciones *de novo* las estimaciones epidemiológicas dependerán de cada trastorno. Por ejemplo,

para la mayoría de estos trastornos monogénicos *de novo* del desarrollo neurológico no existen tales estimaciones (López-Rivera et al., 2020).

Finalmente, al analizar el número de casos por Área de Salud se observa una mayor incidencia (22,2%) en el Área de Salud I, una de las zonas más pobladas de la Región, como puede observarse en la figura 74B según el Centro Regional de Estadística de la Región. Esta correlación no se observa en la otra zona más poblada de la Región, el Área de Salud IV, con sólo el 4,8% de los casos. Una de las causas de este hecho podría ser la distancia al centro de referencia, el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.

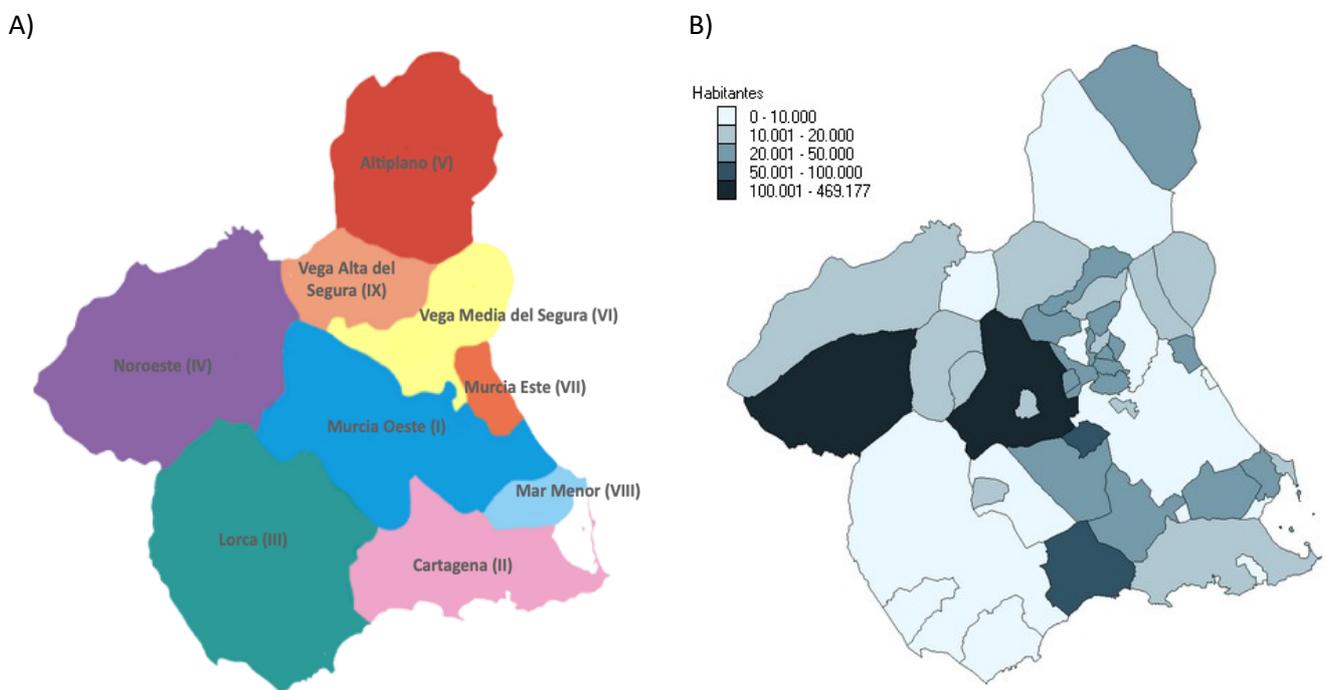


Figura 74. A) Áreas de Salud de la Región de Murcia. B) Población Región de Murcia 2023. Fuente: Centro Regional de Estadística de la Región de Murcia (CREM).

6.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS CLÍNICOS DEL PROGRAMA DE PGT-M

Para que un programa de PGT-M sea eficaz es necesario un laboratorio de FIV con amplia experiencia en TRA, capaz de obtener unas altas tasas de gestación clínica en los programas de FIV.

El programa de PGT-M de la Región de Murcia ha ido incrementando de forma progresiva el número de tratamientos realizados en los últimos 10 años. En sus comienzos se partió de 2 tratamientos al año, finalizando 2023 con 40 tratamientos realizados (Fig. 54). Este aumento

progresivo en el número de tratamientos de PGT-M realizados también se puede observar a nivel nacional. Si nos basamos en los Registros de la Sociedad Española de Fertilidad (Registro SEF), se observa un aumento en el número de tratamientos de PGT-M desde 2014 con 466 tratamientos hasta los 970 tratamientos del último Registro de 2021 (Fig. 75).

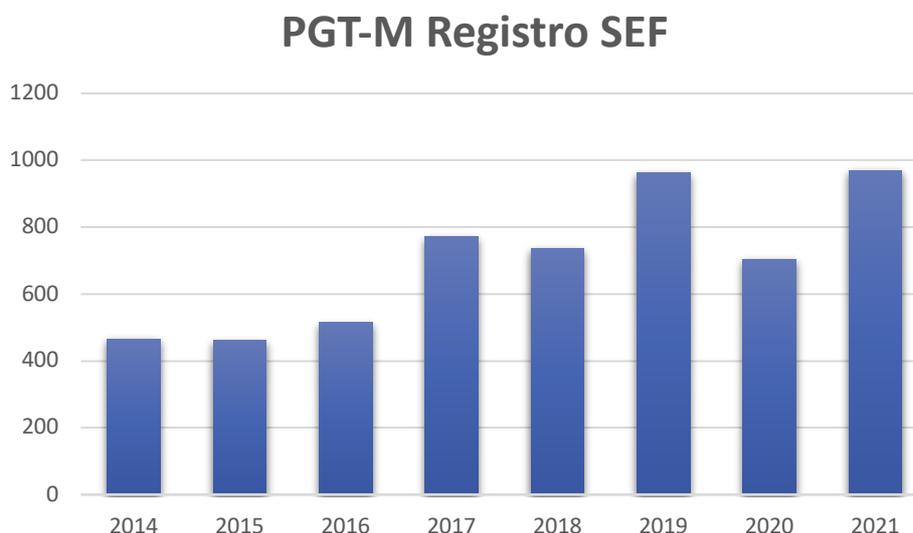


Figura 75. Número de tratamientos de PGT-M en los últimos 8 años según el Registro SEF. Nota: El número de tratamientos en 2020 es menor debido a la pandemia de Covid-19.

Como se ha desarrollado previamente, para la evaluación de los resultados clínicos del programa de PGT-M se han analizado algunos de los indicadores de calidad recogidos por ASEBIR y la ESHRE, a nivel global y en los diferentes laboratorios. Estos indicadores proporcionan información objetiva sobre el rendimiento de un Laboratorio de Reproducción Asistida. ASEBIR se basó en los datos de los Registros de la SEF para establecer 3 niveles de calidad analítica: 1. Mínima (que pueden conseguir el 95% de los laboratorios), 2. Deseable (la que pueden conseguir el 75% de los laboratorios) y 3. Óptima (la que solo consiguen el 25% de los laboratorios) (Castilla Alcalá & Mantilla Martos, 2016). Por otro lado, la ESHRE establece 2 niveles de calidad analítica: 1. Competencia (rendimiento mínimo) y 2. Valores de referencia (valores a los que aspirar) (ESHRE Special Interest Group of Embryology & Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017).

Los datos globales del programa de PGT-M muestran una tasa de fecundación del 70,3%, dato muy próximo al valor óptimo de ASEBIR (73,5%) y el valor de referencia de la ESHRE ($\geq 75\%$) y una tasa de blastocisto del 49,15%, que se sitúa en el valor de competencia de la ESHRE ($\geq 40\%$). Una tasa de gestación clínica total del 34,10%, valor dentro del nivel deseable de ASEBIR y una tasa de implantación del 31,05%, valor también dentro del valor óptimo de ASEBIR (30,2%), y por encima del

nivel de competencia de la ESHRE ($\geq 25\%$). Los datos recogidos en este estudio a nivel global aportan unos resultados dentro de los niveles deseables o de competencia, marcados por ASEBIR y la ESHRE, pero con margen de mejora (Castilla Alcalá & Mantilla Martos, 2016; ESHRE Special Interest Group of Embryology & Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017).

Al analizar los datos de los diferentes laboratorios se observa:

Laboratorio A: tiene una tasa de fecundación del 78,8%, valor por encima del valor óptimo de ASEBIR (73,5%) y del valor de referencia de la ESHRE ($\geq 75\%$). Una tasa de blastocisto del 49,75%, dato por encima nivel de competencia de la ESHRE ($\geq 40\%$). Una tasa de gestación clínica total del 36,36%, por encima del nivel deseable de ASEBIR (32,7%) y una tasa de implantación del 29,17%, por encima del nivel de competencia de la ESHRE ($\geq 25\%$) y muy cerca del nivel óptimo de ASEBIR ($\geq 30,2\%$). Los resultados de este laboratorio están dentro los niveles deseables o de competencia marcados por ASEBIR y la ESHRE, destacando la tasa de fecundación por encima del valor óptimo de ASEBIR y el valor de referencia de la ESHRE.

Laboratorio B: debido al pequeño tamaño muestral analizado en el caso del laboratorio B (1 paciente y 2 tratamientos) los resultados que no son representativos, pero de todos modos al analizar sus resultados se puede observar que tiene una tasa de fecundación del 90,9%, valor por encima del valor óptimo de ASEBIR (73,5%) y el valor de referencia de la ESHRE ($\geq 75\%$), una tasa de blastocisto del 50%, por encima nivel de competencia de la ESHRE ($\geq 40\%$). Una tasa de gestación clínica y de implantación del 100%, en ambos casos los valores son óptimos. Los resultados del laboratorio B, aunque no son representativos, están dentro los niveles deseables o de competencia marcados por ASEBIR y la ESHRE, destacando la tasa de gestación y de implantación con valores óptimos por lo que no necesita margen de mejora.

Laboratorio C: tiene una tasa de fecundación del 75,68%, resultado por encima del valor óptimo de ASEBIR (73,5%) y del valor de referencia de la ESHRE ($\geq 75\%$). Una tasa de blastocisto del 66,96%, valor por encima del valor de referencia de la ESHRE ($\geq 60\%$) y el más alto de todos los laboratorios analizados. Sin embargo, la tasa de gestación clínica es del 25%, valor situado en el nivel mínimo de ASEBIR (25,2%) y una tasa de implantación 22,22%, valor por encima del nivel deseable de ASEBIR (20%). Los resultados de este laboratorio están dentro los niveles óptimos y de referencia marcados por ASEBIR y la ESHRE, en cuanto a la tasa de fecundación y tasa de blastocisto, en los niveles deseables para la tasa de implantación, pero con margen de mejora en la tasa de gestación clínica.

Laboratorio D: tiene una tasa de fecundación del 65,82%, resultado por encima del valor deseable de ASEBIR (63,2%) y del valor de competencia de la ESHRE ($\geq 60\%$). Una tasa de blastocisto 32,97%, resultado por debajo del valor de competencia de la ESHRE ($\geq 40\%$) y el más bajo de todos los laboratorios estudiados. Una tasa de gestación clínica del 29,31%, por debajo del nivel deseable de ASEBIR y una tasa de implantación del 26,22%, valor por encima del nivel deseable de ASEBIR (20,0%). Los resultados de este laboratorio están dentro los niveles deseables o de competencia marcados por ASEBIR y la ESHRE, a excepción de la tasa de blastocisto, que no alcanza valores de competencia marcados por la ESHRE, y además, con margen de mejora también en la tasa de fecundación.

URA (HCUVA): tiene una tasa de fecundación del 70,70%, resultado próximo al valor óptimo de ASEBIR (73,5%) y por encima del valor de competencia de la ESHRE ($\geq 60\%$). Una tasa de blastocisto del 64,58%, cifra por encima del valor de referencia de la ESHRE ($\geq 60\%$). Una tasa de gestación clínica del 48,48%, valor por encima del valor óptimo de ASEBIR (43,5%) y una tasa de implantación del 48,48%, resultado por encima del valor óptimo de ASEBIR (30,2%) y del valor de referencia de la ESHRE (35%). Los resultados de la URA están dentro los niveles óptimos o de referencia marcados por ASEBIR y la ESHRE, o cercanos a estos valores, destacando la tasa de gestación y la tasa de implantación, por encima del valor óptimo de ASEBIR y de la ESHRE, y los más altos de todos los laboratorios estudiados.

La tasa de aborto es otra variable importante a estudiar, ya que aproximadamente entre el 15 y el 20% de las gestaciones acaba en aborto (Devall et al., 2021). Existen diversos factores asociados al aborto espontáneo, puede ser de origen genético, entre los que se encuentran las aneuploidías o multifactorial; la edad materna, IMC, exposición a tóxicos, etc. (Quenby et al., 2021; Remohí et al., 2012). En este estudio, la tasa de aborto ha sido distinta en los diferentes laboratorios analizados, siendo la clínica A la que mayor tasa de aborto tiene, un 25% y la tasa más baja la de la clínica C, sin abortos registrados, seguida de la URA con 6,25% de tasa de aborto. Anotar que la tasa de la clínica B no es representativa por los motivos expuestos anteriormente. Por otra parte, el último Registro SEF sitúa la tasa de aborto en pacientes menores de 35 años (edad del 63,8% de las pacientes de este estudio) en el 20,1%, similar a las tasas de la bibliografía (Devall et al., 2021). Las clínicas C, D y la URA estarían, por tanto, por debajo de esa cifra.

Finalmente, destacar que el laboratorio de la URA del HCUVA ha tenido una tasa de fecundación del 65,36%, una tasa de blastocisto del 64,58%, y ha necesitado únicamente biopsiar una media de $2,77 \pm 2,01$, cifra más baja de todos los laboratorios estudiados, para conseguir una tasa de gestación clínica 48,48%, con una tasa de aborto del 6,25%. La URA del HCUVA realizó siempre transferencias de un único embrión, valor que se puede comprobar al ver igualada la tasa de gestación clínica y la tasa de implantación. Además, señalar que la tasa de implantación es un excelente marcador de la

calidad de un laboratorio de reproducción asistida, ya que cuanto menor sea el número de embriones que se transfieren para conseguir una gestación, mayor será la calidad del embrión o los embriones que se han transferido. Una limitación de este trabajo ha sido no estudiar la receptividad endometrial, ya que en la actualidad no existen test moleculares que estudien la receptividad del endometrio de una paciente en el ciclo en el que se va a realizar la transferencia. Por tanto, se ha tenido en cuenta la morfología del mismo, siendo siempre trilaminar y de un tamaño mayor de 7 mm. Además, cabe destacar que las pacientes de este estudio son mujeres jóvenes sin esterilidad, por tanto, en principio no debería existir una causa endometrial.

Todos los laboratorios estudiados alcanzan los valores de calidad recomendados por las principales sociedades científicas en materia de reproducción asistida (ASEBIR y ESHRE). Aunque, es cierto que, en algunos casos, se podrían tomar medidas correctivas con la finalidad mejorar los resultados clínicos. Cada laboratorio debe desarrollar su propio conjunto valores de calidad basados en la organización y los procesos del laboratorio, y desarrollar un enfoque sistemático, transparente y consistente para la recopilación, el análisis y el cálculo de los mismos, y de esta forma, establecer objetivos y tomar medidas correctivas con la finalidad de mejorar los resultados clínicos (ESHRE Special Interest Group of Embryology & Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017; Salinas et al., 2010).

Finalmente, indicar que al optar por una estrategia de CT en la URA del HCUVA el número de recién nacido vivo se retrasa en el tiempo (Wong et al., 2017), motivo por el cual, a fecha de 29 de mayo de 2024, el número de niños nacidos de tratamientos realizados en esta unidad asciende a 12, teniendo pacientes embarazadas cuya gestación supera las 20 semanas de gestación.

6.3. RELACIÓN DEL DÍA DE REALIZACIÓN DE LA BIOPSIA VERSUS LA TASA DE GESTACIÓN CLÍNICA

En la actualidad, la biopsia en estadio de blastocisto o biopsia de trofotodermo es la técnica más utilizada para los tratamientos de PGT, ya que ofrece ventajas como la mayor confiabilidad que aporta el análisis de un número mayor de células (De Rycke et al., 2017; Kokkali et al., 2020). Como ya se ha comentado, esta técnica de biopsia, junto con la transferencia de embriones en estadio de blastocisto es la estrategia con más ventajas en los tratamientos de PGT-M (Kokkali et al., 2007, 2020). Sin embargo, la biopsia en D+3 sigue utilizándose en algunos centros de manera sistemática debido a las implicaciones organizativas, económicas y la logística entre laboratorios (Bacus et al., 2021). Por este motivo, se decidió comparar las posibilidades de éxito de las pacientes que realizan PGT-M en la URA

en función del día de la biopsia, y así ayudarnos en la toma de decisiones para utilizar la mejor estrategia en base a nuestros recursos, logística y resultados.

Los datos obtenidos, con un total de tratamientos de biopsia en D+3 de 98 y 75 en D+5, indican que la tasa de gestación es mayor (Tabla 6), existiendo diferencias significativas, cuando la biopsia se realiza en D+5 o estadio de blastocisto. Estos datos serían los esperados, ya que como veíamos inicialmente, existe una correlación entre el desarrollo embrionario y la incidencia de anomalías cromosómicas, seleccionándose para biopsiar los embriones de buena calidad (Magli et al., 2007), que serían en este caso aquellos que llegan a estadio de blastocisto. Además, parece existir una mayor tasa de euploidía cuando la biopsia se realiza en estadio de blastocisto (Coll et al., 2018), que podría explicarse por la relación que establecen algunos autores entre el estado de aneuploidía y la morfología/dinámica de desarrollo del blastocisto (Minasi et al., 2016). Por tanto, los datos indican que la estrategia a seguir debe ser la implementada en el laboratorio de la URA desde que comenzó su labor asistencial y que se está generalizando como estándar internacional (Bacus et al., 2021; De Rycke et al., 2017).

6.4. RELACIÓN DEL TIPO DE TRANSFERENCIA EMBRIONARIA VERSUS LA TASA DE GESTACIÓN CLÍNICA

El día de realización de la biopsia puede determinar el tipo de transferencia a realizar. La biopsia en D+5 requiere, en la mayoría de los casos, la congelación sistemática de los embriones a la espera de los resultados genéticos, mientras que la biopsia en D+3 puede permitir la transferencia de embriones en fresco (TF) con diagnóstico genético adecuado, en el mismo ciclo (Bacus et al., 2021).

Los resultados obtenidos, con un total de 152 CT realizadas y 18 TF, indican que la tasa de gestación es mayor (Tabla 7), existiendo diferencias significativas, cuando se realiza la transferencia de embriones previamente congelados o vitrificados (CT). Es cierto que el número de transferencias en fresco en este estudio no es muy alto, pero los resultados son comparables con la bibliografía. Por ejemplo, un estudio aleatorio multicéntrico publicado en *The Lancet*, donde se estudió si la CT mejoraba la tasa de nacidos vivos en comparación con TF, se observó que la tasa de nacidos vivos es mayor en CT (50%) que en TF (40%). Cabe destacar que en la CT se mejora del entorno uterino antes de la transferencia, que también podría contribuir a mejorar las tasas de éxito, ya que no se administraran las elevadas dosis de gonadotropinas de la estimulación ovárica de las TF y los niveles hormonales esteroideos serán los adecuados (Wei et al., 2019). Además, según los últimos datos publicados en el Registro SEF'21 la tasa de gestación clínica también es mayor si se realiza CT (40,9%)

frente al 34,4% si se realiza TF. Por tanto, la estrategia elegida por el laboratorio de la URA puede considerarse la correcta, estando esta tasa cercana al 45% para CT.

6.5. RELACIÓN DE ANEUPLOIDIAS VERSUS CANTIDAD DE OVOCITOS OBTENIDOS EN LA PUNCIÓN FOLICULAR

Las alteraciones cromosómicas en los embriones, también llamadas aneuploidías, son responsables del bloqueo embrionario, de fallos de implantación y de los abortos de espontáneos (Alfarawati et al., 2011; Nair et al., 2022). La edad materna es un factor determinante que influye en la aparición de alteraciones cromosómicas en el embrión. Estas alteraciones pueden surgir como consecuencia de fallos en la meiosis, ya que los ovocitos de estas pacientes son más propensos a errores de segregación meiótica, que conduce principalmente a la aneuploidía (Barash et al., 2017; Charalambous et al., 2023), pero estas alteraciones cromosómicas podrían deberse también a otros factores, por ejemplo, a la estimulación ovárica, sin embargo, no está claro que exista relación entre la estimulación ovárica y la tasa de aneuploidías en los embriones (Cascales et al., 2021; Vaiarelli et al., 2023).

En los tratamientos de FIV se realiza una estimulación ovárica controlada para conseguir un desarrollo multifolicular, y así poder recuperar múltiples ovocitos, pero no se ha llegado a un consenso sobre el número óptimo de ovocitos que se debe intentar conseguir (Polyzos et al., 2018). Existen estudios que indican una correlación negativa entre la dosis de gonadotropinas y las tasas de embarazo, cuando se realiza la transferencia de embriones en fresco (Baker et al., 2015; Sunkara et al., 2011). Esta relación podría deberse a los efectos negativos de altas dosis de gonadotropinas en el endometrio o en los ovocitos, ya que un número elevado de ovocitos podría ser el resultado de dosis elevadas de gonadotropinas (Cascales et al., 2021). Por otra parte, algunos autores apuntan que a mayor número de ovocitos, la tasa de recién nacido vivo es también mayor (Cobo et al., 2021; Polyzos et al., 2018), por tanto, no estaría relacionado con la tasa de aneuploidia. En esta línea, un estudio con ovocitos de donante analizó la relación entre la respuesta ovárica y el número de embriones euploides, observando que a mayor respuesta ovárica (mayor número de ovocitos obtenidos), el número de embriones euploides también era mayor, considerando este dato más relevante que la tasa de embriones aneuploides (Labarta et al., 2017). Es importante destacar que estos estudios tienen en cuenta tasas acumuladas de recién nacido vivo y utilizan, la práctica cada vez más utilizada, de diferir la transferencia a un ciclo de congelado (Maheshwari et al., 2018).

Debido a la controversia que existe en relación a la estimulación ovárica, cantidad de ovocitos obtenidos y las aneuploidías embrionarias, y que se ha descrito anteriormente, se planteó como objetivo específico estudiar si existe alguna relación entre el número de ovocitos aspirados en la punción folicular y el porcentaje de embriones aneuploides, en este amplio estudio sobre el diagnóstico preimplantacional en la URA del HCUVA, y así poder plantear nuevas estrategias de estimulación ovárica más efectivas para los ciclos de PGT.

Los datos obtenidos confirman que está relacionado el número de ovocitos obtenidos y los embriones aneuploides. Existiendo una correlación moderada entre el número de ovocitos y el número de embriones aneuploides (Fig. 58), es decir, a mayor número de ovocitos obtenidos, aumenta el número de embriones aneuploides.

Además, se estudió si existía relación entre la edad de la paciente y la tasa de aneuploidías, no encontrando diferencias significativas entre los grupos de edad estudiados (1. Pacientes menores de 30 años, 2. Pacientes entre 30 y 35 años y 3. Pacientes mayores de 35 años) (Fig. 59). Por tanto, según nuestros datos incluidos en este estudio, a mayor edad no aumentan las aneuploidías, a pesar de ser un factor determinante para muchos autores, pero que se podría explicar debido a que el 63,8% de las pacientes del estudio eran menores de 35 años y las aneuploidías aumentan en las mujeres a partir de los 35 años (Charalambous et al., 2023).

Finalmente, se analizó la relación entre la dosis total de gonadotropinas y los días de estimulación en relación, en ambos casos, con la tasa de aneuploidías, observando en los 2 supuestos que no existen diferencias significativas y por tanto no hay relación, según nuestros datos, entre la tasa de aneuploidía y la dosis de gonadotropinas, ni entre los días de estimulación y la tasa de aneuploidía. Estos resultados irían en la misma dirección que un estudio realizado en donantes de ovocitos donde se observó que la incidencia de euploidía no estaba asociada con parámetros del ciclo como la dosis de gonadotropinas total o los días de estimulación (McCulloh et al., 2019).

En estudios posteriores, planteamos aumentar el tamaño de la muestra, para comprobar si nuestros resultados son consecuencia de un bajo número de datos o si en cambio siguen la tendencia de los autores consultados.

6.6. ANÁLISIS ECONÓMICO DEL PROGRAMA DE PGT-M EN EL SMS

Las enfermedades raras, en las que están incluidas las enfermedades monogénicas de este estudio, constituyen un gran impacto familiar y un problema de salud pública, prestándoles desde

hace unos años, una especial atención a nivel de la Unión Europea, a escala nacional y en el ámbito autonómico. Estas enfermedades suponen un coste económico mayor para el Sistema Sanitario, relacionado con el diagnóstico y la asistencia hospitalaria de los pacientes, de forma recurrente. En el Informe donde se analiza el coste de las altas hospitalarias con diagnóstico principal de ER en la Región de Murcia (2002-2007), se estima que éstas han supuesto el 1,44% del total de ingresos en ese periodo, con un coste total de 45,08 millones de euros, que representa un 1,64% del coste de todos los ingresos. El coste por ingreso al alta de un paciente con diagnóstico de ER se estimaba, durante el periodo estudiado, en 3.729 euros (León-León & Palomar-Rodríguez, 2010).

Los tratamientos de reproducción asistida, como ya hemos visto, tienen un coste económico elevado, que todavía se incrementa más si es necesario incluir el PGT-M. Al analizar los datos económicos de este estudio, se observa que en el primer concierto del SMS (2014-2018), se realizaron un total de 38 tratamientos, que han supuesto el 37,4% del gasto total del SMS para PGT-M en estos 10 años. En el segundo concierto del SMS (2018-2023), se realizaron un total de 92 tratamientos de PGT-M, que han supuesto el 45,2% de los tratamientos de PGT-M y los 64 tratamientos realizados en el laboratorio de la URA, han supuesto el 33% del gasto total durante los 10 años del estudio. Como puede observarse en la figura 62, los precios de los tratamientos han ido disminuyendo de 9.430 € a los 2.426,08 €, precio total al realizar el tratamiento en la URA.

La puesta en marcha del laboratorio de la URA ha supuesto una mejora en la gestión de los recursos y por tanto, una optimización del gasto. En la actualidad, realizar un tratamiento en este laboratorio del HCUVA, supone un ahorro de 7.003,92 € por tratamiento de PGT-M realizado, respecto al primer concierto, y de 2.273,01 € por tratamiento de PGT-M realizado, si lo comparamos con el segundo concierto.

6.7. ANÁLISIS SOBRE LA EFECTIVIDAD DEL PROGRAMA DE PGT-M + PGT-A

El PGT-M estudia las alteraciones genéticas causantes de la enfermedad monogénica en cuestión, y como ya se ha comentado, entre el 15% y el 20% de los embarazos pueden terminar en aborto espontáneo (Devall et al., 2021). El aborto espontáneo, puede ser debido a diversos factores, entre los que se encuentran las aneuploidías, que pueden llegar hasta valores cercanos al 60% (Fragouli et al., 2011). Aunque estudios previos indicaban que no existía evidencia de un efecto beneficioso del PGT-A sobre la tasa de nacidos vivos después de la FIV (Mastenbroek et al., 2011), en la actualidad, podemos encontrar trabajos que se inclinan más por la detección simultánea de aneuploidías y enfermedades genéticas (Castejón Fernández, 2021; Minasi et al., 2017).

Por estos motivos, desde el comienzo de la labor asistencial del laboratorio de la URA en el HCUVA se planteó la estrategia conjunta de PGT-M + PGT-A, para de esta forma analizar las posibles alteraciones cromosómicas que los embriones no afectados pudieran tener, que además pueden ser responsables del bloqueo embrionario, de fallos de implantación y de los abortos de repetición (Alfarawati et al., 2011; Minasi et al., 2017). Además, esta estrategia se puede utilizar con el objetivo de aumentar las tasas de embarazo y disminuir las tasas de abortos espontáneos (Kokkali et al., 2020, Kimelman & Pavone, 2021).

Para comprobar si nuestra estrategia ha sido la acertada analizaremos la tasa de gestación clínica y la tasa de aborto del programa PGT-M frente al PGT-M+A. En la tabla 12, podemos observar las distintas tasas de embarazo, 43,2% en el caso de PGT-M+A y 31,6% en el caso de PGT-M. Es importante saber, que las clínicas A, B y C han realizado exclusivamente PGT-M. La clínica D, ha realizado PGT-M en el 97,8% de los tratamientos y PGT-M + A en el 2,2% de los casos. La URA del HCUVA ha realizado PGT-M + PGT-A en el 100% de los tratamientos. La mayor tasa de gestación clínica 48,48% la tuvo el laboratorio de la URA del HCUVA, seguido de la clínica A (36,36%) y el resto de clínicas. Al analizar si existen diferencias significativas observamos un p-valor por encima de 0,05, por lo que podemos concluir que aunque vemos una tendencia (43,2%), no existen diferencias significativas entre ambos grupos. En estudios posteriores, plantearíamos aumentar el número de casos de PGT-M+A, para comprobar si nuestros resultados siguen la tendencia y pueden encontrarse diferencias significativas entre ambos grupos.

Al estudiar la tasa de aborto en ambos grupos (PGT-M y PGT-M+A), observamos, al igual que en el caso anterior, un p-valor mayor de 0,05, lo que nos indica que no existen diferencias significativas, con una proporción de tasa de aborto situada en 6,2% para los tratamientos de PGT-M+A frente al 20,9% de tasa de aborto para los tratamientos que únicamente realizan PGT-M (Tabla 13). Estos resultados no avalan los estudios publicados en la bibliografía (Minasi et al., 2017), pero la tendencia positiva, con una menor tasa de aborto y una mayor tasa de gestación, nos indica que la estrategia elegida por la URA podría ser la correcta, planteando para estudios posteriores aumentar el tamaño muestral y así poder que analizar si se corrobora o se refuta la hipótesis y por tanto la tendencia observada.



7.-CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. En la población estudiada predominan las pacientes, portadoras o afectas de las enfermedades monogénicas, con una edad inferior a 35 años. Los resultados muestran que todos los laboratorios alcanzan los valores de calidad recomendados por las sociedades científicas (ASEBIR y ESHRE). El protocolo seguido por la URA del HCUVA es más eficiente que el seguido en otras clínicas.
2. Los resultados obtenidos demuestran que la biopsia embrionaria debería realizarse siempre en estadio de blastocisto.
3. En los tratamientos de PGT-M, la transferencia embrionaria debería realizarse en un ciclo en diferido, previa vitrificación embrionaria.
4. La cantidad de ovocitos recuperados afecta a la tasa de aneuploidías, por lo tanto, debe realizarse una estimulación ovárica controlada para conseguir un número óptimo de ovocitos.
5. La gestión de recursos económicos en el programa de PGT-M del SMS ha sido más eficaz desde la puesta en marcha del laboratorio de la URA del HCUVA. Además, la estrategia elegida por la URA de seguir un programa de PGT-M+A, ha sido la correcta y así lo demuestra la tendencia positiva con una menor tasa de aborto y una mayor tasa de gestación al realizar PGT-M+A.
6. El listado y el catálogo de enfermedades susceptibles de PGT-M servirá como guía de consulta en la Región de Murcia.



8.-REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamson, G. D., Zegers-Hochschild, F., & Dyer, S. (2023). Global fertility care with assisted reproductive technology. *Fertility and Sterility*, *120*(3P1), 473–482. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.01.013>
- Addissie, Yonit. A., Kruszka, P., & Muenke, M. (2017, March). *Síndrome de Muenke*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=10716&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sindrome-de-muenke&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=S-ndrome-de-Muenke&title=S%EDndrome%20de%20Muenke&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=10716&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sindrome-de-muenke&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=S-ndrome-de-Muenke&title=S%EDndrome%20de%20Muenke&search=Disease_Search_Simple)
- Alfarawati, S., Fragouli, E., Colls, P., Stevens, J., Gutiérrez-Mateo, C., Schoolcraft, W. B., Katz-Jaffe, M. G., & Wells, D. (2011). The relationship between blastocyst morphology, chromosomal abnormality, and embryo gender. *Fertility and Sterility*, *95*(2), 520–524. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.04.003>
- Andrade, A., & Pizarro, M. E. (2022). Precision medicine in cystic fibrosis. In *Revista Medica Clinica Las Condes* (Vol. 33, Issue 1, pp. 44–50). Ediciones Doyma, S.L. <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2021.12.003>
- Anwar, W. A., Khyatti, M., & Hemminki, K. (2014). Consanguinity and genetic diseases in North Africa and immigrants to Europe. *European Journal of Public Health*, *24*(SUPPL.1), 57–63. <https://doi.org/10.1093/eurpub/cku104>
- Aretz, S., Pineda, M., & Valle, L. (2023). *Síndrome de Lynch*. Base de Datos Orphanet. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?data_id=3245&lng=en
- Arroyo, I. (2006). *Classification of genetic alterations*. <https://www.researchgate.net/publication/290350922>
- Bach-Holm, D., & Tümer, Z. (2011, July). *Síndrome Axenfeld-Rieger*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=3485&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sindrome-axenfeld&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=S-ndrome-de-Axenfeld-Rieger&title=S%EDndrome%20de%20Axenfeld-Rieger&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=3485&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sindrome-axenfeld&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=S-ndrome-de-Axenfeld-Rieger&title=S%EDndrome%20de%20Axenfeld-Rieger&search=Disease_Search_Simple)
- Bacus, J., Lammers, J., Loubersac, S., Lefebvre, T., Leperlier, F., Barriere, P., Fréour, T., & Reignier, A. (2021). Pre-implantation genetic testing: Comparison between cleavage stage and blastocyst biopsy. *Gynecologie Obstetrique*

Fertilite et Senologie, 49(4), 266–274.
<https://doi.org/10.1016/j.gofs.2020.11.019>

- Baker, V. L., Brown, M. B., Luke, B., Smith, G. W., & Ireland, J. J. (2015).
Gonadotropin dose is negatively correlated with live birth rate: Analysis of
more than 650,000 assisted reproductive technology cycles. *Fertility and
Sterility*, 104(5), 1145-1152.e5.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.07.1151>
- Balaban, B., Brison, D., Calderón, G., Catt, J., Conaghan, J., Cowan, L., Ebner, T.,
Gardner, D., Hardarson, T., Lundin, K., Cristina Magli, M., Mortimer, D.,
Mortimer, S., Munné, S., Royere, D., Scott, L., Smitz, J., Thornhill, A., Van
Blerkom, J., & Van Den Abbeel, E. (2011). The Istanbul consensus workshop on
embryo assessment: Proceedings of an expert meeting. *Human Reproduction*,
26(6), 1270–1283. <https://doi.org/10.1093/humrep/der037>
- Barash, O. O., Hinckley, M. D., Rosenbluth, E. M., Ivani, K. A., & Weckstein, L. N.
(2017). High gonadotropin dosage does not affect euploidy and pregnancy
rates in IVF PGS cycles with single embryo transfer. *Human Reproduction*,
32(11), 2209–2217. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex299>
- Barcellini, W. (2016, October). *Esferocitosis hereditaria*. Base de Datos Orphanet.
<https://www.orpha.net/es/disease/detail/822?name=esferocitosis&mode=name>
- Beck, M. (2011, October). *Mucopolisacaridosis tipo 1*. Base de Datos Orphanet.
- Behr, B., Pool, T. B., Milki, A. A., Moore, D., Gebhardt, J., & Dasig, D. (1999).
Preliminary clinical experience with human blastocyst development in vitro
without co-culture. In *Human Reproduction* (Vol. 14, Issue 2).
<https://academic.oup.com/humrep/article/14/2/454/614115>
- Bennett, R. L., French, K. S., Resta, R. G., & Doyle, D. L. (2008). Standardized human
pedigree nomenclature: Update and assessment of the recommendations of
the National Society of Genetic Counselors. *Journal of Genetic Counseling*,
17(5), 424–433. <https://doi.org/10.1007/s10897-008-9169-9>
- Bercovich, D., Half, E., & Rozen, P. (2009, October). *Poliposis adenomatosa familiar*.
Base de Datos Orphanet.
<https://www.orpha.net/es/disease/detail/733?name=733&mode=orpha>
- Bertrand, G., & Winer, N. (2022, March). *Trombocitopenia aloimmune fetal y
neonatal*. Base de Datos Orphanet.
<https://www.orpha.net/es/disease/detail/853?name=853&mode=orpha>
- Blanco, L., Bernad, A., Lázaro, J. M., Martín, G., Garmendia, C., & Salas, M. (1989).
Highly Efficient DNA Synthesis by the Phage ϕ 29 DNA Polymerase. *Journal of*

Biological Chemistry, 264(15), 8935–8940. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)81883-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)81883-x)

- Blau, N. (2020, December). *Fenilcetonuria*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=611&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Fenilcetonuria&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Fenilcetonuria&title=Fenilcetonuria&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=611&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Fenilcetonuria&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Fenilcetonuria&title=Fenilcetonuria&search=Disease_Search_Simple)
- Boada, M., & Grossmann, M. (2010). *REVISTA DE EMBRIOLOGÍA CLÍNICA Y BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN REVISTA*. www.asebir.com
- Boomsma, C. M., Cohlen, B. J., & Farquhar, C. (2019). Semen preparation techniques for intrauterine insemination. In *Cochrane Database of Systematic Reviews* (Vol. 2019, Issue 10). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004507.pub4>
- Bosch, E., Broer, S., Griesinger, G., Grynberg, M., Humaidan, P., Kolibianakis, E., Kunicki, M., La Marca, A., Lainas, G., Le Clef, N., Massin, N., Mastenbroek, S., Polyzos, N., Sunkara, S. K., Timeva, T., Töyli, M., Urbancsek, J., Vermeulen, N., & Broekmans, F. (2021). ESHRE guideline: Ovarian stimulation for IVF/ICSI. In *Human Reproduction Open* (Vol. 2020, Issue 2). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoaa009>
- Brandi, M. L., Giusti, F., & Marini, F. (2020a). Neoplasia endocrina múltiple tipo 2. *Base de Datos Orphanet*, 4. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=906&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=NEOPLASIA-ENDOCRINA-M-LTIPLA-TIPO-2--MEN-2--&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Neoplasia-endocrina-m-ltiple-tipo-2&title=Neoplasia%20endocrina%20m%20ltiple%20tipo%202&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=906&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=NEOPLASIA-ENDOCRINA-M-LTIPLA-TIPO-2--MEN-2--&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Neoplasia-endocrina-m-ltiple-tipo-2&title=Neoplasia%20endocrina%20m%20ltiple%20tipo%202&search=Disease_Search_Simple)
- Brandi, M. L., Giusti, F., & Marini, F. (2020b, April). *Neoplasia endocrina múltiple tipo 1*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=121&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Neoplasia-endocrina-m-ltiple-tipo-1&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Neoplasia-endocrina-m-ltiple-tipo-1&title=Neoplasia%20endocrina%20m%20ltiple%20tipo%201&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=121&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Neoplasia-endocrina-m-ltiple-tipo-1&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Neoplasia-endocrina-m-ltiple-tipo-1&title=Neoplasia%20endocrina%20m%20ltiple%20tipo%201&search=Disease_Search_Simple)
- Bruna Catalán, I., María Dolores Sánchez de Rivera Colino, D., & Collado Ramos, Ó. (2021). *ESTUDIO INICIAL DE REPRODUCCIÓN: PAREJA CON DISFUNCIÓN REPRODUCTIVA*.

- Bustamante-Aragonés, A., Fernández, E., Peciña, A., Rueda, J., Ramos, C., Giménez, C., Monfort, S., & Rubio, C. (2016). Guía de buenas prácticas en diagnóstico genético preimplantacional. *Medicina Reproductiva y Embriología Clínica*, 3(2), 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.medre.2016.05.002>
- Carvalho, F., Coonen, E., Goossens, V., Kokkali, G., Rubio, C., Meijer-Hoogeveen, M., Moutou, C., Vermeulen, N., & De Rycke, M. (2020a). ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the organisation of PGT. *Human Reproduction Open*. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoaa021>
- Carvalho, F., Coonen, E., Goossens, V., Kokkali, G., Rubio, C., Meijer-Hoogeveen, M., Moutou, C., Vermeulen, N., & De Rycke, M. (2020b). ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the organisation of PGT†. *Human Reproduction Open*, 2020(3). <https://doi.org/10.1093/hropen/hoaa021>
- Carvalho, F., Moutou, C., Dimitriadou, E., Dreesen, J., Giménez, C., Goossens, V., Kakourou, G., Vermeulen, N., Zuccarello, D., & De Rycke, M. (2020). ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of monogenic disorders. *Human Reproduction Open*. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoaa018>
- Cascales, A., Lledó, B., Ortiz, J. A., Morales, R., Ten, J., Llácer, J., & Bernabeu, R. (2021). Effect of ovarian stimulation on embryo aneuploidy and mosaicism rate. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 67(1), 42–49. <https://doi.org/10.1080/19396368.2020.1850908>
- Castejón Fernández, N. (2021). *Herramientas Bioinformáticas para el Diagnóstico Genético Preimplantacional mediante Secuenciación Masiva*. Universidad de Murcia.
- Castilla Alcalá, J. A., & Mantilla Martos, A. (2016). *CUADERNOS DE EMBRIOLOGÍA CLÍNICA*.
- Chappelle, A., Terry, S. F., Burke, B. C., Christensen, K., Garrison, A., Hawkins, A., Rifaey, H., Terry, E., Waite, M., Wise, L., Haga, S. B., Benkendorf, J., Boughman, J., Dolan, S. M., Djurdjinovic, L., Faucett, W. A., Green, N., Hoffman, M., Lea, D. H., ... Weiss, J. O. (2009). *Understanding Genetics: A New York, Mid-Atlantic Guide for Patients and Health Professionals*. <http://www.resourcerepository.org/documents/1247/understandinggenetics:a-newyork,mid-atlanticguideforpatientsandhealthprofessionals/>
- Charalambous, C., Webster, A., & Schuh, M. (2023). Aneuploidy in mammalian oocytes and the impact of maternal ageing. In *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (Vol. 24, Issue 1, pp. 27–44). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00517-3>

- Charron, P. (2020, September). *Miocardopatía dilatada familiar a*. Base de Datos Orphanet.
<https://www.orpha.net/es/disease/detail/154?name=MYBPC3&mode=gene>
- Cobo, A., Coello, A., de los Santos, M. J., Giles, J., Pellicer, A., Remohí, J., & García-Velasco, J. A. (2021). Number needed to freeze: cumulative live birth rate after fertility preservation in women with endometriosis. *Reproductive BioMedicine Online*, 42(4), 725–732. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.12.013>
- Coll, L., Parriego, M., Boada, M., Devesa, M., Arroyo, G., Rodríguez, I., Coroleu, B., Vidal, F., & Veiga, A. (2018). Transition from blastomere to trophectoderm biopsy: Comparing two preimplantation genetic testing for aneuploidies strategies. *Zygote. Cambridge University Press*, 26(3), 191–198.
<https://doi.org/10.1017/S0967199418000084>
- Coll, L., Parriego, M., Carrasco, B., Rodríguez, I., Boada, M., Coroleu, B., Polyzos, N. P., Vidal, F., & Veiga, A. (2022). The effect of trophectoderm biopsy technique and sample handling on artefactual mosaicism. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 39(6), 1333–1340.
<https://doi.org/10.1007/s10815-022-02453-9>
- Coroleu Lletget, B., & Fuente Bitaine, L. de la. (2021). *Guías Clínicas SEF: Estudio inicial de reproducción: pareja con disfunción reproductiva*.
- Cox, C. M., Thoma, M. E., Tchangalova, N., Mburu, G., Bornstein, M. J., Johnson, C. L., & Kiarie, J. (2022). Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Open*, 2022(4). <https://doi.org/10.1093/hropen/hoac051>
- Croft, J., & Olpin, S. (2019, May). *Deficiencia sistémica primaria de carnitina*. Base de Datos Orphanet.
- Cuevas, I., Cabello, Y., De Prados, A., Figueroa, M. J., Franco, Y., González, C., Martínez, L., Meseguer, M., Noblom, R., & Pons, M. C. (2023). *Guía de Buenas Prácticas en Embriología Clínica* (1st ed.). Editorial Médica Panamericana.
- D'Angelo, A., Panayotidis, C., Amso, N., Marci, R., Matorras, R., Onofriescu, M., Turp, A. B., Vandekerckhove, F., Veleva, Z., Vermeulen, N., & Vlaisavljevic, V. (2019). Recommendations for good practice in ultrasound: oocyte pick up†. *Human Reproduction Open*, 2019(4). <https://doi.org/10.1093/hropen/hoz025>
- Dargaud, Y., & Fenaux, P. (2022, March). *Hemofilia A*. Base de Datos Orphanet.
[https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=13895&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=hemofilia-A&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Hemofilia-A&title=Hemofilia%20A&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=13895&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=hemofilia-A&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Hemofilia-A&title=Hemofilia%20A&search=Disease_Search_Simple)

- De Los Santos, M. J., Apter, S., Coticchio, G., Debrock, S., Lundin, K., Plancha, C. E., Prados, F., Rienzi, L., Verheyen, G., Woodward, B., & Vermeulen, N. (2016). Revised guidelines for good practice in IVF laboratories. *Human Reproduction*, 31(4), 685–686. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew016>
- De Rycke, M., Goossens, V., Kokkali, G., Meijer-Hoogeveen, M., Coonen, E., & Moutou, C. (2017). ESHRE PGD Consortium data collection XIV-XV: Cycles from January 2011 to December 2012 with pregnancy follow-up to October 2013. *Human Reproduction*, 32(10), 1974–1994. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex265>
- Dean, F. B., Hosono, S., Fang, L., Wu, X., Fawad Faruqi, A., Bray-Ward, P., Sun, Z., Zong, Q., Du, Y., Du, J., Driscoll, M., Song, W., Kingsmore, S. F., Egholm, M., & Lasken, R. S. (2002). *Comprehensive human genome amplification using multiple displacement amplification*. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.082089499
- Devall, A. J., Papadopoulou, A., Podesek, M., Haas, D. M., Price, M. J., Coomarasamy, A., & Gallos, I. D. (2021). Progestogens for preventing miscarriage: a network meta-analysis. In *Cochrane Database of Systematic Reviews* (Vol. 2021, Issue 4). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013792.pub2>
- Doz, F. (2019). *Retinoblastoma*. Base de Datos Orphanet. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=ES&Expert=790
- ESHRE Special Interest Group of Embryology, & Alpha Scientists in Reproductive Medicine. (2017). The Vienna consensus: Report of an expert meeting on the development of art laboratory performance indicators. *Human Reproduction Open*, 2017(2). <https://doi.org/10.1093/hropen/hox011>
- Fardeau, M. (2009, April). *Distrofia muscular congénita merosina negativa*. Base de Datos Orphanet.
- Fareed, M., & Afzal, M. (2017). Genetics of consanguinity and inbreeding in health and disease. In *Annals of Human Biology* (Vol. 44, Issue 2, pp. 99–107). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/03014460.2016.1265148>
- Ferrer Robles, E., Fernández Díaz, M., Mauri López, A., Ortiz Piñate, N., Olmedo Illueca, C., Sánchez Castro, L., & Veiga Álvarez, E. (2021). *Cuadernos de embriología clínica : recomendaciones sobre recursos humanos, físicos y calidad*.
- Fesahat, F., Montazeri, F., & Hoseini, S. M. (2020). Preimplantation genetic testing in assisted reproduction technology. In *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction* (Vol. 49, Issue 5). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2020.101723>

- Fiorentino, F., Biricik, A., Nuccitelli, A., De Palma, R., Kahraman, S., Iacobelli, M., Trengia, V., Caserta, D., Bonu, M. A., Borini, A., & Baldi, M. (2006). Strategies and clinical outcome of 250 cycles of preimplantation genetic diagnosis for single gene disorders. *Human Reproduction*, *21*(3), 670–684.
<https://doi.org/10.1093/humrep/dei382>
- Fiorentino, F., Magli, M. C., Podini, D., Ferraretti, A. P., Nuccitelli, A., Vitale, N., Baldi, M., & Gianaroli, L. (2003). The minisequencing method: An alternative strategy for preimplantation genetic diagnosis of single gene disorders. *Molecular Human Reproduction*, *9*(7–8), 399–410.
<https://doi.org/10.1093/molehr/gag046>
- Fishel, S. (2018). First in vitro fertilization baby—this is how it happened. In *Fertility and Sterility* (Vol. 110, Issue 1, pp. 5–11). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.03.008>
- Forman, E. J., Hong, K. H., Treff, N. R., & Scott, R. T. (2012). Comprehensive chromosome screening and embryo selection: Moving toward single euploid blastocyst transfer. *Seminars in Reproductive Medicine*, *30*(3), 236–242.
<https://doi.org/10.1055/s-0032-1311526>
- Fragouli, E., Alfarawati, S., Daphnis, D. D., Goodall, N. N., Mania, A., Griffiths, T., Gordon, A., & Wells, D. (2011). Cytogenetic analysis of human blastocysts with the use of FISH, CGH and aCGH: Scientific data and technical evaluation. *Human Reproduction*, *26*(2), 480–490.
<https://doi.org/10.1093/humrep/deq344>
- Gardner, D. K., Phil, D., Vella, P., Lane, M., Wagley, L., & Schlenker, T. (1998). Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rates and reduces the need for multiple embryo transfers. *Fertility and Sterility*, *69*.
- Gómez Duro, Á. (2018). *SECUENCIACIÓN MASIVA (NGS): DESARROLLO, VALIDACIÓN Y APLICABILIDAD EN EL DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL (DGP)*. Universidad Autónoma de Madrid.
- Gross, M. B. (2022, December). *MUSCULAR DYSTROPHY, DUCHENNE TYPE; DMD*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/310200>
- Grupo del Registro Estatal de Enfermedades Raras. (2023). Informe ReeR 2023: Situación de las Enfermedades Raras en España. In *Ministerio de Sanidad Centro de Publicaciones*.
- Hamosh, A. (2017, July). *MYOTONIC DYSTROPHY 1; DM1*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/160900>
- Hamosh, A. (2018a, June). *TOWNES-BROCKS SYNDROME 1; TBS1*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/107480>

- Hamosh, A. (2018b, December). *NOONAN SYNDROME 10; NS10*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/616564>
- Hamosh, A. (2019, March). *CEREBRAL CAVERNOUS MALFORMATIONS; CCM*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/116860?search=gen%20krit1&highlight=gen%20krit1>
- Hamosh, A. (2023, March). *CYSTIC FIBROSIS; CF*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/219700>
- Handyside, A. H., Harton, G. L., Mariani, B., Thornhill, A. R., Affara, N., Shaw, M. A., & Griffin, D. K. (2010). Karyomapping: A universal method for genome wide analysis of genetic disease based on mapping crossovers between parental haplotypes. *Journal of Medical Genetics*, *47*(10), 651–658. <https://doi.org/10.1136/jmg.2009.069971>
- Handyside A H, Kontogianni E H, Hardy K, & Winston R M. (1990). Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature*.
- Handyside, A. H., Pattinson, J. K., Delhanty, J. D. A., & Tuddenham, E. G. D. (1989). BIOPSY OF HUMAN PREIMPLANTATION EMBRYOS AND SEXING BY DNA AMPLIFICATION. *The Lancet*, 347–349.
- Harper, J. (2009). *Preimplantation Genetic Diagnosis* (J. Harper, Ed.; 2nd ed.). Cambridge University Press.
- Harper, J. C., Coonen, E., Ramaekers, F. C. S., Delhanty, J. D. A., Handy Side, A. H., Winston, R. M. L., & Hopman, A. H. N. (1994). Identiflcation of the sex of human preimplantation embryos in two hours using an improved spreading method and fluorescent in-situ hybridization (FISH) using directly labelled probes. In *Human Reproduction* (Vol. 9, Issue 4). <https://academic.oup.com/humrep/article-abstract/9/4/721/612789>
- Harton, G. L., De Rycke, M., Fiorentino, F., Moutou, C., Sengupta, S., Traeger-Synodinos, J., & Harper, J. C. (2011). ESHRE PGD consortium best practice guidelines for amplification-based PGD. *Human Reproduction*, *26*(1), 33–40. <https://doi.org/10.1093/humrep/deq231>
- Harton, G. L., Magli, M. C., Lundin, K., Montag, M., Lemmen, J., & Harper, J. C. (2010). ESHRE PGD Consortium/Embryology Special Interest Group best practice guidelines for polar body and embryo biopsy for preimplantation genetic diagnosis/screening (PGD/PGS). *Human Reproduction*, *26*(1), 41–46. <https://doi.org/10.1093/humrep/deq265>
- Hennekam, R., & Maas, S. (2023, March). *Síndrome trico-rino-falángico tipo 1*. Base de Datos Orphanet.

<https://www.orpha.net/es/disease/detail/77258?name=fal%C3%A1ngico&mode=name>

HHT Working Group. (2019, January). *Telangiectasia hemorrágica hereditaria*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=236&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Telangiectasia-hemorr-gica-hereditaria&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Telangiectasia-hemorr-gica-hereditaria&title=Telangiectasia%20hemorr%E1gica%20hereditaria&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=236&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Telangiectasia-hemorr-gica-hereditaria&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Telangiectasia-hemorr-gica-hereditaria&title=Telangiectasia%20hemorr%E1gica%20hereditaria&search=Disease_Search_Simple)

Hurtado de Mendoza, M. V., Cuadros, J., De los Santos, M. J., Figueroa, M. J., & Prados, F. J. (2015). *CUADERNOS DE EMBRIOLOGÍA CLÍNICA. Criterios ASEBIR de Valoración Morfológica de Oocitos, Embriones Tempranos y Blastocistos Humanos*. www.gobalo.es

Jiménez González, J. (2017). *DEFINICIÓN DE CONCEPTOS JURÍDICOS VS. LISTADO DE ENFERMEDADES SUSCEPTIBLES COMO SOLUCIONES RESPECTO AL USO DEL DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL*. <http://revistas.um.es/bioderecho>

Joris, H., Nagy, Z., Van de Velde, H., De Vos, A., & Van Steirteghem, A. (1998). Intracytoplasmic sperm injection: laboratory set-up and injection procedure. *Human Reproduction*, 76–86. https://academic.oup.com/humrep/article/13/suppl_1/76/789107

Jungbluth, H. (2007, May). *Enfermedad central core*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=65&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=117000&Disease_Disease_Search_diseaseType=OMIM&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Enfermedad-central-core&title=Enfermedad%20central%20core&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=65&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=117000&Disease_Disease_Search_diseaseType=OMIM&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Enfermedad-central-core&title=Enfermedad%20central%20core&search=Disease_Search_Simple)

Jurecka, A., & Tylki-Szymanska, A. (2015, March). *Deficiencia de adenilsuccinato liasa*. Base de Datos Orphanet.

Kamm, C. (2013, November). *Síndrome de distonía-mioclonía*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=10437&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sgce&Disease_Disease_Search_diseaseType=Gen&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=S-ndrome-de-diston-a-mioclon-a&title=S%EDndrome%20de%20diston%EDa-mioclon%EDa&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=10437&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sgce&Disease_Disease_Search_diseaseType=Gen&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=S-ndrome-de-diston-a-mioclon-a&title=S%EDndrome%20de%20diston%EDa-mioclon%EDa&search=Disease_Search_Simple)

Kelly, J. (2016, April). *RETINITIS PIGMENTOSA 2; RP2*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/312600?search=312600&highlight=312600>

- Kimelman, D., & Pavone, M. E. (2021). Non-invasive prenatal testing in the context of IVF and PGT-A. In *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology* (Vol. 70, pp. 51–62). Bailliere Tindall Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2020.07.004>
- Kniffin, C. L. (2008, March). *MULTIPLE ENDOCRINE NEOPLASIA, TYPE I; MEN1*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/131100>
- Kniffin, C. L. (2009, February). *NAIL-PATELLA SYNDROME; NPS*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/161200>
- Kniffin, C. L. (2013, March). *DYSTONIA 11, MYOCLONIC; DYT11*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/159900>
- Kniffin, C. L. (2014a, February). *DIAMOND-BLACKFAN ANEMIA 6; DBA6*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/612561?search=rpl5&highlight=rpl5>
- Kniffin, C. L. (2014b, April). *SPASTIC PARAPLEGIA 4, AUTOSOMAL DOMINANT; SPG4*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/182601?search=gen%20SPAST&highlight=gen%20spast>
- Kniffin, C. L. (2014c, August). *Síndrome de Poretti-Boltshauser*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/615960>
- Kniffin, C. L. (2019, April). *BRAIN SMALL VESSEL DISEASE 1 WITH OR WITHOUT OCULAR ANOMALIES*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/175780>
- Kniffin, C. L. (2023, February). *CONGENITAL MYOPATHY 1A, AUTOSOMAL DOMINANT, WITH SUSCEPTIBILITY TO MALIGNANT HYPERTHERMIA; CMYP1A*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/117000>
- Kohlhase, J. (2013, October). *Síndrome Townes-Brocks*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=218&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sindrome-townes&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=S-ndrome-de-Townes-Brocks&title=S%EDndrome%20de%20Townes-Brocks&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=218&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sindrome-townes&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=S-ndrome-de-Townes-Brocks&title=S%EDndrome%20de%20Townes-Brocks&search=Disease_Search_Simple)
- Kokkali, G., Coticchio, G., Bronet, F., Celebi, C., Cimadomo, D., Goossens, V., Liss, J., Nunes, S., Sfontouris, I., Vermeulen, N., Zakharova, E., & De Rycke, M. (2020). ESHRE PGT Consortium and SIG Embryology good practice recommendations for polar body and embryo biopsy for PGT. *Human Reproduction Open*, 2020(3). <https://doi.org/10.1093/hropen/hoaa020>
- Kokkali, G., Traeger-Synodinos, J., Vrettou, C., Stavrou, D., Jones, G. M., Cram, D. S., Makrakis, E., Trounson, A. O., Kanavakis, E., & Pantos, K. (2007). Blastocyst

biopsy versus cleavage stage biopsy and blastocyst transfer for preimplantation genetic diagnosis of β -thalassaemia: A pilot study. *Human Reproduction*, 22(5), 1443–1449. <https://doi.org/10.1093/humrep/del506>

Kuwayama, M., Vajta, G., Kato, O., & Leibo, S. P. (2005). Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reproductive BioMedicine Online*, 11(3), 300–308. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60837-1](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60837-1)

Labarta, E., Bosch, E., Mercader, A., Alamá, P., Mateu, E., & Pellicer, A. (2017). A Higher Ovarian Response after Stimulation for IVF Is Related to a Higher Number of Euploid Embryos. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5637923>

Lashwood A. (2009). Genetic counseling. In Harper Joyce C (Ed.), *Preimplantation Genetic Diagnosis* (2nd ed., pp. 86–94).

Leblanc, T. (2009, September). *Anemia de Blackfan-Diamond*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=429&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=ANEMIA-DE-BLACKFAN-DIAMOND-&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Anemia-de-Blackfan-Diamond&title=Anemia%20de%20Blackfan-Diamond&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=429&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=ANEMIA-DE-BLACKFAN-DIAMOND-&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Anemia-de-Blackfan-Diamond&title=Anemia%20de%20Blackfan-Diamond&search=Disease_Search_Simple)

Leger, J. (2022, February). *Hiperplasia suprarrenal congénita clásica por deficiencia de 21-hidroxilasa*. Base de Datos Orphanet.

Legius, E. (2014, July). *Neurofibromatosis tipo 1*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=185&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Neurofibromatosis-1&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Neurofibromatosis-tipo-1&title=Neurofibromatosis%20tipo%201&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=185&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Neurofibromatosis-1&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Neurofibromatosis-tipo-1&title=Neurofibromatosis%20tipo%201&search=Disease_Search_Simple)

León-León, J., & Palomar-Rodríguez, J. (2010). COSTE DE LAS ALTAS HOSPITALARIAS CON DIAGNÓSTICO PRINCIPAL DE ENFERMEDAD RARA. REGIÓN DE MURCIA, 2002-2007. In *Servicio de Planificación y Financiación Sanitaria. Consejería de Sanidad y Consumo*. . www.murciasalud.es/planificacion

Ley 14/2006 Sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida (2006).

Lige, B. (2020, August). *BRCA1 DNA REPAIR-ASSOCIATED PROTEIN; BRCA1*. Base de Datos OMIM. <https://www.omim.org/entry/113705>

Lige, B. (2022, October). *CYSTIC FIBROSIS TRANSMEMBRANE CONDUCTANCE REGULATOR; CFTR*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/602421>

- Liou, T. (2020, October). *Fibrosis quística*. Base de Datos Orphanet.
[https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=49&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=fibrosis-quistica&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Fibrosis-quistica&title=Fibrosis%20quística&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=49&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=fibrosis-quistica&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Fibrosis-quistica&title=Fibrosis%20quística&search=Disease_Search_Simple)
- López-Rivera, J. A., Pérez-Palma, E., Symonds, J., Lindy, A. S., McKnight, D. A., Leu, C., Zuberi, S., Brunklaus, A., Møller, R. S., & Lal, D. (2020). A catalogue of new incidence estimates of monogenic neurodevelopmental disorders caused by de novo variants. *Brain a Journal of Neurology*, *143*(3), 1046–1048.
<https://doi.org/10.1093/brain/awaa079>
- Magli, M. C., Gianaroli, L., Ferraretti, A. P., Lappi, M., Ruberti, A., & Farfalli, V. (2007). Embryo morphology and development are dependent on the chromosomal complement. *Fertility and Sterility*, *87*(3), 534–541.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.07.1512>
- Maheshwari, A., Pandey, S., Raja, E. A., Shetty, A., Hamilton, M., & Bhattacharya, S. (2018). Is frozen embryo transfer better for mothers and babies? Can cumulative meta-analysis provide a definitive answer? *Human Reproduction Update*, *24*(1), 35–58. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DMX031>
- Mastenbroek, S., Twisk, M., van der Veen, F., & Repping, S. (2011). Preimplantation genetic screening: A systematic review and meta-analysis of RCTs. *Human Reproduction Update*, *17*(4), 454–466.
<https://doi.org/10.1093/humupd/dmr003>
- McCulloh, D. H., Alikani, M., Norian, J., Kolb, B., Arbones, J. M., & Munné, S. (2019). Controlled ovarian hyperstimulation (COH) parameters associated with euploidy rates in donor oocytes. *European Journal of Medical Genetics*, *62*(8).
<https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2019.103707>
- McKusick, V. A., & Bocchini, C. A. (2023, August). *CARDIOMYOPATHY, FAMILIAL HYPERTROPHIC, 1; CMH1*. Base de Datos OMIM.
<https://omim.org/entry/182900>
- McKusick, V. A., & Kniffin, C. L. (2021, May). *NEMALINE MYOPATHY 2; NEM2*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/256030>
- Mekahli, D. (2020, October). *Poliquistosis renal*. Base de Datos Orphanet.
[https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=823&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=enfermedad-poliquistica-renal&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Enfermedad-renal-poliquistica-autosmica](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=823&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=enfermedad-poliquistica-renal&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Enfermedad-renal-poliquistica-autosmica)

dominante&title=Enfermedad%20renal%20poliqu%EDstica%20autos%F3mica
%20dominante&search=Disease_Search_Simple

- Meldrum, D. R. (1993). *Female reproductive aging-ovarian and uterine factors* (Vol. 59, Issue 1).
- Meola, G. (2020, August). *Distrofia miotónica de Steinert*. Base de Datos Orphanet. https://www.orpha.net/consor/www/cgi-bin/OC_Exp.php?Ing=ES&Expert=273
- Mercuri, E. (2021, January). *Atrofia muscular espinal proximal tipo 1*. Base de Datos Orphanet. <https://www.orpha.net/es/disease/detail/83330?name=253300&mode=omim>
- Minasi, M. G., Colasante, A., Riccio, T., Ruberti, A., Casciani, V., Scarselli, F., Spinella, F., Fiorentino, F., Varricchio, M. T., & Greco, E. (2016). Correlation between aneuploidy, standard morphology evaluation and morphokinetic development in 1730 biopsied blastocysts: A consecutive case series study. *Human Reproduction*, 31(10), 2245–2254. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew183>
- Minasi, M. G., Fiorentino, F., Ruberti, A., Biricik, A., Cursio, E., Cotroneo, E., Varricchio, M. T., Surdo, M., Spinella, F., & Greco, E. (2017). Genetic diseases and aneuploidies can be detected with a single blastocyst biopsy: A successful clinical approach. *Human Reproduction*, 32(8), 1770–1777. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex215>
- Munné, S., & Wells, D. (2017). Detection of mosaicism at blastocyst stage with the use of high-resolution next-generation sequencing. In *Fertility and Sterility* (Vol. 107, Issue 5, pp. 1085–1091). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.03.024>
- Nagy, Z. P., Liu, J., Bocken, G., Desmet, B., Ranst, H. Van, Vankelecom, A., Devroey, P., & Steirteghem, A. C. Van. (1995). The influence of the site of sperm deposition and mode of oolemma breakage at intracytoplasmic sperm injection on fertilization and embryo development rates. In *Human Reproduction* (Vol. 10, Issue 12).
- Nair, J., Shetty, S., Kasi, C. I., Thondehalmath, N., Ganesh, D., Bhat, V. R., Mannadia, S., Ranganath, A., Nayak, R., Gunasheela, D., & Shetty, S. (2022). Preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A)—a single-center experience. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 39(3), 729–738. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02413-3>
- Nieto, A., Quiñonero, J. M., & Cascales, P. A. (2022). *Obstetricia y Ginecología*. Elsevier.
- OMS. (2019). *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems* (10th ed.). <https://icd.who.int/browse10/2019/en#/N97>

- O'Neill, M. J. (2015, June). *CARDIOMYOPATHY, FAMILIAL HYPERTROPHIC, 4; CMH4*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/115197?search=%22mybpc3%20gene%22&highlight=%22mybpc3%20gene%22>
- O'Neill, M. J. F. (2006, April). *SHORT QT SYNDROME 1; SQT1*. Base de Datos OMIM. <https://www.omim.org/entry/609620?search=609620&highlight=609620>
- O'Neill, M. J. F. (2021, January 19). *EPIPHYSEAL DYSPLASIA, MULTIPLE, 1; EDM1*. Base de Datos OMIM.
- O'Neill, M. J. F. (2022, January). *MUENKE SYNDROME; MNKES*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/602849>
- Palermo, G., Joris, H., Devroey, P., & Van Steirteghem, A. C. (1992). Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, *340*(8810), 17–18.
- Palomar Rodríguez, J. A., & Mira Escolano, M. P. (2015). *PREVALENCIA DE ENFERMEDADES RARAS EN LA REGIÓN DE MURCIA*. www.murciasalud.es/sier
- Pareyson, D., & Pisciotta, C. (2016, March). *Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth tipo 1*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=10878&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=CHARCOT-MARIE-TOOTH-&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Enfermedad-de-Charcot-Marie-Tooth-tipo-1&title=Enfermedad%20de%20Charcot-Marie-Tooth%20tipo%201&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=10878&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=CHARCOT-MARIE-TOOTH-&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Enfermedad-de-Charcot-Marie-Tooth-tipo-1&title=Enfermedad%20de%20Charcot-Marie-Tooth%20tipo%201&search=Disease_Search_Simple)
- Patki, A., Bavishi, H., Kumari, C., Kamraj, J., Venugopal, M., Kunjimoideen, K., Nadkarni, P., Sankari, S., Chaudhary, S., Sangeeta, M., Manjunath, C., & Kumar, P. (2018). Urinary versus recombinant gonadotropins for ovarian stimulation in women undergoing treatment with assisted reproductive technology. *Journal of Human Reproductive Sciences*, *11*(2), 119–124. https://doi.org/10.4103/jhrs.JHRS_79_17
- Piñero, A., García-Marcos, L., Viguera, P., & García, R. (n.d.). *Guía de Investigación. Comité Ético de Investigación clínica (HCUVA)*.
- Plá, J., & Vendrell, X. (2022). *Guía SEF de Genética Reproductiva*.
- Poli, M., Girardi, L., Fabiani, M., Moretto, M., Romanelli, V., Patassini, C., Zuccarello, D., & Capalbo, A. (2019). Past, present, and future strategies for enhanced assessment of embryo's genome and reproductive competence in women of advanced reproductive age. In *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 10, Issue MAR). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00154>

- Polyzos, N. P., Drakopoulos, P., Parra, J., Pellicer, A., Santos-Ribeiro, S., Tournaye, H., Bosch, E., & Garcia-Velasco, J. (2018). Cumulative live birth rates according to the number of oocytes retrieved after the first ovarian stimulation for in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a multicenter multinational analysis including ~15,000 women. *Fertility and Sterility*, *110*(4), 661-670.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.04.039>
- Quenby, S., Gallos, I. D., Dhillon-Smith, R. K., Podsek, M., Stephenson, M. D., Fisher, J., Brosens, J. J., Brewin, J., Ramhorst, R., Lucas, E. S., McCoy, R. C., Anderson, R., Daher, S., Regan, L., Al-Memar, M., Bourne, T., MacIntyre, D. A., Rai, R., Christiansen, O. B., ... Coomarasamy, A. (2021). Miscarriage matters: the epidemiological, physical, psychological, and economic costs of early pregnancy loss. In *The Lancet* (Vol. 397, Issue 10285, pp. 1658–1667). Elsevier B.V. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00682-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00682-6)
- Real Decreto 1091 (2015). <http://www.boe.es>
- Remohí, J. A., Bellver, J., Matorras, R., Ballesteros, A., & Pellicer, A. (2012). *Manual práctico de Esterilidad y Reproducción Humana. Aspectos clínicos* (4th ed.). Editorial Panamericana.
- Remohí, J. A., Cobo, A. C., Prados, N., Romero, J. L., & Pellicer, A. (2013). *Manual práctico de Esterilidad y Reproducción Humana. Laboratorio de reproducción asistida* (4th ed.). Editorial Médica Panamericana.
- Renwick, P. J., Trussler, J., Ostad-Saffari, E., Fassihi, H., Black, C., Braude, P., Ogilvie, C. M., & Abbs, S. (2006). Proof of principle and first cases using preimplantation genetic haplotyping - A paradigm shift for embryo diagnosis. *Reproductive BioMedicine Online*, *13*(1), 110–119. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)62024-X](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)62024-X)
- Renwick, P., Trussler, J., Lashwood, A., Braude, P., & Ogilvie, C. M. (2010). Preimplantation genetic haplotyping: 127 diagnostic cycles demonstrating a robust, efficient alternative to direct mutation testing on single cells. *Reproductive BioMedicine Online*, *20*(4), 470–476. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2010.01.006>
- Roos, R. (2011, January). *Enfermedad de Huntington*. Base de Datos Orphanet. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Directory_Professionals.php?lng=ES&data_id=32502&MISSING%20CONTENT=Pr-R-A-C---Raymund--ROOS&title=Pr-R-A-C---Raymund--ROOS&search=Directory_Professionals_Simple
- Rubio, C., Bellver, J., Rodrigo, L., Bosch, E., Mercader, A., Vidal, C., De Los Santos, M. J., Giles, J., Labarta, E., Domingo, J., Crespo, J., Remohí, J., Pellicer, A., & Simón, C. (2013). Preimplantation genetic screening using fluorescence in situ hybridization in patients with repetitive implantation failure and advanced

maternal age: Two randomized trials. *Fertility and Sterility*, 99(5), 1400–1407.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.11.041>

Ryan, M. (2011, October). *Miopatía nemalínica típica*. Base de Datos Orphanet.
<https://www.orpha.net/es/disease/detail/171436?name=nemal%C3%ADnica&mode=name>

Sacconi, S. (2020, November). *Distrofia facioescapulohumeral*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=62&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=158900&Disease_Disease_Search_diseaseType=OMIM&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Distrofia-facioescapulohumeral&title=Distrofia%20facioescapulohumeral&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=62&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=158900&Disease_Disease_Search_diseaseType=OMIM&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Distrofia-facioescapulohumeral&title=Distrofia%20facioescapulohumeral&search=Disease_Search_Simple)

Salinas, M., López-Garrigós, M., Gutiérrez, M., Lugo, J., Sirvent, J. V., & Uris, J. (2010). Achieving continuous improvement in laboratory organization through performance measurements: A seven-year experience. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 48(1), 57–61. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2010.003>

Sangiorgi, L. (2020, October). *Síndrome uña-rótula*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=392&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sindrome-u-a-rotula&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=S-ndrome-u-a-r-tula&title=S%EDndrome%20u%F1a-r%F3tula&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=392&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sindrome-u-a-rotula&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=S-ndrome-u-a-r-tula&title=S%EDndrome%20u%F1a-r%F3tula&search=Disease_Search_Simple)

Santillán-Garzón, S., Diego-Álvarez, D., Buades, C., Romera-López, A., Phd, G., Miñambres, R., & Ballester, A. (2015). DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE ENFERMEDADES GENÉTICAS: DEL DIAGNÓSTICO GENÉTICO AL DIAGNÓSTICO GENÓMICO CON LA SECUENCIACIÓN MASIVA. *Revista Médica de Clínica Las Condes*, 458–469.

Schwartz, P. (2020, August). *Síndrome de QT largo familiar (SQTL)*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=14727&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=kcnh2&Disease_Disease_Search_diseaseType=Gen&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=S-ndrome-de-Romano-Ward&title=S%EDndrome%20de%20Romano-Ward&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=14727&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=kcnh2&Disease_Disease_Search_diseaseType=Gen&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=S-ndrome-de-Romano-Ward&title=S%EDndrome%20de%20Romano-Ward&search=Disease_Search_Simple)

Scott, R. T., Upham, K. M., Forman, E. J., Zhao, T., & Treff, N. R. (2013). Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: A randomized and paired clinical trial. *Fertility and Sterility*, 100(3), 624–630.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.04.039>

- Shenfield, F., Pennings, G., Devroey, P., Sureau, C., Tarlatzis, B., Cohen, J., Ferraretti, A. P., Gianaroli, L., & Liebaers, I. (2003). Taskforce 5: Preimplantation genetic diagnosis. *Human Reproduction*, *18*(3), 649–651. <https://doi.org/10.1093/humrep/deg110>
- Sonja A. Rasmussen. (2019, May). *TELANGIECTASIA, HEREDITARY HEMORRHAGIC, TYPE 2*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/600376>
- Stumpf, A. M. (2021, November). *AXENFELD-RIEGER SYNDROME, TYPE 1; RIEG1*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/180500>
- Sunkara, S. K., Rittenberg, V., Raine-Fenning, N., Bhattacharya, S., Zamora, J., & Coomarasamy, A. (2011). Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: An analysis of 400 135 treatment cycles. *Human Reproduction*, *26*(7), 1768–1774. <https://doi.org/10.1093/humrep/der106>
- Thuret, I. (2011, April). *Beta Talasemia*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=51&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=beta-talasemia&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Beta-talasemia&title=Beta-talasemia&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=51&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=beta-talasemia&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Beta-talasemia&title=Beta-talasemia&search=Disease_Search_Simple)
- Tiller, G. E. (2011, November). *POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE 1 WITH OR WITHOUT POLYCYSTIC LIVER DISEASE*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/173900>
- Tournier-Lasserre, E. (2019, August). *Malformación cavernosa cerebral hereditaria*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=18935&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Cavernoma-cerebral-familiar&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Malformaci-n-cavernosa-cerebral-hereditaria&title=Malformaci%F3n%20cavernosa%20cerebral%20hereditaria&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=18935&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Cavernoma-cerebral-familiar&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Malformaci-n-cavernosa-cerebral-hereditaria&title=Malformaci%F3n%20cavernosa%20cerebral%20hereditaria&search=Disease_Search_Simple)
- Travassos, D. E., Park J., Zaninovic N., & Veeck L. L. (2001). Does time between hyaluronidase exposure and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) influence pregnancy rate? *FERTILITY & STERILITY*, *76*, 768.
- Vaiarelli, A., Cimadomo, D., Scarafia, C., Innocenti, F., Amendola, M. G., Fabozzi, G., Casarini, L., Conforti, A., Alviggi, C., Gennarelli, G., Benedetto, C., Guido, M., Borini, A., Rienzi, L., & Ubaldi, F. M. (2023). Metaphase-II oocyte competence is unlinked to the gonadotrophins used for ovarian stimulation: a matched case–control study in women of advanced maternal age. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, *40*(1), 169–177. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02684-w>

- Van Wely, M., Kwan, I., Burt, A. L., Thomas, J., Vail, A., Van der Veen, F., & Al-Inany, H. G. (2011). Recombinant versus urinary gonadotrophin for ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd005354.pub2>
- Veiga, A., Sandalinas, M., Benkhalifa, M., Boada, M., Carrera, M., Santalo, }, Barri, P. N., & Menezo, Y. (1997). Laser blastocyst biopsy for preimplantation diagnosis in the human. In *Zygote* (Vol. 5).
- Verloes, A. (2006, October). *Síndrome de Neu-Laxova*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=2439&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Neu-Laxova&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Síndrome-de-Neu-Laxova&title=Síndrome%20de%20Neu-Laxova&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=2439&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Neu-Laxova&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Síndrome-de-Neu-Laxova&title=Síndrome%20de%20Neu-Laxova&search=Disease_Search_Simple)
- Verloes, A. (2020). *Síndrome de Noonan*. Base de Datos Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=206&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=síndrome-de-noonan&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Síndrome-de-Noonan&title=Síndrome%20de%20Noonan&search=Disease_Search_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=206&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=síndrome-de-noonan&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Síndrome-de-Noonan&title=Síndrome%20de%20Noonan&search=Disease_Search_Simple)
- Vernon, H. J. (2022a). *Osteogénesis imperfecta tipo 1*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/166200>
- Vernon, H. J. (2022b, January). *HURLER SYNDROME*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/607014>
- Vernon, H. J. (2022c, February). *CONGENITAL DISORDER OF GLYCOSYLATION, TYPE Ia*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/212065>
- Vernon, H. J. (2023, October). *FACIOSCAPULOHUMERAL MUSCULAR DYSTROPHY 1; FSHD1*. Base de Datos OMIM. <https://omim.org/entry/158900?search=158900&highlight=158900>
- Vicart, S., & Villar, N. (2023, June). *Paramiotonía congénita de Von Eulenburg*. Base de Datos Orphanet. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?data_id=76&lng=en
- Watson, J., & Crick, F. (1953). Molecular Structure of Nucleic Acids. *Nature*, 171, 192.
- Wei, D., Liu, J. Y., Sun, Y., Shi, Y., Zhang, B., Liu, J. Q., Tan, J., Liang, X., Cao, Y., Wang, Z., Qin, Y., Zhao, H., Zhou, Y., Ren, H., Hao, G., Ling, X., Zhao, J., Zhang, Y., Qi, X.,

... Chen, Z. J. (2019). Frozen versus fresh single blastocyst transfer in ovulatory women: a multicentre, randomised controlled trial. *The Lancet*, *393*(10178), 1310–1318. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32843-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32843-5)

Wikland, M., Enk, L., & Hamberger, L. (1985). Transvesical and transvaginal approaches for the aspiration of follicles by the use of ultrasound. *Annals of the New York Academy of Science*, 182–194.

Wong, K. M., van Wely, M., Mol, F., Repping, S., & Mastenbroek, S. (2017). Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, *3*, CD011184. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011184.pub2>

Wong, W. S. W., Solomon, B. D., Bodian, D. L., Kothiyal, P., Eley, G., Huddleston, K. C., Baker, R., Thach, D. C., Iyer, R. K., Vockley, J. G., & Niederhuber, J. E. (2016). New observations on maternal age effect on germline de novo mutations. *Nature Communications*, *7*. <https://doi.org/10.1038/ncomms10486>

Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., Dyer, S., Racowsky, C., de Mouzon, J., Sokol, R., Rienzi, L., Sunde, A., Schmidt, L., Cooke, I. D., Simpson, J. L., & van der Poel, S. (2017). The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Fertility and Sterility*, *108*(3), 393–406. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.06.005>

Zheng, Y. M., Wang, N., Li, L., & Jin, F. (2011). Whole genome amplification in preimplantation genetic diagnosis. In *Journal of Zhejiang University: Science B* (Vol. 12, Issue 1, pp. 1–11). <https://doi.org/10.1631/jzus.B1000196>



9.-ANEXOS

9. ANEXOS

9.1. MEMORIA DE ACTIVIDADES CNRHA 2019-2023 (PROCEDIMIENTO “ABREVIADO”)

Anexo 2.6: Evaluación de informe de solicitudes para la autorización de técnicas de PGT desde la Secretaría de la Comisión

Dada la necesidad de agilizar la gestión y resolución de las solicitudes de informe para la autorización de técnicas de Diagnóstico Genético Preimplantacional (PGT), las cuales se han incrementado de forma considerable sobre todo a expensas de “enfermedades nuevas” (es decir, enfermedades para las que no se habían solicitado previamente técnicas de PGT), en la reunión plenaria de la Comisión celebrada el 19 de septiembre de 2017 se aprobó un listado de 8 enfermedades susceptibles de PGT para las cuales el informe favorable se emitiría directamente desde la Secretaría.

Visto que el número de solicitudes no deja de aumentar y que se ha producido un descenso significativo en los tiempos de evaluación de las solicitudes incluidas en este procedimiento, en la reunión plenaria de la Comisión celebrada el 14 de abril de 2021 se aprueba ampliar el listado de enfermedades incluidas. El listado de las 20 nuevas enfermedades fue revisado, consensuado y acordado por el GT de Asesores clínicos externos, dependiente de la Comisión.

Procedimiento de evaluación “abreviado” de las solicitudes para las cuales el informe favorable se emite directamente desde la Secretaría.

Este proceso consta de los siguientes pasos:

- Una primera evaluación realizada por la Secretaría de la Comisión en base a los requisitos documentales aprobados por la Comisión en mayo de 2019 y que está accesible en la página Web de la Comisión:

<http://www.cnrha.mscbs.gob.es/documentacion/comision/home.htm>

Si la solicitud no está acompañada de algún documento o la información proporcionada no se adapta a los requisitos establecidos por la Comisión, se realiza una solicitud de información adicional a través de la autoridad sanitaria de la comunidad autónoma correspondiente.

- Para la valoración del cumplimiento de los criterios generales de inclusión, la Secretaría de la Comisión solicita el criterio del vocal del Comité Técnico Permanente (o del Pleno en caso de que pudiera existir conflicto de intereses), en representación de la Asociación Española de Genética Humana. Es el encargado de estudiar, analizar y evaluar cada solicitud recibida y de realizar la valoración de los criterios acordados.
- El informe final, es remitido desde la Secretaría de la Comisión a la autoridad sanitaria de la comunidad autónoma correspondiente, que será quien resuelva sobre la autorización para la realización de las técnicas de PGT de cada caso e informe a la entidad solicitante correspondiente.

Enfermedades susceptibles de técnicas PGT para las cuales el informe favorable se emite directamente desde la Secretaría.

Las enfermedades susceptibles de PGT para las cuales las solicitudes de informe recibidas tienen el dictamen favorable desde la Secretaría, siempre y cuando se cumplan los criterios generales de inclusión descritos, son:

- **Neoplasias (Cap. 2)**
 - Cáncer de mama/ovario hereditario (CMOH)
 - Síndrome de Lynch
 - Neoplasia Endocrina Múltiple 1 y 2
 - Cáncer gástrico difuso hereditario
 - Neurofibromatosis tipo 1
 - Poliposis Adenomatosa Familiar: únicamente la forma clásica (quedaría excluida de este procedimiento la Poliposis Adenomatosa Familiar Atenuada por presentar un cuadro clínico más leve).
 - Síndrome de Paraganglioma Hereditario: para mutaciones gen *SDHB*.

- **Enfermedades Endocrinas, Nutritivas y Metabólicas (Cap. 3)**
 - Amiloidosis / Polineuropatía Amiloidótica Familiar
 - Fibrosis quística

- **Enfermedades del Sistema Nervioso y de los Órganos de los Sentidos (Cap. 6)**
 - Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth
 - Enfermedad de Huntington
 - Distrofia Muscular Facio-Escápulo-Humeral: solo la forma clásica.
 - Actualmente, el estudio de PGT-M de la distrofia Facio-escápulo-humeral se basa en análisis de ligamiento y puede presentar problemas técnicos que afecten a la sensibilidad del mismo.

La ESHRE indica que el PGT-M de esta enfermedad puede tener un riesgo de ausencia de diagnóstico algo mayor que el habitual en PGT-M, que es del 10%, y que debe asesorarse a la pareja específicamente en este aspecto, así como recomendar la necesidad de estudio prenatal en caso de gestación (Calvalho et al, 2020, ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of monogenic disorders. Hum Repr Open 1-18, doi:10.1093/hropen/hoaa018).

En estos casos, se deberá justificar que se dispone de un método fiable para realizar el PGT y los formularios de consentimiento informado deberán incluir información para los interesados respecto a que el PGT-M de esta enfermedad puede tener un riesgo de ausencia de diagnóstico algo mayor que el habitual en PGT-M, que es del 10%, y se deberá asesorar a la pareja específicamente en este aspecto, así como recomendar la necesidad de estudio prenatal en caso de gestación siguiendo las indicaciones de la ESHRE.
 - Distrofia Miotónica Steinert
 - Retinosis Pigmentaria

- **Enfermedades del Sistema Circulatorio (Cap. 7)**
 - CADASIL.
 - Miocardiopatía arritmogénica.

- Miocardiopatía dilatada: solo para los genes asociados a formas sindrómicas: *TAZ, DSP, DMD, EMD, FHL1, LMNA, HFE, MYH7*
 - o En estos casos, además de los criterios anteriores, deberá estar justificada la presentación claramente familiar y con antecedentes de muerte súbita.
- Miocardiopatía hipertrófica obstructiva: solo para mutaciones en los genes *MYBPC3* y *MYH7*.
- Síndrome de Q-T largo: solo para mutaciones en los genes *KCNQ1* y *KCNH2*.
- Taquicardia ventricular: solo para mutación en el gen *RYR2*.
- Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria: solo para mutaciones en los genes *ACVRL1* y *ENG*.

• **Anomalías Congénitas (Cap. 14)**

- Síndrome de Von Hippel-Lindau
- Poliquistosis Renal
- Osteogénesis Imperfecta tipo 2
- Síndrome de Alport: en los casos de enfermedad autosómica recesiva y en los casos de varones ligado a X.
- Síndrome de Brugada.
- Cavernomatosis familiar: en los casos de mutación en el gen *PDCD10* o historia familiar (familias en las que hay varios miembros gravemente afectados por CCM en los ganglios basales, en la médula espinal o en la protuberancia cerebral).

Criterios de inclusión/exclusión para valorar las solicitudes a través de este procedimiento de evaluación.

Las enfermedades susceptibles de PGT para las cuales las solicitudes de informe recibidas tienen el dictamen favorable desde la Secretaría, cumplen con los siguientes criterios generales de inclusión:

Criterios generales de inclusión:

1. Solicitud de las técnicas de PGT para una mutación reconocida por la literatura como patogénica⁶.
2. Para enfermedades autosómicas dominantes: presencia de la mutación en uno de los miembros de la pareja.
3. Para enfermedades autosómicas recesivas: presencia de la mutación en los dos miembros de la pareja.

Criterios de exclusión:

- o El progenitor afecto tiene graves problemas físicos, mentales, psicológicos o psiquiátricos relacionados con la enfermedad en cuestión que le incapacita para el cuidado del recién nacido.

⁶ Para su clasificación como patogénica, se utilizan los siguientes criterios:

1. Clasificación de variantes según las recomendaciones de ACMG/AMP 2015.
2. Se consideran aptas para el PGT-M solamente variantes clasificadas como Patogénicas o Probablemente Patogénicas.
3. VUS (Variante de Significado Incierto, VSI o "VUS" por sus siglas en inglés) no se consideran aceptables para PGT-M.

- En el informe clínico o ginecológico se recogen afirmaciones que contraindiquen la gestación (posibles complicaciones graves durante el embarazo que pongan en grave riesgo a la madre o al feto) o los tratamientos de RHA (posibles complicaciones graves durante la estimulación o la punción ovárica).
- Edad materna: igual o mayor de 40 años.
 - En estos casos, y siempre y cuando no se cumpla ninguno de los otros criterios de exclusión, será valorado el pronóstico reproductivo completo por el vocal del Comité Técnico Permanente (o del Pleno en caso de que pudiera existir conflicto de intereses), médico especialista en Obstetricia y Ginecología o/y facultativo con formación y experiencia en biología de la reproducción.
- AMH <1ng/ml, salvo en casos en los que se haya preservado previamente ovocitos.
- Si se han preservado ovocitos:
 - > 6 ovocitos si se preservaron con menos de 35 años.
 - > 10 si se preservaron con más de 35 años.
- Patología uterina grave no corregible y que pueda afectar seriamente a las posibilidades de tener una gestación a término: Malformaciones uterinas graves no operables, Síndrome de Asherman grave no corregible, etc.