

Universidad Internacional de La Rioja

Facultad de Ciencias de la Salud

Máster Universitario en Bioinformática

Análisis retrospectivo de los resultados de ciclos de FIV/ICSI con y sin el uso de PGT-A en mujeres de edad avanzada

|  |  |
| --- | --- |
| Trabajo fin de Estudio presentado por: | Rocío Trinidad Lahoz |
| Tipo de trabajo: | Proyecto susceptible de financiación |
| Director/a: | Víctor Jesús Fernández Ramírez |
| Fecha: | 05/02/2025 |

Resumen

Este estudio evalúa la eficacia del PGT-A (prueba genética preimplantacional para aneuploidías) en pacientes de edad materna avanzada (≥37 años) sometidas a FIV, comparando los resultados con ciclos sin PGT-A. Se analizaron retrospectivamente 66 ciclos con PGT-A y 131 sin PGT-A en un centro privado entre agosto de 2023 y octubre de 2024.

Los resultados indican que los pacientes que optaron por PGT-A tenían más ovocitos en metafase II (9.1 vs. 5.6, p<0.001) y blastocistos utilizables (3.2 vs. 1.9, p<0.001), aunque eran ligeramente mayores en edad. En el primer intento de transferencia, la tasa de embarazo positivo fue similar entre ambos grupos (61.7% vs. 58.7%, p=0.731), pero la tasa de embarazo en curso (≥12 semanas) fue mayor en PGT-A (52.9% vs. 31.3%, p=0.163).

A nivel acumulativo, PGT-A redujo significativamente la tasa de embarazos bioquímicos (8.7% vs. 28.8%, p=0.015) y pérdidas en el primer trimestre (4.7% vs. 20.7%, p=0.091). Además, no se observaron embarazos múltiples en PGT-A, en contraste con un 30.2% en el grupo sin PGT-A (p=0.003).

Los hallazgos obtenidos sugieren que PGT-A mejora la eficiencia por transferencia, reduciendo el tiempo hasta el embarazo y el riesgo de complicaciones, aunque no impacta significativamente el éxito acumulativo por ciclo. Se recomienda un seguimiento continuo para evaluar su impacto a largo plazo.

**Palabras clave:** PGT-A, Aneuploidía, Edad Materna Avanzada, Infertilidad

Abstract

This study evaluates the efficacy of PGT-A (preimplantation genetic testing for aneuploidies) in advanced maternal age (≥37 years) IVF patients, comparing outcomes with cycles without PGT-A. A retrospective analysis was conducted on 66 PGT-A cycles and 131 non-PGT-A cycles at a private center between August 2023 and October 2024.

Results indicate that PGT-A patients had more metaphase II oocytes (9.1 vs. 5.6, p<0.001) and usable blastocysts (3.2 vs. 1.9, p<0.001), despite being slightly older. In the first transfer attempt, the positive pregnancy test (PPT) rate was similar between groups (61.7% vs. 58.7%, p=0.731), but the ongoing pregnancy rate (≥12 weeks) was higher in the PGT-A group (52.9% vs. 31.3%, p=0.163).

Cumulatively, PGT-A significantly reduced biochemical pregnancy rates (8.7% vs. 28.8%, p=0.015) and first-trimester pregnancy loss (4.7% vs. 20.7%, p=0.091). Additionally, no multiple pregnancies were observed in the PGT-A group, compared to 30.2% in the non-PGT-A group (p=0.003).

Findings suggest that PGT-A improves per-transfer efficiency, reducing unsuccessful transfers, adverse outcomes, and time-to-pregnancy, though it does not significantly impact cumulative success per cycle. Continuous monitoring is recommended to assess its long-term effects.

**Keywords**: PGT-A, Aneuplody, Advanced Maternal Age, Infertility

Índice de contenidos

[1. Introducción 9](#_Toc188384823)

[1.1. Aneuploidía y su impacto en el éxito del ciclo 10](#_Toc188384824)

[1.2. historia y evolución DE LA TÉCNICA 12](#_Toc188384825)

[1.3. tIPOS DE ANÁLISIS GENÉTICO PREIMPLATACIONAL 15](#_Toc188384826)

[1.3.1. PGT-A 15](#_Toc188384827)

[1.3.2. PGT-M 15](#_Toc188384828)

[1.3.3. PGT-SR 15](#_Toc188384829)

[1.3.4. PGT-P 15](#_Toc188384830)

[1.4. Limitaciones del PGT-A 16](#_Toc188384831)

[1.4.1. Mosaicismo 16](#_Toc188384832)

[1.4.2. Capacidad de autocorrección 17](#_Toc188384833)

[1.4.3. Fallos de amplificación y falsos positivos 17](#_Toc188384834)

[2. Consideraciones éticas 19](#_Toc188384835)

[3. OBJETIVOS 20](#_Toc188384836)

[3.1. OBJETIVO GENERAL 20](#_Toc188384837)

[3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 20](#_Toc188384838)

[4. metodología 21](#_Toc188384839)

[4.1. Diseño del estudio 21](#_Toc188384840)

[4.1.1. Periodo de estudio y contexto 21](#_Toc188384841)

[4.1.2. Población de referencia 21](#_Toc188384842)

[4.1.3. Criterios de inclusión y exclusión 21](#_Toc188384843)

[4.2. Base de datos 22](#_Toc188384844)

[4.2.1. Variables de estudio 22](#_Toc188384845)

[4.2.2. VARIABLE RESPUESTA PRIMARIAS (DEPENDIENTES) 22](#_Toc188384846)

[4.2.3. VARIABLE RESPUESTA SECUNDARIAS (DEPENDIENTES) 23](#_Toc188384847)

[4.2.4. VARIABLES DE EXPOSICIÓN (INDEPENDIENTES) 23](#_Toc188384848)

[4.2.5. VARIABLES CONTROL 24](#_Toc188384849)

[4.3. Análisis estadístico de los datos 25](#_Toc188384850)

[4.3.1. Análisis preliminares 25](#_Toc188384851)

[4.3.2. Análisis descriptivo de la población 26](#_Toc188384852)

[4.3.3. Análisis de los objetivos 27](#_Toc188384853)

[4.3.4. Librerías utilizadas 30](#_Toc188384854)

[5. RESULTADOS 33](#_Toc188384855)

[5.1. análisis preliminar de variables continuas 33](#_Toc188384856)

[5.1.1. Análisis de la normalidad 33](#_Toc188384857)

[5.1.2. Test de Levene 33](#_Toc188384858)

[5.1.3. Test de wilcoxon 35](#_Toc188384859)

[5.2. Análisis preliminar variables dicotómicas 37](#_Toc188384860)

[5.3. ANÁLISIS DESCRIPTIVO de la población 39](#_Toc188384861)

[5.4. análisis del resultado de las transferencias 44](#_Toc188384862)

[5.5. análisis de supervivencia 46](#_Toc188384863)

[5.6. ANÁLISIS DEL COSTE 47](#_Toc188384864)

[5.7. ANÁLISIS DEL TIEMPO REQUERIDO 48](#_Toc188384865)

[5.7.1. Tiempo necesario hasta alcanzar ECO positiva 48](#_Toc188384866)

[5.7.2. Tiempo necesario hasta alcanzar una gestación en curso 49](#_Toc188384867)

[6. dISCUSIÓN 51](#_Toc188384868)

[7. conclusión 59](#_Toc188384869)

[8. LImitaciones 60](#_Toc188384870)

[9. Referencias bibliográficas 61](#_Toc188384871)

[Anexo A. Código en R 66](#_Toc188384872)

Índice de figuras

[Figura 1. Distribución del número de cúmulos obtenidos en punción en función del grupo. 35](#_Toc188384796)

[Figura 2. Distribución del número de ovocitos maduros en función del grupo. 36](#_Toc188384797)

[Figura 3. Distribución del número de fecundaciones normales en función del grupo. 36](#_Toc188384798)

[Figura 4. Distribución del número de blastocistos usables en función del grupo. 37](#_Toc188384799)

[Figura 5. Proporciones de resultados clínicos en función de la especificación del ciclo (PGT vs No PGT). 39](#_Toc188384800)

[Figura 6. Representación de los resultados obtenidos en el grupo con indicación de PGT-A en función del número de transferencia. 42](#_Toc188384801)

[Figura 7. Representación de los resultados obtenidos en el grupo sin indicación de PGT-A en función del número de transferencia. 43](#_Toc188384802)

[Figura 8. Gráfico de barras de los resultados obtenidos en la primera transferencia. 44](#_Toc188384803)

[Figura 9.Representación de los datos acumulados. 46](#_Toc188384804)

[Figura 10. Análisis de supervivencia. 46](#_Toc188384805)

[Figura 11. Análisis del tiempo requerido hasta la obtención de una prueba ecográfica positiva en función de la indicación (PGT-no, PGT-si). 48](#_Toc188384806)

[Figura 12**.** Análisis del tiempo requerido hasta la obtención de una gestación en curso (PGT-no, PGT-si). 49](#_Toc188384807)

Índice de tablas

[Tabla 1. Variables respuesta primarias. 22](#_Toc188384808)

[Tabla 2. Variables respuesta secundarias. 23](#_Toc188384809)

[Tabla 3. Variables independientes. 23](#_Toc188384810)

[Tabla 4. Variables control. 24](#_Toc188384811)

[Tabla 5. Resultados del test de Shapiro-Wilk. 33](#_Toc188384812)

[Tabla 6. Resultados del Test de Levene. 33](#_Toc188384813)

[Tabla 7. Resultados del test de Wilcoxon. 35](#_Toc188384814)

[Tabla 8. Resultados de la prueba de Chi-Cuadrado y Fisher exacto para el análisis de variables dicotómicas. 37](#_Toc188384815)

[Tabla 9. Características descriptivas de las pacientes y resultados embrionarios en el grupo PGT. 39](#_Toc188384816)

[Tabla 10. Características descriptivas de las pacientes y resultados embrionarios en el grupo no-PGT. 39](#_Toc188384817)

[Tabla 11. Número de pacientes que no obtuvieron ningún COC en punción, ningún ovocito en metafase II, ningún ovocito fecundado y ningún embrión en estadio de blastocisto. 41](#_Toc188384818)

[Tabla 12. Resultados primera transferencia. 44](#_Toc188384819)

[Tabla 13. Resultados segunda y tercera transferencia. 45](#_Toc188384820)

[Tabla 14. Resultados acumulados. 45](#_Toc188384821)

[Tabla 15. Coste del proceso. 47](#_Toc188384822)

# Introducción

Las anomalías cromosómicas se producen en 1 de cada 150 nacimientos, si bien su prevalencia es aún mayor en etapas tempranas de gestación (1). Existe una alta incidencia de anomalías cromosómicas, ya sea en embriones generados por tecnologías de la reproducción asistida (ART) como los provenientes por concepción natural. Estas variaciones en el número de copias cromosómicas comprometen la viabilidad del embrión, siendo la causa de una gran proporción de los abortos espontáneos y trastornos congénitos (2). Se sabe que la edad materna, especialmente a partir de los 35 años, está altamente asociada con una rápida disminución en la producción de ovocitos sanos y de buena calidad. Concretamente, aumentan los errores en la segregación cromosómica producidos durante las divisiones meióticas, teniendo por tanto estas mujeres de edad materna avanzada un mayor riesgo de infertilidad, aborto espontáneo, o un recién nacido vivo con enfermedades congénitas como el síndrome de Down (trisomía en el cromosoma 21), el síndrome de Edwards (trisomía en el cromosoma 18) y el síndrome de Turner (monosomía X) (3).

Para tratar de solventar este problema, puede hacerse uso tanto de pruebas genéticas como de cribados en etapas tempranas del embarazo. Los tests de cribado permiten determinar si un paciente posee un riesgo aumentado de embarazo afectado por una aneuploidía en concreto, mientras que los tests de diagnóstico determinan si la aneuplodía está presente en el embrión (1). En los últimos años, se ha producido un cambio notable hacia la transferencia efectiva de un solo embrión, minimizando las posibilidades de embarazo múltiple, el cual suele acarrear riesgos y complicaciones. Antiguamente, el embrión se seleccionaba únicamente en base a una evaluación morfológica, pero esta técnica no tiene en cuenta las anomalías genéticas puesto que no existe ningún tipo de correlación entre la morfología y el material genético (3). Es por ello, que las pruebas capaces de identificar embriones con alteraciones cromosómicas antes de las transferencias intrauterinas han ido ganando importancia a lo largo de los últimos años (4). Cuando los pacientes acuden a clínica para someterse a un ciclo de reproducción asistida, el test genético preimplantacional es capaz de detectar embriones con anomalías cromosómicas numéricas (PGT para aneuplodías o PGT-A) o monogénicas (PGT-A) (1).

En la actualidad, la forma más común de realizar el PGT-A es llevando a cabo una biopsia del trofectodermo (TE) y su análisis por secuenciación de nueva generación (NGS), mejorando de esta forma la selección embrionaria, las tasas de implantación y de embarazo, y el número de nacidos vivos sanos. La biopsia, realizada normalmente en el día 5 o 6 de desarrollo, consiste en la obtención de entre 5 a 10 células del trofoectodermo (TE), se trata de células destinadas a formar la placenta del feto.

Sin embargo, sigue existiendo controversia acerca de la eficacia de esta técnica, así como en qué casos aplicarla. Gran parte de esta polémica nace por el hecho de que esta técnica requiera de una elevada manipulación de los embriones pudiendo comprometer su viabilidad. También existen situaciones que obligan a descartar embriones por no tener calidad suficiente como para ser biopsiados pero que sí que podrían haber sido congelados. Por último, cabe destacar las limitaciones relacionadas con los resultados tales como los fallos de amplificación, que requieren rebiopsiar los embriones afectando significativamente a la viabilidad embrionaria, así como los falsos positivos y/o negativos que se puedan dar en el laboratorio de genética.

## Aneuploidía y su impacto en el éxito del ciclo

A pesar del avance de la tecnología y las mejoras en el cultivo de embriones, aproximadamente solo la mitad de los embriones fecundados en las clínicas de FIV llegan al estadio de blastocisto, deteniéndose el resto en etapas de segmentación, mórula tardía o blastocisto temprano (23-26). En 1993, Munné y colaboradores demostraron la asociación entre la aneuploidía, la segmentación asimétrica y la detención embrionaria haciendo uso de la técnica FISH en interfase multicolor con sondas cromosómicas específicas. (5). Con el paso del tiempo, numerosos estudios han ido confirmando esta asociación (6-9). Si bien la aneuplodía tiene lugar en todas las etapas de la ontogénsis humana, su mayor incidencia se produce antes de la implantación, durante la gametogénesis y la embriogénesis precoz. En la gametogénesis, se ha observado una frecuencia de aneuplodía ovocitaria alta. Esta depende de la edad de la madre, teniendo una mayor probabilidad las mujeres menores de 20 años y las mayores de 33. También se pueden encontrar espermatozoides aneuploides pero la frecuencia es mucho menor. En el caso de hombres con infertilidad, la frecuencia aumenta significativamente alcanzando el 18%. A su vez, puede observarse aneuplodía en la etapa de segmentación. La mitad de los embriones preimplantativos humanos presentan aneuplodía, mayoritariamente de origen materno. Esta etapa está caracterizada por errores mitóticos que conducen a la aparición de cariotipos de mosaicos. Independientemente de la fase en la que tenga lugar el origen de la aneuploidía, esta ocurre como resultado de dos eventos principales; la no disyunción cromosómica y el retraso en la anafase. Siendo la inmensa mayoría de casos ocurridos durante la gametogénesis, a causa de la no disyunción cromosómica (10).

La aneuploidía puede manifestarse como una anomalía cromosómica numérica, que implica la ganancia o pérdida de un cromosoma completo, o estructural, también denominada anomalía cromosómica parcial, que afecta a un solo segmento cromosómico. El origen de estas aneuploidías puede deberse a errores meióticos, que dan lugar a gametos con un conjunto cromosómico anormal, o de errores mitóticos, que ocurren postcigóticamente (11).

Trabajos previos señalan que las aneuploidías meióticas suelen afectar a los cromosomas 15,16,19, 21 y 22, y las aneuploidías mitóticas muestran frecuencias similares en todos los autosomas (12). McCoy y colaboradores, publicaron un estudio en 2023 que señala que las aneuploidías meióticas putativas tienen una fuerte asociación con la edad materna (GLM cuasi-binomial: 𝛽̂ = 0.261, SE = 0.032, p = 1.68 × 10⁻¹²; Fig. 2B), mientras que las mitóticas, no mostraron una asociación significativa con esta (GLM cuasi-binomial: 𝛽̂ = 0.009, SE = 0.033, p = 0.799; Fig. 2B). Asimismo, no observaron casos en donde aneuploidías meióticas y mitóticas afectaran a diferentes cromosomas en el mismo embrión, sugiriendo por ende que estos mecanismos de error son independientes. No obstante, al restringir este mismo análisis a 612 embriones en etapa de blastocisto, observaron un aumento de aneuploidías mitóticas en embriones ya afectados por aneuploidías meióticas. Los autores plantearon la hipótesis de que, cuando se activa el genoma embrionario, los efectos funcionales de las aneuploidías meióticas pueden impactar de forma negativa en la maquinaria mitótica, comprometiendo la fidelidad de la segregación cromosómica. Por otro lado, los autores observaron una fuerte asociación entre la división celular anormal y la aneuploidía mitótica, ya que el 51% de los embriones con divisiones anormales presentaron aneuploidía frente al 23% del grupo de blastocistos con divisiones normales. Sin embargo, no hubo ninguna relación entre la división celular anormal y la aneuploidía meiótica (13).

Los errores producidos durante la meiosis pueden tener lugar en varias etapas. En primer lugar, tenemos la segregación errónea de cromosomas durante y después de la meiosis I (MI), la cual suele darse como resultado de la incapacidad de conjugación o por errores en el entrecruzamiento. Si los homólogos no se conjugan de forma correcta, permanecen como univalentes, conduciendo a errores de segregación. Además, si el entrecruzamiento, en vez de ocurrir en el brazo del cromosoma, ocurre cerca del telómero o en regiones pericentroméricas, puede causar una segregación incorrecta de los homólogos. La principal razón de una no disyunción cromosómica suele ser la separación de forma prematura de las cromáticas humanas en MI y MII, debido a una pérdida de cohesión entre ellas (14).

## historia y evolución DE LA TÉCNICA

La biopsia embrionaria se remonta a la década de 1960 y principios de los 70 donde trataba de aplicarse en las granjas a fin de determinar el sexo de los embriones de animales. En 1968, Richard Gardner, hizo uso de una pipeta de sujeción para posicionar blastocistos de conejo y con unas tijeras de iridectomía, aspiró pequeñas porciones de trofoectodermo. A continuación, tiñó y examinó las células microscópicamente para identificar la presencia de un cuerpo de Barr denso en la periferia de los núcleos interfásicos, indicando que se trataba de una hembra. Gardner, especuló que se podría hacer uso de este enfoque en humanos para evitar transferir embriones masculinos con enfermedades heredadas ligadas al cromosoma X en parejas de riesgo (14).

El tamaño del blastocisto humano, en comparación con el de los animales, es muy pequeño, alcanzando como máximo 200-300 um provocando que la biopsia embrionaria humana requiera de micromanipulación y de métodos más sensibles para su análisis genético. Podría decirse que el desarrollo de esta técnica en humanos se debe principalmente a dos hitos históricos, en primera instancia, a la primera fecundación in vitro humana en 1978 y en segunda, al desarrollo de la PCR a mediados de la década de 1980, ya que su aplicación permitió amplificar un millón de veces un solo fragmento de ADN (15).

La técnica de PGT se realizó por primera vez en ratones, con un modelo de la enfermedad de Lesch-Nyhan. Se trata de una enfermedad ligada al cromosoma X causada por la deficiencia de la enzima hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (16). En esta década, las transferencias se realizaban en día 3 por lo que solo era posible la biopsia en ese estado de desarrollo. A su vez, se realizaba la biopsia de blastómeros en la etapa de segmentación. En Estados Unidos, Verlinsky y colaboradores reportaron el primer caso clínico de biopsia del cuerpo polar en el Congreso Internacional de FIV en Kioto en 1987 (17).

A los años de comenzar a popularizarse el uso de esta técnica, surgieron hipótesis de que las células del trofoectodermo podrían representar una muestra aún más adecuada para establecer un diagnóstico embrionario. Fue entonces cuando Dorkas y colaboradores, siguiendo los protocolos establecidos por Edwards y Gardner en conejos, publicaron el primer caso de biopsia de blastocisto humano (18). La tecnología se basaba en una pipeta de sujeción y una aguja en dos micromanipuladores diferentes. Un año más tarde, Mihhleton-Harris y Findlay llevaron a cabo un protocolo más refinado que no necesitaba realizar eclosión asistida. Los embriones se sometían a adelgazamiento de la zona pelúcida cultivándose con una solución ácida de Tyrode y las células del trofoectodermo se eliminaban mecánicamente una a una (19). En ambos estudios, los blastocistos se cultivaban hasta el día 14 para observar el crecimiento in vitro. No obstante, estos métodos eran sumamente agresivos por lo que no fueron probados en la práctica clínica en laboratorios de FIV.

Si bien se ha destacado con anterioridad la importancia de la PCR, la PGD para el análisis de anomalías cromosómicas tuvo que esperar al desarrollo de las sondas de hibridación fluorescente in situ (FISH). Entre los primeros casos reportados, cabe destacar el de Darrel Griffin en Reino Unido que realizó con éxito la técnica de FISH en blastómeros (20) y en Estados Unidos, Grifo junto con Cohen, quienes reportaron un caso de embarazo tras realizar una biopsia embrionaria con FISH para los cromosomas X e Y (21 y 22). Años más tarde, Munne y colaboradores hicieron uso de FISH multicolor en blastómeros, sirviendo de precedente para el desarrollo de pruebas modernas para la detección de aneuploidías mediante PGD (23). De hecho, en 1998, Munne hizo uso de esta técnica para la detección de translocaciones cromosómicas desequilibradas (24).

Con el paso del tiempo, las presentaciones científicas y la aplicación clínica del PGT, se fueron desarrollando de manera progresiva. La primera señal de cooperación tuvo lugar en las reuniones internacionales anuales organizadas por Verlinsky. Dichas reuniones permitieron enfocar los esfuerzos de los investigadores en el desarrollo de esta tecnología para facilitar su aplicación. En tan solo unos años, el PGT dejó de ser un componente exclusivo propio del diagnóstico genético prenatal a convertirse en una práctica común con sus propias indicaciones. En Europa, las comunicaciones se organizan a través de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE) bajo los auspicios del Grupo de Interés Especial (SIG) en Genética de la ESHRE, formado en 1997. La Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) formó su propio comité de PGT en 2005.

El ADN tanto de los gametos como de los embriones puede obtenerse en diferentes etapas de desarrollo:

* **Biopsia del cuerpo polar:** como se ha comentado con anterioridad, en el comienzo del desarrollo de la técnica, la biopsia se realizaba analizando el primer cuerpo polar del ovocito. Los ovocitos clasificados como genéticamente normales se fecundaban y transferían. A día de hoy, no se realiza por su desventaja principal, solo permite evaluar el genotipo materno, además de otras dificultades técnicas (25).
* **Biopsia en día 3 o etapa de segmentación:** hasta 2010 la mayoría de los casos de PGT-A eran realizados de esta manera. En día 3 de desarrollo, la zona pelúcida se perfora mediante medios láser o químicos a fin de extraer una única célula (blastómero). Al tratarse de un embrión en vía de desarrollo, imposibilita la opción de extraer más células puesto que podría comprometer la supervivencia embrionaria. Existen estudios que reportan que la pérdida de 1 sola célula en este estadío disminuye un 10% la posibilidad de embarazo, mientras que la pérdida de más de 1 resulta en tasas aún menores (25).
* **Biopsia en estadio de blastocisto:** se trata de la opción elegida en la actualidad por la mayoría de clínicas ya que permite la extracción y análisis de entre 5 a 7 células, lo que facilita el diagnóstico y hace que este sea más preciso. Es importante destacar que las células obtenidas pertenecen al trofoectodermo. La efectividad de este enfoque fue demostrado en 2005 por McArthur y su equipo (26).

## tIPOS DE ANÁLISIS GENÉTICO PREIMPLATACIONAL

Existen 4 tipos de análisis genético preimplantacional (1);

### PGT-A

Se basa en un análisis de los cromosomas mediante técnicas de nueva generación. Generalmente se realiza en la etapa de blastocisto y consiste en biopsiar de entre 5 a 10 células del trofoectodermo. Como principales ventajas cabe destacar que permite descartar embriones aneuploides evitando la transferencia de embriones cromosómicamente anormales, facilitando, por ende, la transferencia selectiva de un solo embrión y mejorando las tasas de embarazo en curso.

### PGT-M

El objetivo en este caso consiste en evitar la herencia de trastornos monogénicos ya que esta técnica es capaz de detectar variantes patogénicas específicas. Como en el caso anterior, se realiza en la etapa de blastocisto y biopsiando de entre 5 a 10 células del trofoectodermo. Las principales aplicaciones son en casos de trastornos monogénicos, es decir, pacientes que son conocedores de la presencia en su familia de enfermedades de herencia autosómica dominante, recesiva o ligada al cromosoma X. También se utiliza para seleccionar embriones compatibles con los antígenos leucocitarios (HLA) del familiar.

### PGT-SR

También se usa para analizar embriones con riesgo de anomalías cromosómicas, pero a diferencia del PGT-A, estructurales, tales como translocaciones, inversiones, deleciones o inserciones, permitiendo prevenir enfermedades asociadas a cariotipos desequilibrados, reduciendo de esta forma el riesgo de aborto espontáneo. La principal limitación radica en que esta técnica no es capaz de diferenciar los embriones normales de los embriones con alteraciones cromosómicas familiares equilibradas. Por ende, los resultados deben ser confirmados con un muestreo de vellosidades coriónicas (CVS) o amniocentesis durante el embarazo.

### PGT-P

Análisis embrionario para la detección de uno o más trastornos poligénicos. Se conoce como trastorno poligénico a una enfermedad producida por variantes genéticas que involucran a más de un gen. Las muestras de biopsia de los embriones en estadio de blastocisto se analizan a fin de identificar cientos de miles de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs). Los datos obtenidos tras el análisis se usan para determinar una puntuación de riesgo poligénico relacionado con las enfermedades de interés. Como limitaciones de esta variante, mencionar el hecho de que el valor predictivo positivo clínico varía en función del rasgo de la enfermedad, a su vez, estas pruebas no determinan si existe enfermedad en el embrión, si no, el riesgo de que la haya. Es por esto último por lo que el uso de esta técnica involucra debates éticos.

En este estudio se analiza la eficacia del PGT-A puesto que es el tipo de prueba más empleada en reproducción asistida. Esto se debe principalmente a que gran parte de las pacientes que acuden a la clínica son mujeres de edad materna avanzada (AMA), siendo este factor una indicación primordial para la realización de la prueba.

## Limitaciones del PGT-A

### Mosaicismo

Gran parte de esta controversia que existe acerca de la eficiencia de esta técnica nace en relación con los embriones mosaico. El término de mosaicismo hace referencia a la presencia de más de una línea celular en una muestra, este resultado tras la prueba de PGT-A determinaría que el embrión biopsiado podría estar en riesgo de tener mosaicismo. En el contexto clínico, de entre el 2 al 13% de los embriones analizados por NSG se clasifican como mosaicos, si bien hay estudios que señalan que el mosaicismo podría estar presente en hasta el 50% de los blastocistos analizados. No obstante, el resultado de mosaicismo puede no ser representativo de la constitución cromosómica del resto del embrión, realmente un embrión diagnosticado como tal podría tratarse de un embrión completamente euploide, completamente aneuploide, mosaicos de una línea celular euploide y una línea celular aneuploide, o mosaicos de dos o más líneas celulares anormales diferentes (27).

La inclusión de diagnósticos de mosaicos genera una sobreestimación de la presencia de anomalías cromosómicas, pudiendo hacer más complicado demostrar mejoras en los resultados de PGT-A en pacientes menores de 35 años (28). Es por ello por lo que desde que se desarrolló esta técnica, la existencia de los embriones mosaico siempre había supuesto una enorme limitación. No obstante, hoy en día existen numerosos reportes de niños nacidos tras transferencias de embriones con mosaicismos por lo que existe una aceptación clínica creciente en la transferencia de estos. Estas transferencias se realizan con la esperanza de que el diagnóstico de mosaicismo se deba a un error analítico (resultado falso positivo), o que el embrión, en caso de ser mosaico, sea capaz de autocorregirse (proceso explicado a continuación).

### Capacidad de autocorrección

Numerosos estudios actuales señalan que la transferencia de estos embriones mosaico puede dar lugar a recién nacidos vivos sanos. El hecho de que estos blastocistos tengan la capacidad de desarrollarse con normalidad abre el debate sobre la capacidad embrionaria de autocorrección (29). Esto se denomina el potencial embrionario y sobre todo, se habla del potencial de la masa celular interna. Se han descrito varios mecanismos que permitirían eliminar las células aneuploides del embrión cabiendo destacar la reducción de la proliferación de células aneuploides, extrusión de un cromosoma adicional, rescate trisómico o monosómico que consiste en la duplicación de un cromosoma faltante en células aneuploides y contribución preferencial de células euploides a la masa de células internas. No obstante, el mecanismo más probado se basa en el agotamiento clonal que consiste en la pérdida específica de las células aneuploides a partir de la etapa de blastocisto debido a un proceso apoptótico. Mientras que en la masa celular interna esto ocurre relativamente rápido, en el trofoectodermo se destruyen de una forma más lenta, a través de la proliferación diferencial, es decir, aumentando la longitud del ciclo y dando lugar a la senescencia celular. Por ende, siempre y cuando el número celular inicial sea adecuado (se calcula que es necesario de un 33% en adelante), se prevé que los embriones serán capaces de autocorregirse eliminando blastómeras anormales (30).

### Fallos de amplificación y falsos positivos

El análisis genético precisa de amplificar el genoma entero, pero se realiza a una pequeña cantidad de ADN extraído de las células. La amplificación del genoma entero a partir de una cantidad tan pequeña de células puede provocar la introducción de artefactos. La mala preparación y la carga de muestras de bajas cantidades de ADN pueden provocar un fallo en la amplificación o a la introducción de excesivo ruido de fondo que conduciría a un diagnóstico erróneo (6). No es poco común que no se logre un diagnóstico concluyente. Diferentes estudios han señaladp tasas de diagnóstico inconcluso que oscilan entre el 0,86 % y el 6,3 % (31-34). En una investigación exhaustiva realizada por Cimadomo et al. (33), se señalaron varias posibles explicaciones de fallos en el diagnóstico concluyente tales como el fallo técnico en la amplificación del ADN, un no cumplimiento de los parámetros de calidad analítica a causa de una amplia dispersión de datos, mala calidad del ADN debido a una baja calidad del embrión, el día de la biopsia (días 5-7), la técnica/método de biopsia (por ejemplo, técnica de "flicking" o "pulling") así como las condiciones de transporte. Nohales et al. (35) señalaron a su vez que el daño celular adicional podría estar relacionado con la práctica del laboratorio, la mala técnica de biopsia y el manejo de las muestras. Es de suma importancia mantener un equilibrio óptimo a fin de minimizar el trauma introducido por la biopsia al blastocisto y, al mismo tiempo, maximizar la integridad de las células del trofoectodermo biopsiadas. Además de transferir estos blastocistos sin un diagnóstico concluyente, otra opción radica en realizar una nueva biopsia para repetir la prueba, si bien cuenta con la desventaja de que este procedimiento implica una ronda adicional de vitrificación y desvitrificación de los blastocistos. Si finalmente el blastocisto se diagnostica como euploide, este podría haber sufrido un compromiso en su viabilidad debido a la pérdida de células adicionales del trofoectodermo por la doble biopsia y al estrés extracelular inducido por el cambio repetido de temperatura durante la doble vitrificación. En la actualidad, no existe un consenso firme sobre el impacto que podría tener el enfoque de "doble biopsia + doble vitrificación" en los resultados clínicos posteriores a la transferencia de blastocistos euploides pero existen metanálisis, basados en un conjunto de datos de PGT-A, que indican que tanto "doble biopsia + doble vitrificación" como "biopsia única + doble vitrificación" se asociaron con tasas reducidas de embarazo clínico y nacidos vivos/embarazos en curso (36).

# Consideraciones éticas

Este Proyecto de Investigación respeta los principios fundamentales de la Declaración de Helsinki, el Convenio del Consejo de Europa sobre Derechos Humanos y Biomedicina, las Normas de Buenas Prácticas Clínicas, la Declaración Universal de la UNESCO sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos, así como los requisitos de la legislación española y portuguesa en materia de investigación biomédica, protección de datos personales y bioética. En este proyecto de investigación se utilizarán datos pseudonimizados, lo que significa que existe una separación técnica y funcional entre el investigador y las personas que realizarán la pseudonimización y conservarán la información que permite la reidentificación. Los datos personales serán tratados conforme al Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016, relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de dichos datos. Por lo tanto, se estima que es prácticamente imposible obtener el consentimiento informado de todos los sujetos del estudio, ya que abarca un período de tiempo muy extenso, y el requisito de un consentimiento individual haría inviable la realización del estudio.

# OBJETIVOS

## OBJETIVO GENERAL

El objetivo principal del estudio es realizar un análisis de no inferioridad del uso de PGT-A vs. No PGT-A a nivel de resultados acumulados de recién nacido por ciclo, en el contexto de una clínica privada de fertilidad en Portugal. En el marco de este estudio, se propone el desarrollo de un código personalizable que permita a las clínicas de fertilidad analizar y evaluar de manera precisa el rendimiento de la técnica de PGT-A en comparación con ciclos en los que no se utiliza esta herramienta. Este código se diseña con la finalidad de ser adaptable a las particularidades y características específicas de cada clínica.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Como objetivos secundarios cabría destacar:

* **Análisis del tiempo requerido:** evaluar el tiempo total hasta la conclusión del ciclo (no embriones disponibles para transferir, o GESTA) en los dos grupos (con PGT-A y sin PGT-A) para determinar si hay diferencias significativas en la duración de los ciclos de tratamiento.
* **Análisis del coste total:** analizar el coste total asociado a cada tratamiento (FIV con PGT-A vs. FIV sin PGT-A o ICSI) y evaluar la relación coste-eficacia de cada enfoque.
* **Número de transferencias con resultado negativo:** Evaluar si con PGT-A se alcanza el resultado final del ciclo con un menor número de transferencias
* **Número de abortos:** Evaluar si con PGT-A el número de transferencias con beta positiva que tienen eco negativa, y el número de gestaciones clínicas que resultan en aborto es menor.

# metodología

## Diseño del estudio

### Periodo de estudio y contexto

En el presente estudio se incluyen 237 casos de parejas con mujeres de 37 años o más, y que acudieron a Ginemed Lisboa a partir del 26/04/2023 a fin de realizarse un tratamiento de FIV o ICSI, con o sin PGT-A antes de la transferencia de embriones. Siendo, por tanto, el primero el grupo estudio y el segundo el grupo control. La elección de esta fecha de comienzo se debe a que se trata del día que se realizó la primera punción con indicación de PGT-A en el laboratorio de genética JUNO.

### Población de referencia

La población de estudio engloba mujeres de 37 años o más que se realizan un tratamiento de FIV y/o ICSI, con o sin PGT-A antes de la transferencia embrionaria, ya que la calidad materna avanzada es uno de los criterios para realizar PGT-A.

### Criterios de inclusión y exclusión

Inclusión:

* Edad materna mayor o igual a 37 años en el momento de la punción

Exclusión:

* Ciclos de PGT-M
* Esperma de biopsia testicular u otro factor masculino severo

## Base de datos

La base de datos se definirá rigurosamente con las variables destinadas a ser analizadas en función de los objetivos planteados. La información necesaria se recogerá en un cuaderno de recogida de datos (CRD) diseñado en formato Excel protegido con contraseña.

Los datos recogidos quedarán debidamente codificados con el objeto de proteger la información clínica y personal de las donantes según dispone la ley aplicable.

Finalmente, y previo paso al estudio estadístico, se llevará a cabo un análisis exploratorio de datos para revisar la calidad de la información extraída.

### Variables de estudio

### VARIABLE RESPUESTA PRIMARIAS (DEPENDIENTES)

Tabla 1. Variables respuesta primarias.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Codificación | Tipología | Descripción |
| RESULT\_ACUMULADO | dicotómica (0,1) | El tratamiento ha finalizado con un parto o se han transferido todos los embriones sin conseguirlo. |
| TIEMPO\_TOTAL | numérica continua | Tiempo desde el inicio del ciclo hasta la obtención de resultado |
| COSTE\_TOTAL | numérica continua | Coste final del tratamiento |
| NUM\_TRANSFERENCIAS | numérica discreta | Número de transferencias realizadas |
| ABORTO\_BIOQUIMICO | numérica discreta | Número de betas positivas que terminan con ecografías negativas |
| ABORTO\_ESPONTANEO | numérica discreta | Número de gestaciones que terminan en aborto |

### VARIABLE RESPUESTA SECUNDARIAS (DEPENDIENTES)

Tabla 2. Variables respuesta secundarias.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Codificación | Tipología | Descripción |
| CANCELACION\_CICLO | dicotómica (0,1) | Número de ciclos cancelados |
| NUM\_TRANSFERIBLES | numérica discreta | Número de embriones euploides por ciclo |
| BETA\_POSITIVA | numérica discreta | Número de pacientes con beta positiva tras transferencia |
| ECO\_POSITIVA | numérica discreta | Número de pacientes con eco positiva tras transferencia |
| RNV | numérica discreta | Número de recién nacidos vivos |
| GEST\_EVOL | dicotómica (0,1) | Valor de éxito en gestación tras confirmación ecográfica de latido y 12 semanas de gestación. |
| TALLA\_RNV | numérica discreta | Talla del recién nacido vivo |
| PESO\_RNV | numérica discreta | Peso del recién nacido vivo |
| APGAR\_TEST | numérica discreta | Resultado del test apgar tras nacimiento |

### VARIABLES DE EXPOSICIÓN (INDEPENDIENTES)

Tabla 3. Variables independientes.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Codificación | Tipología | Descripción |
| PGT-A\_INDICACION | Dicotómica (0,1) | Ciclos con indicación de PGT-A o no |
| EDAD\_PACIENTE | numérica discreta | Edad de la paciente en el procedimiento |
| SEMEN\_ORIGEN | categórica | Origen del semen utilizado en el tratamiento |
| SEMEN\_CALIDAD | categórica ordinal | Clasificación de la calidad seminal |
| TRAT\_TIPO | cualitativa nominal | ICSI o FIV |
| COC\_PUNCIÓN | numérica discreta | Números de complejos cúmulo-ovocitos obtenidos en punción |
| OVO\_MII | numérica discreta | Número de ovocitos maduros |
| NUM\_FECUN | numérica continua | Número de ovocitos fecundados |
| Blasto Usables | numérica continua | Número de ovocitos que llegan a blastocisto |
| EMBR\_CALIDAD | categórica ordinal | Calidad código ASEBIR del embrión |

### VARIABLES CONTROL

Tabla 4. Variables control.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Codificación | Tipología | Descripción |
| ID\_PACIENTE | campo clave | Identificador clave de paciente anonimizado |
| ID\_PRO\_TTO | campo clave | Identificador clave de protocolo anonimizado |
| EMPRESA | categórica | Clínica de referencia del procedimiento |
| PUNCION\_ DET | fecha | Fecha de punción |
| TRANSFER\_DT | fecha | Fecha de transfer |

## Análisis estadístico de los datos

### Análisis preliminares

Antes de realizar los análisis principales, se llevaron a cabo varios análisis preliminares para evaluar las características de las variables y asegurarse de que los supuestos estadísticos fueran adecuados para las pruebas a aplicar.

**Variables de interés y clasificación**

Las variables de interés incluyeron tanto variables numéricas como dicotómicas, y se clasificaron de acuerdo con su naturaleza para seleccionar las pruebas estadísticas más apropiadas:

* **Variables numéricas**: Estas incluyeron el número de ovocitos obtenidos en punción, el número de embriones en día 5, el número de embriones congelados, entre otras.
* **Variables dicotómicas**: Estas incluyeron el número de pacientes con eco positivas, el número de abortos, y otras variables que solo podían tomar dos valores (por ejemplo, 0 o 1).

**Pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas para variables numéricas**

Para las variables numéricas, se verificó la normalidad de los datos mediante el test de Shapiro-Wilk. Este test fue elegido debido a su alta potencia para detectar desviaciones de la normalidad en muestras pequeñas. Además, se realizó la prueba de Levene para evaluar la homogeneidad de las varianzas entre los dos grupos de estudio (PGT y No PGT). La homogeneidad de las varianzas es un supuesto importante para el uso de pruebas paramétricas y se evaluó en las variables numéricas para determinar la aplicabilidad de técnicas estadísticas paramétricas.

En aquellos casos en los que los datos no siguieron una distribución normal o no se cumplió la homogeneidad de varianzas, se utilizó el test de Wilcoxon, que es una alternativa no paramétrica al test t de Student. Esta prueba no requiere que los datos sigan una distribución normal y es adecuada para comparar dos grupos independientes en cuanto a variables numéricas.

**Análisis de variables dicotómicas**

Para las variables dicotómicas, no se realizaron pruebas de normalidad o homogeneidad de varianzas, ya que estas pruebas son inapropiadas para este tipo de datos. En su lugar, se emplearon pruebas estadísticas para comparar proporciones entre los dos grupos, como el test de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher en caso de que las frecuencias esperadas fueran bajas. Estas pruebas permitieron evaluar si existían diferencias significativas entre los grupos en relación con las variables dicotómicas.

En resumen, las variables numéricas fueron sometidas a pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Levene). En los casos en los que los supuestos no fueron cumplidos, se aplicó el test de Wilcoxon para comparaciones entre grupos. Las variables dicotómicas fueron analizadas utilizando pruebas de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher, según correspondiera. Este enfoque garantizó que las pruebas estadísticas fueran apropiadas para cada tipo de variable y permitieron una comparación adecuada entre los grupos de estudio.

### Análisis descriptivo de la población

Se realizó un análisis descriptivo de las características de las pacientes y los resultados embrionarios en dos grupos: aquellas que recibieron ciclos con especificación de PGT (grupo PGT) y aquellas que no lo hicieron (grupo No PGT). Para cada grupo, se calcularon medidas de tendencia central (mediana y media) y dispersión (rango intercuartílico [IQR] y desviación estándar) de las siguientes variables: edad de las mujeres al momento de la punción, edad de los hombres, número de embriones maduros MII en día 0, número de blastocistos utilizables y número de embriones negativos para aneuploidía (solo en el grupo PGT).

Adicionalmente, se generó una tercera tabla que representó el número de pacientes que no obtuvieron:

* Ningún complejo cumulus-oophorus (COC) en la punción.
* Ningún ovocito en metafase II.
* Ningún ovocito fecundado.
* Ningún embrión en estadio de blastocisto.

Para complementar la interpretación de los datos, se elaboraron dos diagramas de CONSORT, uno para cada grupo, con el objetivo de visualizar de manera clara y estructurada los flujos de pacientes y los resultados obtenidos en cada etapa del proceso reproductivo. Estos diagramas facilitaron la identificación de posibles diferencias en las tasas de progresión entre los dos grupos y permitieron resumir gráficamente los resultados clave del estudio.

### Análisis de los objetivos

**OBJETIVO 1 – ANÁLISIS DE LA EFICACIA DE LA TÉCNICA DE PGT-A EN FUNCIÓN DE LOS RESULTADOS CLÍNICOS**

Para evaluar la eficacia de la técnica de PGT-A en función de los resultados clínicos obtenidos, se realizó un análisis estadístico utilizando el software R. El análisis se centró en comparar los resultados entre los dos grupos. Se crearon tres tablas principales que presentaron los resultados de las transferencias y sus respectivas métricas, con el fin de evaluar las diferencias y tendencias en los grupos PGT y No-PGT. La primera tabla resumió los resultados de la primera transferencia de embriones en ambos grupos. Se recogieron variables como el número de embriones transferidos, la tasa de embarazo, las betas positivas, y la tasa de abortos bioquímicos, entre otros. Este análisis se centró exclusivamente en los pacientes que realizaron su primer intento de transferencia de embriones. La segunda tabla mostró los resultados de las segundas y terceras transferencias. Se realizó un análisis similar al de la primera transferencia, pero enfocado en aquellos pacientes que ya habían pasado por una transferencias previa. Se evaluó la tasa de éxito de estas transferencias adicionales, las tasas de embarazo y aborto, y otros parámetros relevantes para comparar con los resultados de la primera transferencia. Finalmente, la tercera tabla incluyó los resultados acumulados de todas las transferencias realizadas en ambos grupos (PGT y No-PGT). Esta tabla permitió realizar una evaluación general de los resultados clínicos a lo largo de los ciclos de tratamiento, proporcionando una visión global de la eficacia de la técnica de PGT-A en función de la cantidad total de embriones transferidos, las tasas de embarazo, las tasas de aborto y otros factores relevantes.

Procedimiento Estadístico

El análisis estadístico se realizó en R utilizando las siguientes etapas y herramientas:

Limpieza y Preparación de los Datos: se volcaron los resultados del programa utilizado en Ginemed Lisboa en un Excel y se procedió a la posterior comprobación caso por caso de los valores obtenidos. También se añadió información relevante. Los datos fueron limpiados para eliminar valores faltantes o inconsistentes.

Cálculos de las Métricas: se calculó la cantidad total de pacientes y los resultados relevantes para cada grupo en cada una de las tres tablas. Esto incluyó el cálculo de medias, desviaciones estándar y porcentajes para variables como el número de embriones transferidos, las tasas de embarazo y aborto, y otros indicadores de éxito del tratamiento.

Análisis Visual: se generaron gráficos descriptivos para visualizar las diferencias en las métricas clave entre los grupos, como las tasas de embarazo, aborto y la calidad de los embriones. Esto permitió identificar patrones y tendencias que podrían haber sido pasados por alto en los análisis numéricos.

Interpretación de Resultados: se interpretaron los resultados de acuerdo con los objetivos del estudio, discutiendo las diferencias en los resultados de las transferencias entre los grupos PGT y No-PGT. Se identificaron áreas donde la técnica de PGT-A parecía tener un impacto positivo, como en la reducción de abortos bioquímicos y la mejora de la tasa de embarazo en los pacientes tratados con PGT-A.

Por último, se realizó un análisis de supervivencia comparando entre grupo con PGT-A y sin haciendo uso de la curva de Kaplan-Meier. Para este análisis de supervivencia, ambas bases de datos fueron combinadas en un solo conjunto de datos utilizando la función bind\_rows() del paquete dplyr.

Las principales variables de interés en este análisis fueron blastos Usables (el número de embriones que pueden ser utilizados para la transferencia, BHCG Total (la medición de la hormona gonadotropina coriónica humana, indicativa de la implantación, ECO Total (el número total de ecos que indican una gestación viable) y OPR Total (el número total de gestaciones en curso). Se reestructuraron los datos a un formato largo utilizando la función pivot\_longer() del paquete tidyr, de manera que cada etapa del proceso reproductivo (Blastos Usables, BHCG Total, ECO Total, OPR Total) se tratara como una variable dentro de una sola columna. A continuación, se asignaron valores binarios a la columna evento, donde se consideró 1 si el evento (por ejemplo, éxito en la etapa) ocurrió y 0 si no. Además, las etapas del proceso se convirtieron en un factor con valores numéricos representando la secuencia de eventos. Por último, se construyó un modelo de supervivencia utilizando la función survfit() del paquete survival para evaluar la probabilidad de éxito (evento) a lo largo del tiempo en función del grupo (PGT vs. No PGT). Este análisis permite evaluar si existen diferencias significativas en las curvas de supervivencia entre los dos grupos a medida que avanzan a través de las distintas etapas del proceso reproductivo.

**OBJETIVO 2 – ANÁLISIS DEL TIEMPO REQUERIDO**

Para evaluar el impacto del uso de PGT en los tiempos hasta la obtención de un resultado clínico positivo, se calculó el tiempo medio transcurrido entre la fecha de punción ovárica y la obtención de dos resultados clave:

Eco positiva: Confirmación ecográfica de embarazo.

Gestación en curso: Confirmación de un embarazo viable en el primer trimestre.

Los tiempos fueron calculados en días para cada paciente en ambos grupos (PGT y No-PGT) y se resumieron mediante medidas descriptivas (mínimo, primer cuartil, mediana, media, tercer cuartil y máximo). Posteriormente, se compararon las medias de los tiempos entre ambos grupos utilizando la prueba t de Welch para muestras independientes. Esta prueba se seleccionó debido a las diferencias potenciales en las varianzas y tamaños de muestra entre los grupos. Los resultados de la prueba incluyeron el estadístico t, los grados de libertad ajustados, el valor p, el intervalo de confianza del 95% para la diferencia de medias, y las medias estimadas de cada grupo.

**OBJETIVO 3 – ANÁLISIS DEL COSTE TOTAL**

Para evaluar los costes asociados al tratamiento de fecundación in vitro (FIV) en los grupos PGT y No-PGT se calculó el coste total de cada ciclo de FIV en ambos grupos. Para ello, se aplicaron 4,000 euros al coste base del tratamiento para ambos grupos, con el fin de equiparar los costes iniciales del tratamiento independientemente de la técnica utilizada.tras ello, los pacientes se clasificaron en varios subgrupos según el resultado de su tratamiento:

* + Pacientes con gestación en curso: Aquellos que lograron un embarazo confirmado en el seguimiento.
  + Pacientes sin gestación en curso y sin embriones disponibles: Pacientes que no lograron embarazo y ya no tenían embriones congelados.
  + Pacientes sin gestación en curso pero con embriones disponibles: Pacientes que no lograron embarazo pero que tenían embriones congelados para ciclos posteriores.

Se calculó el coste total de cada paciente en estos subgrupos para evaluar cómo los diferentes resultados del tratamiento influenciaban los costes. En la fórmula se determinó que aplicar la técnica de PGT-A suponen 750 euros extras así como 325 euros por cada embrión biopsiado. Con respecto a las transferencias, la primera supone un coste de 510 euros mientras que a partir de la segunda el precio se eleva a 1850. Para comparar las medias de los costes entre los dos grupos (PGT y No-PGT), se utilizó el test t de Welch, que es adecuado para situaciones en las que las varianzas entre los grupos no son iguales. Esta prueba permitió determinar si existían diferencias significativas en los costes entre ambos grupos. Se calculó también la desviación estándar del coste total en cada grupo (PGT y No-PGT) para evaluar la variabilidad interna de los costes dentro de cada grupo. Este enfoque permitió obtener una visión detallada de los costes asociados al tratamiento de fertilidad, comparando tanto los costes totales como los costes por subgrupo de pacientes, y evaluando las diferencias significativas entre los grupos PGT y No-PGT.

### Librerías utilizadas

**Readxl**

La librería readxl es una herramienta indispensable para trabajar con datos almacenados en formato Excel (.xlsx) dentro del entorno de R. Permite importar hojas de cálculo directamente, utilizando funciones como read\_excel(). Lo más destacable de esta librería es que no requiere tener instalado Excel, lo que la hace eficiente y práctica, especialmente para manejar grandes volúmenes de datos. Esta funcionalidad es crucial en escenarios donde los datos provienen de múltiples fuentes en formato Excel y deben ser procesados rápidamente para análisis (37).

**Writexl**

Por otro lado, writexl se especializa en exportar datos analizados en R a archivos Excel. A través de la función write\_xlsx(), los usuarios pueden guardar tablas de datos en un formato estructurado y legible para herramientas como Excel. Su diseño ligero y sin dependencias externas la convierte en una opción ideal para documentar y compartir resultados de análisis (38).

**Reshape2**

La librería reshape2 se centra en la transformación y reorganización de datos. Sus funciones principales, melt() y dcast(), facilitan el cambio entre formatos de datos anchos y largos. Esto es fundamental en situaciones donde los datos deben ajustarse a estructuras específicas para análisis o visualización. Por ejemplo, convertir tablas de múltiples columnas en un formato “apilado” puede simplificar el análisis exploratorio o la creación de gráficos (39).

**Ggplot2**

ggplot2 es posiblemente una de las librerías más destacadas de R para la creación de gráficos. Basada en la gramática de gráficos, permite construir visualizaciones sofisticadas y personalizables de manera estructurada. Con funciones como ggplot() y geom\_\*, los usuarios pueden generar gráficos de alta calidad que cumplen con estándares científicos, lo que la convierte en una herramienta esencial para comunicar resultados de forma efectiva (40).

**Stats**

stats es una librería base de R que incluye herramientas fundamentales para realizar análisis estadísticos. Desde análisis descriptivos hasta pruebas de hipótesis, regresiones y modelado avanzado, es una pieza clave para cualquier tipo de análisis cuantitativo. Su inclusión como parte del núcleo de R garantiza que sea ampliamente utilizada en una variedad de contextos, desde investigación académica hasta análisis aplicado (41).

**Proc**

La librería proc proporciona capacidades avanzadas para realizar análisis estadísticos y modelado. Es especialmente útil para manejar datos complejos que requieren transformaciones antes del análisis y para estructurar los resultados de manera clara. Aunque menos conocida, es valiosa en aplicaciones que exigen procedimientos analíticos especializados y organizados (41).

**Caret**

Finalmente, caret (Classification And REgression Training) es una librería ampliamente utilizada en machine learning. Ofrece un marco unificado para trabajar con diversos algoritmos de clasificación y regresión, además de facilitar tareas como la preparación de datos, la selección de características y la validación cruzada. Su versatilidad y enfoque en la automatización del flujo de trabajo de modelado predictivo la convierten en una herramienta esencial para proyectos de aprendizaje automático y minería de datos (42).

# RESULTADOS

## análisis preliminar de variables continuas

### Análisis de la normalidad

Tabla 5. Resultados del test de Shapiro-Wilk.

Tabla

Descripción generada automáticamente con confianza media

Se realizó el test de Shapiro-Wilk a fin de determinar si las variables seguían una distribución normal. Debido a que todos los p-valor son menores a 0.05, se rechaza la hipótesis nula.

### Test de Levene

Tabla 6. Resultados del Test de Levene.

Patrón de fondo

Descripción generada automáticamente

Se aplicó a ocho variables iniciales de interés en ambos grupos la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas. Los resultados de la prueba se detallan a continuación:

1. **Edad Mujer (Punción)**: La prueba de Levene mostró que las varianzas son homogéneas entre los dos grupos (p = 0.1972). Por lo tanto, no existen diferencias significativas en la dispersión de las edades de las mujeres entre los grupos.
2. **Edad Hombre**: Similar a la variable anterior, la prueba de Levene señaló que las varianzas de la edad de los hombres también son homogéneas (p = 0.1437), lo que sugiere que no existen diferencias en la variabilidad de esta variable entre los grupos.
3. **Número de COC en Punción**: La prueba de Levene indicó que las varianzas no son homogéneas (p = 0.0014). Esto sugiere que existe una diferencia significativa en la dispersión del número de ovocitos obtenidos entre los grupos.
4. **Embriones Maduros MII Día 0**: La prueba de Levene mostró que las varianzas no son homogéneas (p = 0.0209) para el número de embriones maduros en el día 0, lo que sugiere que la variabilidad de esta variable es diferente entre los dos grupos.
5. **Número de Fecundaciones Normales**: La prueba de Levene también indicó que las varianzas no son homogéneas (p = 0.0155) para el número de fecundaciones normales, lo que refuerza la idea de que las dispersión de esta variable difiere significativamente entre los grupos.
6. **Blastos Usables**: Los resultados de la prueba de Levene para esta variable mostraron que las varianzas no son homogéneas (p = 0.0027), indicando que hay diferencias significativas en la variabilidad de los blastos usables entre los grupos.
7. **Número de Embriones Congelados**: la prueba de Levene mostró que las varianzas no son homogéneas (p = 0.0170) en cuanto al número de embriones congelados, lo que sugiere que la dispersión de esta variable también varía entre los dos grupos.
8. **Embriones transferidos**: ocurre los mismo que para las variables anteriores

En resumen, los resultados obtenidos indican que las varianzas en las variables de "Edad Mujer (Punción)" y "Edad Hombre" son homogéneas entre los grupos, mientras que el resto de varianzas en las variables relacionadas con el número de ovocitos, embriones maduros, fecundaciones normales, blastos usables y embriones congelados no son homogéneas. Estos resultados sugieren que, para las variables con varianzas homogéneas, se pueden aplicar pruebas paramétricas, mientras que para las variables con varianzas no homogéneas, se deberían usar pruebas no paramétricas para el análisis posterior.

### Test de wilcoxon

Tabla 7. Resultados del test de Wilcoxon.

Patrón de fondo

Descripción generada automáticamente

Dado que el test de Levene no detectó homogeneidad en las varianzas para varias variables clave, se procedió a utilizar el **test de Wilcoxon** para evaluar las diferencias entre los dos grupos: pacientes con indicación de PGTA (PGT) y pacientes sin indicación de PGTA (No PGT). Este test no paramétrico se utilizó dado que las variables no seguían una distribución normal, según lo determinado por los resultados del test de Shapiro-Wilk. Los resultados del test de Wilcoxon indican que todas las variables analizadas (COC en punción, embriones maduros, fecundaciones normales, blastos usables y embriones congelados) presentan diferencias significativas entre los grupos con y sin indicación de PGTA. Esto sugiere que estas variables pueden estar relacionadas con la indicación de PGTA, y las diferencias observadas podrían tener implicaciones importantes en el tratamiento y manejo de los pacientes.

A su vez, se llevó a cabo la representación visual de las variables con diferencias significativas.

Gráfico, Gráfico de cajas y bigotes

Descripción generada automáticamente

Figura 1. Distribución del número de cúmulos obtenidos en punción en función del grupo.

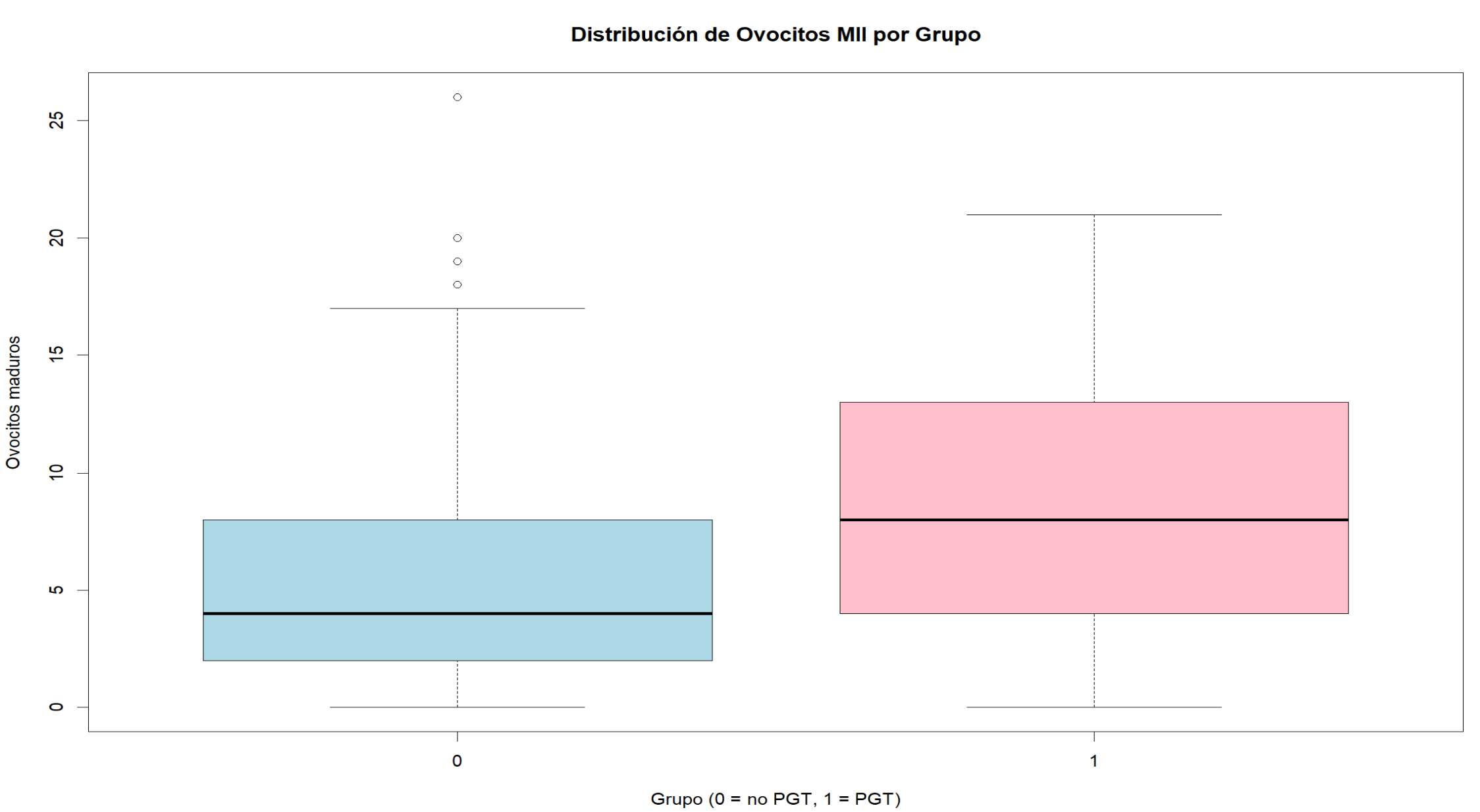


Figura 2. Distribución del número de ovocitos maduros en función del grupo.

Gráfico, Gráfico de cajas y bigotes

Descripción generada automáticamente

Figura 3. Distribución del número de fecundaciones normales en función del grupo.

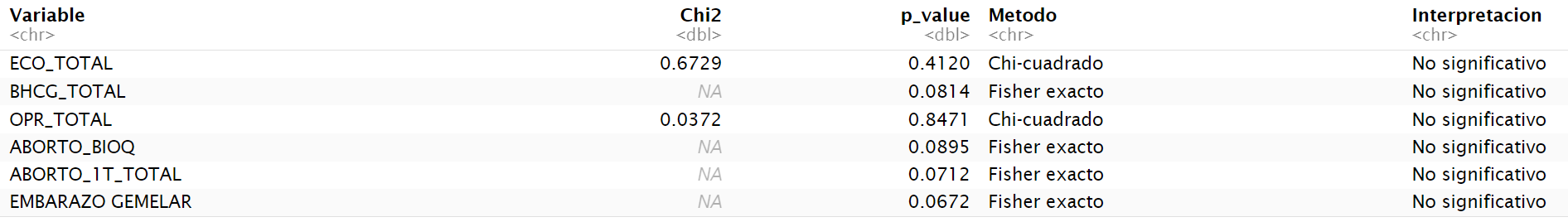
Gráfico, Gráfico de barras, Gráfico de cajas y bigotes

Descripción generada automáticamente

Figura 4. Distribución del número de blastocistos usables en función del grupo.

## Análisis preliminar variables dicotómicas

Tabla 8. Resultados de la prueba de Chi-Cuadrado y Fisher exacto para el análisis de variables dicotómicas.



En este estudio se evaluó la relación entre diversas variables dicotómicas relacionadas con resultados reproductivos y la especificación del ciclo de PGT (Prueba Genética Preimplantacional). Se aplicaron pruebas estadísticas adecuadas según la distribución de los datos (Chi-cuadrado y Fisher exacto). Los resultados principales se resumen a continuación:

1. **ECO\_TOTAL**: No se encontró una asociación estadísticamente significativa entre esta variable y la especificación del ciclo de PGT (Chi² = 0.6729, p = 0.4120).
2. **BHCG\_TOTAL**: Aunque se utilizó la prueba exacta de Fisher, no se evidenció una asociación significativa (p = 0.0814).
3. **OPR\_TOTAL**: La relación entre esta variable y la especificación del ciclo tampoco fue significativa (Chi² = 0.0372, p = 0.8471).
4. **ABORTO\_BIOQ**: Los análisis mediante Fisher exacto no mostraron una asociación significativa (p = 0.0895).
5. **ABORTO\_1T\_TOTAL**: De igual forma, no se observó significancia estadística para esta variable (p = 0.0712).
6. **EMBARAZO GEMELAR**: Los resultados de Fisher exacto tampoco indicaron una asociación significativa (p = 0.0672).

En síntesis, ninguna de las variables evaluadas presentó una relación significativa con la especificación del ciclo de PGT dentro de este análisis. Por esta razón, se realizó un análisis de las proporciones de las variables dicotómicas incluidas en el estudio, comparando su distribución entre los grupos definidos por el tipo de "Ciclo con especificación PGT". Para cada variable, se generaron tablas de frecuencias absolutas mediante la función table(), las cuales reflejan la distribución de los valores observados ("positivo"/"negativo", "sí"/"no", etc.) en cada grupo. Posteriormente, estas frecuencias se transformaron en proporciones relativas dentro de cada grupo utilizando la función prop.table(). Este paso permitió estandarizar los resultados, haciendo comparables los grupos independientemente de su tamaño.  
Los datos de proporciones calculados fueron transformados en un formato tabular para poder visualizarlos. Finalmente, se generó un gráfico de barras apiladas para representar las proporciones de cada variable dicotómica por grupo, empleando la librería ggplot2. Cada barra representa un grupo, dividido en proporciones según el resultado positivo o negativo de la variable. Las variables se visualizaron en facetas individuales, lo que facilita la comparación directa entre las variables. Se usaron colores diferenciados (azul claro para pacientes con resultado negativo y rosa para pacientes con resultado positivo) para mejorar la claridad visual y permitir la rápida identificación de tendencias.

Imagen que contiene Gráfico

Descripción generada automáticamente

Figura 5. Proporciones de resultados clínicos en función de la especificación del ciclo (PGT vs No PGT).

## ANÁLISIS DESCRIPTIVO de la población

Tabla 9. Características descriptivas de las pacientes y resultados embrionarios en el grupo PGT.

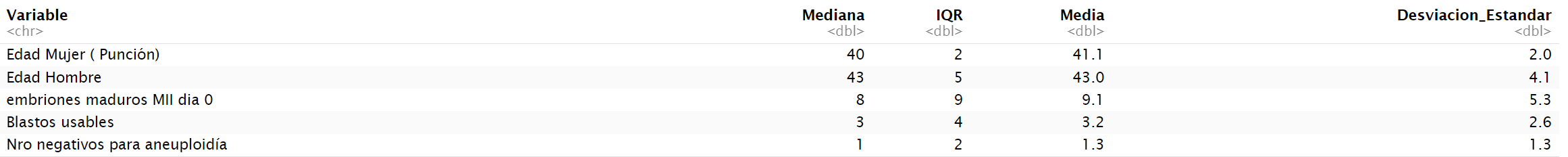
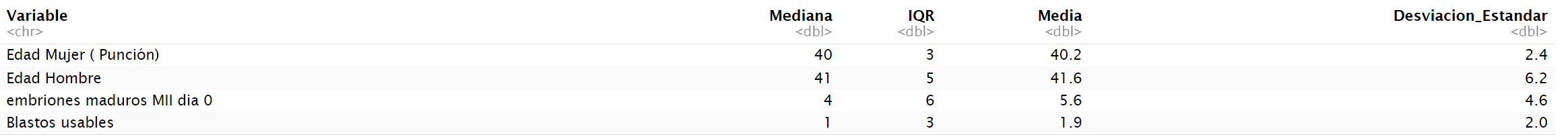


Tabla 10. Características descriptivas de las pacientes y resultados embrionarios en el grupo no-PGT.



En el análisis descriptivo realizado para comparar las características de los grupos con especificación de PGT y sin PGT, se observaron las siguientes diferencias:

1. **Edad de las mujeres al momento de la punción**:
   * En el grupo PGT, la mediana fue de 40 años (IQR: 2) con una media de 41.1 años y una desviación estándar de 2.0.
   * En el grupo No PGT, la mediana también fue de 40 años (IQR: 3), con una media de 40.2 años y una desviación estándar de 2.4.
2. **Edad de los hombres**:
   * En el grupo PGT, la mediana fue de 43 años (IQR: 5), con una media de 43.0 años y una desviación estándar de 4.1.
   * En el grupo No PGT, la mediana fue de 41 años (IQR: 5), con una media de 41.6 años y una desviación estándar de 6.2.
3. **Número de embriones maduros MII en día 0**:
   * En el grupo PGT, la mediana fue de 8 (IQR: 9), con una media de 9.1 y una desviación estándar de 5.3.
   * En el grupo No PGT, la mediana fue de 4 (IQR: 6), con una media de 5.6 y una desviación estándar de 4.6.
4. **Número de blastocistos utilizables**:
   * En el grupo PGT, la mediana fue de 3 (IQR: 4), con una media de 3.2 y una desviación estándar de 2.6.
   * En el grupo No PGT, la mediana fue de 1 (IQR: 3), con una media de 1.9 y una desviación estándar de 2.0.
5. **Número de embriones negativos para aneuploidía**:
   * En el grupo PGT, la mediana fue de 1 (IQR: 2), con una media de 1.3 y una desviación estándar de 1.3.
   * Esta variable no se analizó en el grupo No PGT, ya que no se aplica.

Tabla 11. Número de pacientes que no obtuvieron ningún COC en punción, ningún ovocito en metafase II, ningún ovocito fecundado y ningún embrión en estadio de blastocisto.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **PGT-A** | **No PGT-A** |
| **Pacientes seleccionados** | 80 | 188 |
| **Nro sin COC en punción** | 1 | 7 |
| **Nro sin MII** | 0 | 4 |
| **Nro sin 2PN** | 1 | 9 |
| **Nro sin Blastos** | 11 | 29 |

Escala de tiempo

Descripción generada automáticamente con confianza baja

Figura 6. Representación de los resultados obtenidos en el grupo con indicación de PGT-A en función del número de transferencia.

Diagrama

Descripción generada automáticamente

Figura 7. Representación de los resultados obtenidos en el grupo sin indicación de PGT-A en función del número de transferencia.

## análisis del resultado de las transferencias

Tabla 12. Resultados primera transferencia.

Patrón de fondo

Descripción generada automáticamente

Gráfico, Gráfico de barras

Descripción generada automáticamente

Figura 8. Gráfico de barras de los resultados obtenidos en la primera transferencia.

Tabla 13. Resultados segunda y tercera transferencia.

**Patrón de fondo

Descripción generada automáticamente**

Tabla 14. Resultados acumulados.

**Imagen que contiene Patrón de fondo

Descripción generada automáticamente**

**Gráfico, Gráfico de barras

Descripción generada automáticamente**

Figura 9.Representación de los datos acumulados.

## análisis de supervivencia

Gráfico, Gráfico de líneas

Descripción generada automáticamente

Figura 10. Análisis de supervivencia.

## ANÁLISIS DEL COSTE

Tabla 15. Coste del proceso.

Patrón de fondo

Descripción generada automáticamente con confianza baja

En la **tabla de resultados del coste del proceso**, se presentan las medias de los costes asociados al proceso de FIV en dos grupos de pacientes: aquellos que se someten a **PGT** y aquellos que no lo hacen (**No-PGT**). La tabla incluye distintas métricas clave relacionadas con el coste del proceso, que incluyen el coste total del proceso y los costes desglosados según el estado de gestación o la presencia de embriones.

A continuación, se realizó el test de Welch para comparar los costes totales de los tratamientos de fertilidad entre los grupos de pacientes **PGT** y **No-PGT**. Este test es una prueba estadística que se emplea cuando se asume que las varianzas de las dos muestras no son iguales, lo cual es el caso en este análisis.

1. **Estadístico t**: El valor del estadístico fue **10.209**, lo que indica una diferencia significativa en los costes medios entre los dos grupos.
2. **Grados de libertad (df)**: El test proporcionó un valor de grados de libertad de **102.96**, calculado de acuerdo con el tamaño de las muestras y la variabilidad de los costes en cada grupo. Esta cifra es ligeramente ajustada debido a las diferencias en las varianzas entre las dos muestras.
3. **Valor p**: El **valor p** es extremadamente bajo (< 2.2e-16), lo que indica que la diferencia entre los costes de los dos grupos es estadísticamente significativa. En otras palabras, hay suficiente evidencia para rechazar la hipótesis nula de que no existe diferencia en los costes totales entre los pacientes PGT y No-PGT.
4. **Intervalo de confianza del 95%**: El intervalo de confianza para la diferencia de medias entre los dos grupos es de **1311.332 a 1943.640**. Esto significa que, con un 95% de confianza, la diferencia en los costes entre los dos grupos está en ese rango. Dado que el intervalo no incluye el valor 0, podemos concluir que la diferencia observada es significativa.
5. **Estimaciones de las medias**:
   * La media del coste total en el grupo **PGT** es **10,167.38 €**.
   * La media del coste total en el grupo **No-PGT** es **8,539.89 €**.
   * La diferencia de medias entre los dos grupos es de **1,627.49 €**, lo que sugiere que los pacientes sometidos a PGT tienen un coste total significativamente mayor en comparación con aquellos que no lo están.

## ANÁLISIS DEL TIEMPO REQUERIDO

### Tiempo necesario hasta alcanzar ECO positiva

Gráfico, Gráfico de cajas y bigotes

Descripción generada automáticamente

Figura 11. Análisis del tiempo requerido hasta la obtención de una prueba ecográfica positiva en función de la indicación (PGT-no, PGT-si).

En el análisis del tiempo transcurrido entre la punción y la transferencia en los pacientes con ECO positiva, se encontraron las siguientes estadísticas descriptivas:

* **Grupo PGT:** El tiempo mínimo fue de 21 días, el primer cuartil fue de 34 días, la mediana fue de 56 días, la media fue de 65.21 días, el tercer cuartil fue de 63 días, y el tiempo máximo fue de 244 días.
* **Grupo No-PGT:** El tiempo mínimo fue de 5 días, el primer cuartil fue de 22 días, la mediana fue de 33 días, la media fue de 51.59 días, el tercer cuartil fue de 65 días, y el tiempo máximo fue de 272 días.

En cuanto a la comparación estadística entre ambos grupos utilizando la prueba t de Welch, el resultado no fue significativo (t = 0.95144, df = 31.417, p = 0.3486). El intervalo de confianza del 95% para la diferencia de medias fue de -15.56 a 42.80 días. Las medias de los grupos fueron 65.21 días en el grupo PGT y 51.59 días en el grupo No-PGT.

### Tiempo necesario hasta alcanzar una gestación en curso

Gráfico, Gráfico de cajas y bigotes

Descripción generada automáticamente

Figura 12**.** Análisis del tiempo requerido hasta la obtención de una gestación en curso (PGT-no, PGT-si).

En el análisis del tiempo transcurrido entre la punción y la gestación en curso, se encontraron las siguientes estadísticas descriptivas:

* **Grupo PGT**: El tiempo mínimo fue de 21 días, el primer cuartil fue de 36 días, la mediana fue de 57 días, la media fue de 67.56 días, el tercer cuartil fue de 63 días, y el tiempo máximo fue de 244 días.
* **Grupo No-PGT**: El tiempo mínimo fue de 5 días, el primer cuartil fue de 29 días, la mediana fue de 45.5 días, la media fue de 60.53 días, el tercer cuartil fue de 73 días, y el tiempo máximo fue de 272 días.

En cuanto a la comparación estadística entre ambos grupos utilizando la prueba t de Welch, el resultado no fue significativo (t = 0.44961, df = 33.989, p = 0.6558). El intervalo de confianza del 95% para la diferencia de medias fue de -24.74 a 38.79 días. Las medias de los grupos fueron 67.56 días en el grupo PGT y 60.53 días en el grupo No-PGT.

# dISCUSIÓN

Antes de realizar cualquier tipo de prueba estadística se ha de determinar si las variables a analizar siguen una distribución normal. Para ello, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, en donde la hipótesis nula fue que las variables seguían una distribución normal mientras la alternativa que no seguían una distribución normal. Tal y como puede apreciarse en la tabla 5, todos los p-valores fueron menores a 0.05, rechazando por ende la hipótesis nula. Esto implica que tanto para los grupos PGT como No PGT, las variables no siguen una distribución normal. La prueba de Levene fue utilizada a continuación para evaluar la homogeneidad de varianzas entre los dos grupos en cada una de las variables de interés. Los resultados de la tabla 6 señalan que, mientras que para algunas variables (como la "Edad Mujer (Punción)" y la "Edad Hombre") las varianzas son homogéneas, para otras, como el número de ovocitos obtenidos, el número de embriones maduros, las fecundaciones normales, los blastos usables y los embriones congelados, las varianzas no son homogéneas. Este hallazgo indica que las diferencias en la dispersión de estas variables entre los grupos son significativas, lo que afecta la elección de las pruebas estadísticas para los análisis posteriores. En consecuencia, para las variables con varianzas homogéneas (Edad Mujer y Edad Hombre), se podrán aplicar pruebas paramétricas sin problemas, como el t-test o ANOVA, que requieren la suposición de homogeneidad de varianzas. Sin embargo, para las variables con varianzas no homogéneas, como el número de ovocitos obtenidos, los embriones maduros y las fecundaciones normales, será necesario recurrir a pruebas no paramétricas, como el test de Wilcoxon, que no requieren que las varianzas sean homogéneas y son más robustas frente a este tipo de violaciones de los supuestos. Este enfoque asegura que los análisis posteriores se realicen de acuerdo con los supuestos estadísticos de las pruebas utilizadas, lo que aumenta la fiabilidad y validez de los resultados obtenidos en el estudio. Es por ello por lo que a continuación, se aplicó el test de Wilcoxon. Puede apreciarse en la tabla 7 que todas las variables analizadas mostraron diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05). Estas diferencias sugieren que la presencia o ausencia de indicación para PGTA podría influir en la distribución y los resultados de estas variables, lo que es relevante para el diseño de futuros estudios y el análisis de la eficacia de las técnicas empleadas en los tratamientos de fecundación in vitro. En las figuras de la 1 a la 4 se buscaba representar visualmente dichas diferencias entre grupos.

En cuanto a las variables dicotómicas, los resultados obtenidos en la tabla 8 indican que no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre la especificación del ciclo de PGT y las variables reproductivas analizadas, incluyendo tasas de embarazo (ECO\_TOTAL y BHCG\_TOTAL), tasas de gestación en curso (OPR\_TOTAL), y complicaciones relacionadas con el aborto (ABORTO\_BIOQ, ABORTO\_1T\_TOTAL) o embarazos gemelares. Es importante destacar para poder interpretar de forma correcta los resultados que los valores de p observados en algunas variables, como BHCG\_TOTAL (p = 0.0814), ABORTO\_BIOQ (p = 0.0895), y EMBARAZO GEMELAR (p = 0.0672), se acercan al umbral convencional de significancia (p < 0.05). Esto podría sugerir que existe una tendencia hacia una posible relación, si bien no alcanza unos niveles significativos en este análisis. Este hallazgo podría justificar futuras investigaciones con tamaños muestrales algo más grandes a fin de incrementar el poder estadístico y poder confirmar o descartar estas tendencias. La falta de significancia también podría estar influida por varias limitaciones metodológicas, incluyendo el tamaño de la muestra, la heterogeneidad de los datos y posibles factores de confusión no controlados. Además, el uso de pruebas como Fisher exacto, necesario en casos con frecuencias bajas, podría haber limitado la sensibilidad del análisis para detectar asociaciones significativas. A todo esto, se le suma el hecho de que hay estudios que ya han reportado asociaciones entre la indicación de PGT-A y la mejora de resultados reproductivo. Por ende, a pesar de que los análisis estadísticos formales no identificaron asociaciones significativas, se supuso que el tamaño muestral limitado estaba afectando la capacidad de detectar diferencias. De hecho, al representar las proporciones (figura 5), se aprecia que hay una tendencia hacia una mayor incidencia de aborto bioquímico, aborto de primer trimestre y embarazo gemelar en el grupo de No PGT en comparación con el grupo PGT. Esta diferencia sugiere que, aunque los resultados no sean significativos desde un punto de vista estadístico, las proporciones indican una mayor prevalencia de eventos adversos en el grupo No PGT. Esta observación es relevante porque apunta a que, tal y como se ha comentado con anterioridad, la implementación del PGT podría estar asociada con una reducción de la tasa de pérdidas gestacionales tempranas y de embarazos gemelares, lo que es un hallazgo importante desde una perspectiva clínica. Por otro lado, es importante destacar que, si bien la proporción de beta positiva es mayor en el grupo PGT, las diferencias en las proporciones de eco positiva y embarazo en curso se van reduciendo significativamente entre los dos grupos. Este cambio podría explicarse por la mayor tasa de abortos en el grupo No PGT, que implica que, a pesar de un mayor número de embarazos confirmados por beta positiva en este grupo, una proporción considerable de estos no progresan, lo que afecta negativamente la tasa de embarazos en curso. Este fenómeno subraya un aspecto crítico de las pérdidas gestacionales en el grupo No PGT. Las mujeres en este grupo experimentan una tasa más alta de abortos, lo que no solo afecta las estadísticas, sino que tiene un impacto emocional y psicológico significativo para las pacientes. Las pérdidas gestacionales, particularmente las de tipo bioquímico o de primer trimestre, pueden generar un gran sufrimiento y frustración, tanto a nivel emocional como físico. En este sentido, el PGT parece ofrecer una ventaja al seleccionar embriones sin alteraciones cromosómicas, lo que potencialmente reduce las pérdidas gestacionales tempranas. Esto es relevante no solo desde una perspectiva médica, sino también para la calidad de vida de las mujeres, quienes pueden experimentar un mayor estrés y ansiedad debido a las múltiples pérdidas. La eficacia del PGT, por lo tanto, no solo puede medirse en términos de éxito clínico (como embarazo en curso), sino también en términos de reducción de la carga emocional y psicológica asociada con los abortos repetidos. Si bien las diferencias observadas en el análisis no fueron significativas, los resultados sugieren que el PGT puede ser un factor determinante en la reducción de las pérdidas gestacionales y la mejora de los resultados en términos de embarazos en curso. Además, es fundamental considerar el impacto psicológico de las pérdidas gestacionales y la importancia del PGT en la mejora no solo de los resultados reproductivos, sino también en el bienestar emocional de las mujeres que atraviesan tratamientos de fertilidad. Por ello, se llevó a cabo un análisis exploratorio descriptivo para comparar las frecuencias de estas variables clave, como el número de β-HCG positivas, entre los grupos con y sin especificación de PGT. En conclusión, aunque este estudio no encontró relaciones significativas entre la especificación del ciclo de PGT y los resultados reproductivos analizados, los datos sugieren la necesidad de exploraciones adicionales con diseños más robustos y tamaños muestrales mayores para evaluar mejor estas posibles relaciones.

En referencia al análisis descriptivo de las características de los grupos PGT y No PGT (tablas 9 y 10) reveló diferencias importantes en variables relacionadas con la calidad y el número de embriones. Las pacientes en el grupo PGT presentaron un mayor número de embriones maduros MII en día 0 y blastocistos utilizables en comparación con el grupo No PGT. Por otro lado, las edades de las mujeres y los hombres en ambos grupos fueron similares, lo que sugiere que los resultados no están sesgados por factores como la edad materna.

En la Tabla 11, se presentan los resultados del número de pacientes que no obtuvieron ciertos resultados clave en los procedimientos de fertilización y transferencia en los grupos PGT-A y No PGT-A. Es relevante señalar que el grupo PGT-A está compuesto por 34 pacientes, mientras que el grupo No PGT-A incluye 118 pacientes. Esta diferencia en el tamaño muestral debe tenerse en cuenta al interpretar los resultados, ya que un grupo más pequeño puede tener variabilidad en los datos que no se refleja necesariamente en la práctica clínica general.Al analizar los datos, se observa que los resultados sugieren que el grupo PGT-A muestra mejores tasas de recuperación de COC, fecundación y desarrollo embrionario, aunque la diferencia en el tamaño muestral limita la capacidad de generalizar estos hallazgos. Es fundamental tener en cuenta que la variabilidad observada en el grupo No PGT-A, debido a su mayor tamaño muestral, puede ofrecer una visión más representativa del proceso en una población mayor.

Existen diferentes aspectos a destacar relativos a los datos obtenidos en la primera transferencia (tabla 12). En primer lugar, se aprecia una diferencia en la media del número de embriones transferidos siendo mayor la del grupo sin indicación de PGT-A. Esto es debido a que los médicos con muchas pacientes al, “ir a ciegas”, puesto que no poseen ningún tipo de información sobre la carga genética del embrión, pero sospechando que pueden no ser euploides debido a la edad materna avanzada, deciden transferir 2. Como consecuencia, se aprecia en los resultados obtenidos que esto se traduce en un elevado número de embarazos gemelares, en concreto, un 8’47% de los pacientes sin indicación de PGT-A que se realizaron al menos una transferencia, terminaron en embarazo gemelar. Es importante hacer hincapié en que dicho embarazo gemelar se trata de una gestación de riesgo que podría comprometer la vida tanto del embrión como de la madre. Estas complicaciones se derivan de la mayor demanda fisiológica que supone llevar más de un feto y de las características particulares de los embarazos múltiples. Entre las complicaciones para la madre destacan; hipertensión gestacional y preeclampsia, causado por el aumento del volumen sanguíneo y la actividad placentaria, diabetes gestacional, debido a alteraciones hormonales que afectan la regulación de la glucosa, anemia, por la mayor necesidad de hierro y folato para sostener un embarazo múltiple, hemorragias y parto prematuro espontáneo así como una mayor probabilidad de cesárea, relacionada con la posición fetal anómala o complicaciones durante el parto. Entre las complicaciones para los fetos destacan de nuevo el parto prematuro, la restricción del crecimiento intrauterino (RCIU), ya que los fetos compiten por el especio, nutrientes y oxígeno, el síndrome de transfusión fetofetal (STFF) y en general, un mayor riesgo de anomalías congénitas, en comparación con los embarazos únicos. Este resultado podría justificarse de alguna manera si las tasas de éxito (traducidas en beta y eco positiva) aumentaran con respecto al grupo sin indicación de PGT-A, pero se puede apreciar que no es así puesto que mientras un 58% de los pacientes de este grupo obtuvieron una beta positiva, un 62% la obtuvieron en el grupo con PGT-A. Otro aspecto fundamental radica en el número de abortos. El aborto bioquímico y el aborto del primer trimestre son dos tipos de pérdidas gestacionales que se diferencian principalmente por el momento en el que ocurren y por cómo se manifiestan clínicamente. Un aborto bioquímico es una pérdida temprana del embarazo que ocurre poco después de la implantación del embrión. Este tipo de aborto se detecta únicamente mediante pruebas de embarazo, como análisis de sangre que miden los niveles de la hormona hCG, ya que ocurre antes de que se pueda observar evidencia de un saco gestacional en la ecografía (generalmente antes de las 5-6 semanas de gestación). Por ende, en este estudio fueron considerados como abortos bioquímicos aquellos casos de betas menores a 50 así como los casos en donde existía una beta positiva con eco negativa. El aborto en el primer trimestre ocurre durante las primeras 12 semanas de gestación y, a diferencia del bioquímico, suele detectarse únicamente mediante ecografía. En muchos de los casos, ya se había identificado un saco gestacional, un embrión o incluso actividad cardíaca antes de que ocurriera la pérdida. La diferencia entre ambos grupos es notable puesto que un 25% de las pacientes del grupo sin indicación de PGT sufrieron un aborto ya sea bioquímico o en el primer trimestre mientras del grupo de PGT, solo un 9% lo sufrieron.

Con respecto a los datos acumulados (tabla 14) se puede apreciar que se mantiene esta tendencia de reducir los problemas gestacionales dado que el grupo PGT continua teniendo una baja tasa de abortos bioquímicos (4.76%) y de abortos en el primer trimestre (2.38%) en comparación con el grupo No-PGT, que tiene un 10.87% de abortos bioquímicos y un 8.70% de abortos en el primer trimestre. Estos resultados refuerzan la idea de que el PGT-A ayuda a reducir la tasa de pérdidas tempranas, probablemente al evitar la transferencia de embriones con aneuploidías. Aunque el grupo PGT tiene una tasa ligeramente más alta de betas positivas (54.76%) y ecos positivas (50%) en comparación con el grupo No-PGT (52.90% y 42.03%, respectivamente), las diferencias no son tan marcadas. Esto podría indicar que la tasa de éxito de implantación en el grupo PGT es similar a la del grupo No-PGT, pero con una menor probabilidad de pérdidas posteriores debido a la selección genética.

Con respecto al análisis de supervivencia (Figura 10), esta muestra cómo la probabilidad de éxito varía con el tiempo en las diferentes etapas del proceso reproductivo. El eje X representa las diferentes etapas del proceso (Blastos Usables, BHCG Total, ECO Total, OPR Total), mientras que el eje Y muestra la probabilidad de éxito (1 = éxito, 0 = no éxito). Cada línea de la gráfica corresponde a un grupo, lo que permite comparar la evolución de la probabilidad de éxito entre el grupo PGT y el grupo No PGT. La gráfica y el modelo de supervivencia sugieren que, aunque el grupo no-PGT tiene una ventaja inicial, más tarde, ocurre un fenómeno conocido como como "convergencia" o "cruce" en donde este grupo, con una peor supervivencia al principio, se empieza a igualar con el tiempo. Esto podría explicarse por el hecho de que el grupo No PGT presenta una mayor tasa de pérdidas gestacionales en las primeras etapas, lo que reduce su número de gestaciones en curso, tal como se ha comentado con anterioridad. Por otro lado, el grupo PGT, al contar con una selección más estricta de embriones, mantiene un mayor número de gestaciones viables en las etapas posteriores. Esta diferencia en la tasa de pérdidas gestacionales puede contribuir a la convergencia observada en las curvas de supervivencia. En conclusión, las curvas de supervivencia sugieren que, aunque el grupo no-PGT muestra mejores resultados iniciales en términos de probabilidades de éxito, las diferencias entre los grupos se van reduciendo a medida que avanza el proceso, posiblemente debido a las mayores pérdidas gestacionales observadas.

Por otro lado, en el estudio del coste del proceso, los resultados del test de Welch confirman que hay una diferencia estadísticamente significativa en los costes entre los pacientes sometidos a tratamiento con PGT y aquellos que no lo están (tabla 15). La diferencia de 1,627.49 € es grande, y el valor p extremadamente bajo (< 2.2e-16) proporciona evidencia de que la media de los costes totales es mayor en el grupo PGT. Esta diferencia está relacionada con los procedimientos adicionales requeridos en los tratamientos con PGT ya que solo el hecho de aplicarlo supone un extra de 750 euros, así como 325 euros por cada embrión biopsiado. Si bien la diferencia en los costes es clara, no debe olvidarse que el beneficio de PGT debe ser evaluado en el contexto de los resultados a largo plazo, cosa que no se ha podido realizar en el presente estudio debido a plazos de tiempo. Como se ha comentado con anterioridad, si bien la primera transferencia supone un coste de 510 euros, a partir de la segunda el gasto se eleva a 1850. La media de transferencias en el grupo de PGT es de 0’52 mientras que la del grupo no-PGT es de 0’77. Este resultado parece indicar que si se repitiesen los análisis realizando un mayor seguimiento del tiempo, probablemente el número de transferencias del grupo no-PGT aumentaría llegando a compensar o incluso a superar los gastos asociados al análisis genético.

Para concluir, los resultados del análisis del tiempo transcurrido entre la punción y la obtención de una prueba ecográfica positiva y/o gestación en curso (figuras 11 y 12), ofrecen una perspectiva interesante al considerar la eficacia del PGT. Si bien es cierto que las medias de ambos grupos no muestran diferencias estadísticamente significativas (p = 0.3486), se observa una mayor variabilidad en el grupo No-PGT, con tiempos que van desde 5 hasta 272 días, en comparación con el rango más contenido del grupo PGT (21 a 244 días). Este resultado se puede interpretar como un indicador de que, cuando el tratamiento transcurre sin complicaciones, los tiempos son similares en ambos grupos. No obstante, en el grupo No-PGT, los casos en los que los tiempos de tratamiento son considerablemente más largos podrían estar reflejando pacientes que experimentaron dificultades adicionales, como cancelaciones de ciclos, primeras transferencias negativas o falta de embriones viables. Esto podría sugerir que el enfoque No-PGT puede estar asociado con una mayor incertidumbre en los tiempos de tratamiento, lo que podría derivar en una experiencia más impredecible para los pacientes, aumentando la carga emocional que supone el proceso. Por otro lado, el PGT podría ofrecer un enfoque más eficiente y consistente, reduciendo de esta forma las tasas de transferencia de embriones no viables y disminuyendo las pérdidas gestacionales. Si bien es cierto que el procedimiento PGT requiere de unos pasos adicionales debido al análisis genético de los embriones, todo parece indicar que estos procedimientos no alargan sustancialmente el tiempo de tratamiento en pacientes con buenos resultados. Esto sumado a que el grupo PGT muestra menos variabilidad, podría decirse que el uso de esta técnica permite una mayor optimización en el manejo clínico, asegurando transferencias en condiciones ideales. Es crucial enfatizar que los tiempos más largos y la mayor variabilidad observada en el grupo No-PGT no solo afectan los resultados clínicos, sino que también tienen implicaciones emocionales significativas para los pacientes. Las cancelaciones y demoras prolongadas pueden generar un estrés adicional, mientras que las pérdidas gestacionales recurrentes, más frecuentes en este grupo, podrían tener un impacto psicológico considerable en las mujeres. Por ello, promover el uso de la técnica PGT no solo mejoraría la eficacia del tratamiento, sino también puede contribuir a una experiencia más positiva y predecible para las pacientes. En resumen, estos resultados respaldan la hipótesis de que el PGT no solo optimiza los resultados reproductivos, sino que también puede reducir las complicaciones asociadas con tratamientos más prolongados o inciertos en pacientes que no recurren al análisis genético.

En última instancia, quiero destacar que el objetivo del presente trabajo de fin de máster no solo se basa en determinar la efectividad de esta técnica si no que también se ha buscado generar un código que permita a otras clínicas determinarlo. El desarrollo de esta herramienta posee el potencial de mejorar significativamente la evaluación de la efectividad clínica de la técnica PGT-A. A su vez, proporciona a las clínicas de fertilidad una metodología estandarizada que fomenta la toma de decisiones basadas en datos, optimizando los recursos y mejorando los resultados de los pacientes. A largo plazo, esta herramienta podría llegar a servir como un estándar para la evaluación continua de la PGT-A y su impacto en el contexto clínico, facilitando la comparabilidad de resultados entre distintas instituciones y promoviendo la mejora de la práctica en la medicina reproductiva.

# conclusión

El presente estudio aporta evidencia preliminar sobre la eficacia de la aplicación de la técnica de PGT-A en términos de reducción de pérdidas gestacionales y embarazos gemelares. Estos resultados refuerzan la utilidad de esta técnica para mejorar los resultados clínicos en tratamientos de reproducción asistida al reducir los riesgos asociados a embarazos múltiples y las complicaciones derivadas de la pérdida gestacional (haciendo referencia tanto al aborto bioquímico como al del primer trimestre). Sin embargo, cabe destacar que se ha observado un mayor coste asociado a la implementación del PGT-A, lo que plantea la necesidad de reevaluar su rentabilidad en otros contextos clínicos específicos. Este análisis costo-efectividad requerirá estudios más amplios y a largo plazo que permitan valorar de forma integral el impacto que posee la técnica no solo en los resultados clínicos inmediatos, sino también en el número de transferencias necesarias para alcanzar un nacimiento vivo, y en el bienestar emocional y económico de los pacientes. Los resultados obtenidos subrayan la relevancia de realizar un estudio más robusto, con un mayor número de casos y un seguimiento extendido en el tiempo con el fin confirmar las tendencias observadas y proporcionar conclusiones más definitivas sobre los beneficios y limitaciones del PGT-A en el contexto de una clínica de reproducción asistida.

Por otro lado, un aspecto relevante de este trabajo ha sido el desarrollo de un código personalizable para analizar la eficacia de la técnica en cuestión en cada clínica de fertilidad. Esta herramienta permitiría a las clínicas evaluar de manera precisa el rendimiento del PGT-A en sus pacientes, facilitando la toma de decisiones de los médicos basada en datos reales y adaptados a sus necesidades específicas. Esto representa una contribución práctica significativa, alineada con el objetivo de optimizar los recursos disponibles y mejorar la calidad de los servicios ofrecidos en el ámbito de la medicina reproductiva.

En resumen, este trabajo establece una base prometedora para investigaciones futuras que permitan consolidar la evidencia en torno a la eficacia del PGT-A, reforzando la importancia de herramientas analíticas personalizadas para la evaluación de las técnicas en cada entorno clínico.

# LImitaciones

Este análisis presenta varias limitaciones que han de tenerse en cuenta al interpretar los resultados y su aplicabilidad. Las limitaciones en cuestión se detallan a continuación:

1. **Pequeño tamaño muestral y distribución desigual entre los grupos de estudio**  
   La comparación entre los grupos de pacientes sometidos a PGT-A (n = 80) y los que no utilizaron esta técnica (n = 188) se ve afectada por la diferencia en el tamaño muestral entre ambos grupos. Esta disparidad podría influir en la robustez estadística de los análisis y limitar la generalización de los resultados. Un tamaño muestral más equilibrado entre los grupos permitiría realizar comparaciones más sólidas y reduciría la probabilidad de sesgo en la interpretación de las diferencias observadas.
2. **Falta de transferencias en un porcentaje significativo de pacientes del grupo PGT-A**  
   Entre los 80 pacientes del grupo PGT-A, un número considerable aún no ha tenido ninguna transferencia embrionaria al momento de realizar este análisis. Esto limita la capacidad de evaluar resultados acumulados como el nacimiento vivo por ciclo iniciado, dado que estos pacientes podrían mejorar significativamente las tasas de éxito acumulado en este grupo. Por lo tanto, los resultados actuales no reflejan el rendimiento completo de la técnica PGT-A y podrían subestimar sus beneficios.
3. **Necesidad de un seguimiento a largo plazo para resultados más concluyentes**  
   El diseño temporal del estudio, determinado por las fechas límite del TFM, no permite un seguimiento completo de los casos incluidos. Esto es especialmente relevante para el grupo de PGT-A, ya que uno de los beneficios esperados de esta técnica es la reducción del número de transferencias necesarias para lograr un nacimiento vivo. Sin un seguimiento adecuado, no es posible confirmar si este beneficio se materializa a lo largo del tiempo. Se prevé que la continuación del estudio con un mayor tiempo de observación pueda demostrar ventajas claras del PGT-A en términos de eficiencia y resultados clínicos.

# Referencias bibliográficas

1. Kimelman D, Pavone ME. Non-invasive prenatal testing in the context of IVF and PGT-A. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2021;70:51–62. doi:10.1016/j.bpobgyn.2020.07.004
2. Viotti M. Chromosomal abnormalities in embryos generated by assisted reproductive technology (ART) or natural conception. 2020.
3. Tomic V, et al. Morphological assessment versus genetic testing in embryo selection. 2022.
4. Mikwar M, et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) and embryo selection. 2020.
5. Munné S, Lee A, Rosenwaks Z, Grifo J, Cohen J. Fertilization and early embryology: Diagnosis of major chromosome aneuploidies in human preimplantation embryos. Hum Reprod. 1993;8:2185–91. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a138001.
6. Biggers JD, Summers MC. Choosing a culture medium: making informed choices. Fertil Steril. 2008;90:473–83. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.08.010.
7. Summers MC, Bird S, Mirzai FM, Thornhill A, Biggers JD. Human preimplantation embryo development in vitro: a morphological assessment of sibling zygotes cultured in a single medium or in sequential media. Hum Fertil. 2013;16:278–85. doi: 10.3109/14647273.2013.806823.
8. Sfontouris IA, Martins WP, Nastri CO, Viana IGR, Navarro PA, Raine-Fenning N, et al. Blastocyst culture using single versus sequential media in clinical IVF: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. J Assist Reprod Genet. 2016;33:1261–72. doi: 10.1007/s10815-016-0774-5.
9. Werner MD, Hong KH, Franasiak JM, Forman EJ, Reda CV, Molinaro TA, et al. Sequential versus Monophasic Media Impact Trial (SuMMIT): a paired randomized controlled trial comparing a sequential media system to a monophasic medium. Fertil Steril. 2016;105:1215–21. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.01.005.
10. Tolmacheva EN, Vasilyev SA, Lebedev IN. Aneuploidy and DNA Methylation as Mirrored Features of Early Human Embryo Development. Genes (Basel). 2020 Sep 17;11(9):1084. doi: 10.3390/genes11091084. PMID: 32957536; PMCID: PMC7564410.
11. Chavli EA, Klaasen SJ, Van Opstal D, Laven JS, Kops GJ, Baart EB. Single-cell DNA sequencing reveals a high incidence of chromosomal abnormalities in human blastocysts. J Clin Invest. 2024;134(6):e174483. doi: 10.1172/JCI174483
12. McCoy RC, Demko ZP, Ryan A, Banjevic M, Hill M, Sigurjonsson S, et al. Evidence of selection against complex mitotic-origin aneuploidy during preimplantation development. PLoS Genet. 2015;11:e1005601. doi: 10.1371/journal.pgen.1005601.
13. McCoy RC, Summers MC, McCollin A, Ottolini CS, Ahuja K, Handyside AH. Meiotic and mitotic aneuploidies drive arrest of in vitro fertilized human preimplantation embryos. Genome Med. 2023;15(1):77. doi: 10.1186/s13073-023-01231-1.
14. Gardner, R. L., & Edwards, R. G. (1968). Control of the sex ratio at full term in the rabbit by transferring sexed blastocysts. *Nature*, *218*(5139), 346–349. <https://doi.org/10.1038/218346a0>
15. Cimadomo D, Rienzi L, Capalbo A, Rubio C, Innocenti F, García-Pascual CM, Ubaldi FM, Handyside A. The dawn of the future: 30 years from the first biopsy of a human embryo. The detailed history of an ongoing revolution. Hum Reprod Update. 2020;26(4):453–73. doi:10.1093/humupd/dmaa019
16. Hooper M, Hardy K, Handyside A, Hunter S, Monk M. HPRT-deficient (Lesch–Nyhan) mouse embryos derived from germline colonization by cultured cells. Nature. 1987;326:292–5.
17. Verlinsky Y, Pergament E, Binor Z, et al. Genetic analysis of human embryos prior to implantation: future applications of in-vitro fertilization in treatment and prevention of human genetic diseases. In: Feichtinger W, Kemeter P, editors. *Future aspects in human in-vitro fertilization*. Berlin: Springer-Verlag; 1987. p. 262–266.
18. Dokras A, Sargent IL, Ross C, Gardner RL, Barlow DH. Trophectoderm biopsy in human blastocysts. Hum Reprod. 1990;5:821–5.
19. Muggleton-Harris AL, Findlay I. In-vitro studies on 'spare' human preimplantation embryos in culture. Hum Reprod. 1991;6:85–92.
20. Griffin DK, Handyside AH, Penketh RJ, et al. Fluorescent in-situ hybridization to interphase nuclei of human preimplantation embryos with X and Y chromosome specific probes. Hum Reprod. 1991;6(1):101–105.
21. Grifo JA, Boyle A, Fischer E, et al. Preembryo biopsy and analysis of blastomeres by in situ hybridization. Am J Obstet Gynecol. 1990;163(6 Pt 1):2013–2019.
22. Grifo JA, Boyle A, Tang YX, et al. Preimplantation genetic diagnosis. In situ hybridization as a tool for analysis. Arch Pathol Lab Med. 1992;116(4):393–397.
23. Munne S, Lee A, Rosenwaks Z, et al. Diagnosis of major chromosome aneuploidies in human preimplantation embryos. Hum Reprod. 1993;8(12):2185–91.
24. Munne S, Fung J, Cassel MJ, et al. Preimplantation genetic analysis of translocations: case-specific probes for interphase cell analysis. Hum Genet. 1998;102(6):663–74.
25. Simpson JL, Kuliev A, Rechitsky S. Overview of Preimplantation Genetic Diagnosis (PGD): Historical Perspective and Future Direction. Methods Mol Biol. 2019;1885:23-43. doi:10.1007/978-1-4939-8889-1\_2
26. McArthur SJ, Leigh D, Marshall JT, de Boer KA, Jansen RP. Pregnancies and live births after trophectoderm biopsy and preimplantation genetic testing of human blastocysts. Fertil Steril. 2005;84(6):1628–36. doi:10.1016/j.fertnstert.2005.05.063
27. Bakkensen JB, Steiner AZ, Sun F, Wu M, Wang J, Schust DJ, et al. A SART data cost-effectiveness analysis of planned oocyte cryopreservation versus in vitro fertilization with preimplantation genetic testing for aneuploidy considering ideal family size. *Fertil Steril.* 2022;118(5):875–84. doi:10.1016/j.fertnstert.2022.07.022.
28. Treff NR, Marin D. The "mosaic" embryo: misconceptions and misinterpretations in preimplantation genetic testing for aneuploidy. Fertil Steril. 2021;116(5):1205-11. doi:10.1016/j.fertnstert.2021.06.027
29. Popovic M, Dhaenens L, Boel A, Menten B, Heindryckx B. Chromosomal mosaicism in human blastocysts: the ultimate diagnostic dilemma. Hum Reprod Update. 2020;26(3):313-34. doi:10.1093/humupd/dmz050
30. Casper RF. PGT-A: Houston, we have a problem. J Assist Reprod Genet. 2023;40(10):2325-32. doi:10.1007/s10815-023-02913-w
31. Capalbo A, Ubaldi FM, Cimadomo D, Maggiulli R, Patassini C, Dusi L, Sanges F, Buffo L, Venturella R, Rienzi L. Consistent and reproducible outcomes of blastocyst biopsy and aneuploidy screening across different biopsy practitioners: a multicentre study involving 2586 embryo biopsies. *Hum Reprod*. 2016;31(1):199–208.
32. Fiorentino F, Bono S, Biricik A, Nuccitelli A, Cotroneo E, Cottone G, Kokocinski F, Michel CE, Minasi MG, Greco E. Application of next-generation sequencing technology for comprehensive aneuploidy screening of blastocysts in clinical preimplantation genetic screening cycles. *Hum Reprod*. 2014;29(12):2802–2813.
33. Cimadomo D, Rienzi L, Romanelli V, Alviggi E, Levi-Setti PE, Albani E, Dusi L, Papini L, Livi C, Benini F, et al. Inconclusive chromosomal assessment after blastocyst biopsy: prevalence, causative factors and outcomes after re-biopsy and re-vitrification. A multicenter experience. *Hum Reprod*. 2018;33(10):1839–1846.
34. Neal SA, Morin SJ, Tiegs AW, Sun L, Franasiak JM, Kaser DJ, Hong KH, Werner MD, Scott RT. Repeat biopsy for preimplantation genetic screening (PGS) reanalysis does not adversely impact obstetrical outcomes. *Fertil Steril*. 2018;109(5):e41.
35. Nohales M, Coello A, Martin A, Insua F, Meseguer M, de Los Santos MJ. Should embryo rebiopsy be considered a regular strategy to increase the number of embryos available for transfer? *J Assist Reprod Genet*. 2023;40(10):1905–1913.
36. Bickendorf K, Qi F, Peirce K, Wang R, Natalwala J, Chapple V, et al. Impacts of double biopsy and double vitrification on the clinical outcomes following euploid blastocyst transfer: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2024;39(12):2674–84. doi:10.1093/humrep/deae235.
37. Wickham H, Bryan J. readxl: Read Excel Files. R package version 1.3.1; 2019.
38. Ooms J. writexl: Export Data Frames to Excel 'xlsx' Format. R package version 1.4; 2021.
39. Wickham H. Reshaping Data with the reshape Package. *J Stat Softw*. 2007;21(12):1–20.
40. Wickham H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer; 2016.
41. R Core Team. (2022). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing.
42. Kuhn, M. (2008). Building Predictive Models in R Using the caret Package. *Journal of Statistical Software, 28*(5), 1-26.
43. Código en R

El código empleado para realizar este trabajo de fin de máster pueden encontrarlo en el siguiente archivo html

<file:///C:/Users/rocio/OneDrive/Escritorio/TFM/TFM_Roc%C3%ADo_Trinidad_Lahoz.html>

así como en este repositorio de GitHub <https://github.com/rociotrinidad2/TFM_Rocio_Trinidad_Lahoz>