



Diagnóstico genético preimplantación

Preimplantation genetic diagnosis

Leonor Durán Monterrosas,* Alberto Kably Ambe[†]

Resumen

El diagnóstico genético preimplantacional (DGP) es un conjunto de acciones y procedimientos diagnósticos que permite conocer en un embrión la presencia o no de una determinada anomalía genética asociada con una enfermedad antes de su posible transferencia uterina. Esta evaluación tiene varias formas, como el tamizaje genético previo a la implantación (PGS), ahora denominado análisis genético preimplantacional para aneuploidías (PGT-A). El proceso involucra la derivación y el asesoramiento de las parejas, el tratamiento estándar de FIV, la obtención de ovocitos, cultivo de embriones, biopsia, diagnóstico genético y finalmente, la transferencia selectiva de embriones.

Palabras clave: Diagnóstico genético preimplantacional, análisis genético preimplantacional.

Summary

Preimplantation genetic diagnosis (PGD) is a group of actions and diagnostic procedures that allow us to know the presence or absence of a certain genetic anomaly in an embryo before its uterine transfer. This evaluation can be performed in many ways one of them is the genetic screening previous to the implantation also known as preimplantation genetic analysis for aneuploidies. The process involves couple's counseling, standard IVF treatment, oocyte aspiration, embryo culture, biopsy, genetic diagnosis and finally selective embryo transfer.

Keywords: Preimplantation genetic diagnosis, preimplantation genetic analysis.

INTRODUCCIÓN

La fertilización *in vitro* (FIV) es el tratamiento más avanzado para aquellos pacientes diagnosticados con infertilidad. También es una estrategia de tratamiento importante para la evaluación de un embrión a través del diagnóstico genético previo a la implantación. Es una prueba específica que se ofrece a los pacientes que tienen un alto riesgo de transmitir un defecto conocido de un solo gen a su descendencia.

Se realiza un diagnóstico genético cuando uno o ambos padres portan una mutación genética o una reorganización cromosómica equilibrada, y se realizan pruebas para determinar si se trata de una mutación específica, o bien un complemento cromosómico desequilibrado que se ha transmitido al ovocito o embrión.

El diagnóstico genético preimplantacional es conocido por sus siglas en inglés como PGD. Esta evaluación tiene varias formas, como el screening genético previo a la implantación (PGS), ahora denominado análisis genético

preimplantacional para aneuploidías (PGT-A). El proceso involucra la derivación y el asesoramiento de las parejas, el tratamiento estándar de FIV, la obtención de ovocitos, el cultivo de embriones, la biopsia, el diagnóstico genético y, finalmente, la transferencia selectiva de embriones “no afectados”.

El PGT-A se ha propuesto para aquellas parejas infériles que están en un tratamiento de reproducción asistida. Las principales indicaciones incluyen la edad materna avanzada, falla repetida de la implantación, el aborto espontáneo recurrente y la infertilidad masculina severa.^{1,2}

El primer procedimiento de PGD exitoso fue realizado por el Dr. Alan Handyside en 1990. Este caso utilizó la identificación del cromosoma Y para reducir las posibilidades de tener un hijo con una enfermedad recesiva ligada al X, que se sabe que existe en la madre.³ El grupo de Handyside presentó los primeros casos de PGD en el mundo, en el que los embriones masculinos, femeninos y con síndrome de Turner se podían identificar fácilmente mediante la técnica de hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH). Simultánea-

* Bióloga del Laboratorio del Centro Mexicano de Fertilidad (CEPAM). Coordinadora del Laboratorio de Andrología del Centro Mexicano de Fertilidad (CEPAM).

[†] Director del Centro Mexicano de Reproducción Humana. Centro Especializado para la Atención de la Mujer (CEPAM).

Correspondencia:

Dr. Alberto Kably Ambe
Correo electrónico: drkably@gmail.com

www.medigraphic.com/actamedica

mente, Munné et al. aplicaron el PGD mediante la técnica de FISH por primera vez al utilizar sondas directamente marcadas.^{4,5} Con esto, muchos grupos comenzaron a usar la tecnología PGD para realizar pruebas de aneuploidía y translocaciones por FISH, y trastornos monogénicos por PCR. Para el año 2001, Verlinsky et al. informaron el primer PGD exitoso con antígeno leucocitario humano para un SIB con anemia de Fanconi por análisis de haplotipos.⁶

La principal limitación de la tecnología del FISH fue que sólo se podían analizar alrededor de cinco a 12 pares de cromosomas para detectar la aneuploidía. Por lo tanto, se inició una investigación adicional para desarrollar mejores técnicas que pudieran probar aneuploidías en todos los cromosomas mediante el uso de una única blastómera dentro de las 24 a 72 horas de la biopsia.

Las mejoras en las técnicas utilizadas han permitido evaluar un número creciente de trastornos mediante el diagnóstico de PGD, incluida la enfermedad de Huntington, la hemofilia y la fibrosis quística.^{7,8}

En 1999, se demostró el uso de la tecnología de hibridación genómica comparativa (CGH) en blastómeras humanas para verificar las aneuploidías de todos los cromosomas. En el año 2000, Voullaire et al. realizaron un estudio de 12 embriones humanos utilizando la técnica de CGH en más de 60 blastómeras. El estudio demostró la presencia de aneuploidía parcial, así como la ganancia y pérdida de fragmentos de cromosomas que no se identificaron previamente mediante el análisis con FISH.^{9,10}

A partir de entonces, la tecnología CGH se ofreció con éxito a muchas parejas para la detección de todas las aneuploidías cromosómicas y las translocaciones desequilibradas. El principal inconveniente de la tecnología era la necesidad de la criopreservación de embriones, ya que se necesitaban varios días para realizar las pruebas; otro inconveniente fue la incapacidad de esta tecnología para detectar la triploidía o la tetraploidía.

ESTRATEGIA DE BIOPSIA

Actualmente las diferentes técnicas de genética molecular permiten el análisis completo de los 23 pares de cromosomas, es decir, 22 pares de autosomas y los cromosomas sexuales, lo que se denomina "24 cromosomas" en una sola célula o un número reducido de células. Disponemos de una evidencia definitiva que indica la alta incidencia del número anormal de copias de cromosomas o aneuploidía, tanto en los gametos como en todas las fases del desarrollo preimplantacional. Además, estas aneuploidías pueden aparecer a través de un mosaicismo gonadal, durante la meiosis (predominantemente en la meiosis femenina) y en las divisiones de segmentación mitósica tras la fecundación y hasta el estadio de blastocisto.¹¹

El diagnóstico genético preimplantación puede realizarse en diferentes etapas del desarrollo embrionario, a través de tres fuentes para la obtención del ADN (*Figura 1*):

- Biopsia del cuerpo polar I y II antes de la fecundación y en el momento de la fecundación, respectivamente.
- Biopsia de una blastómera en ovocitos fecundados segmentados con seis a ocho células durante el tercer día del desarrollo *in vitro*.
- Biopsia de trofoectodermo del blastocisto en el quinto o sexto día.

Para poder obtener las células se debe realizar una perforación en la zona pelúcida, ya sea por métodos mecánicos, químicos o láser.

Biopsia de cuerpo polar

Las opciones disponibles son la biopsia del primer cuerpo polar o del segundo cuerpo polar y la biopsia simultánea o secuencial de ambos cuerpos polares. Numerosos estudios han puesto de manifiesto que los cuerpos polares pueden usarse para una gran variedad de pruebas con fines diagnósticos. La gama de técnicas abarca desde las enfermedades genéticas hasta las aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas. Sin embargo, el principal inconveniente es que sólo permite la verificación de aneuploidías meioticas maternas y no pueden usarse para diagnosticar cromosomas paternos o errores postmeioticos como el mosaicismo, además de no poderse determinar el sexo del embrión. Por esa razón, su aplicación se limita a diagnosticar anomalías y translocaciones meioticas maternas.

La biopsia del cuerpo polar sólo es útil cuando las mujeres tienen un mayor riesgo de transmisión de enfermedades monogenéticas o aneuploidías inherentes a la edad materna.^{12,13}

Biopsia de blastómera

Al tercer día después de la fertilización, la mayoría de los embriones desarrollados normalmente alcanzan la etapa de segmentación, en la cual el embrión consiste de aproximadamente seis a ocho células. La biopsia en etapa de segmentación se realiza mediante la extracción de una o dos blastómeras en los embriones con núcleo visible al día tres y los que tienen más de seis blastómeras; así los mejores embriones son los que tienen ocho blastómeras y menos del 15 % de fragmentos.

La biopsia en la etapa de segmentación permite el tiempo suficiente para realizar el análisis antes de que el embrión alcance la etapa de blastocisto. Esta técnica ha sido el método más antiguo y más utilizado para el PCT-A. Sin embargo, la



- Aceptación legal de países donde no se puede realizar en embriones.
- Se limita a diagnóstico de alteraciones meióticas maternas.
- Técnicas estandarizadas.
- Impacto negativo en el desarrollo embrionario.
- Altos niveles de mosaicismo.
- Remoción de pocas células de todo el blastocito.
- Remoción de células del TE y no de las MCI.
- No afecta la viabilidad del embrión.
- No tiene impacto sobre la vitrificación.

Figura 1: Biopsia del cuerpo polar, embrión y blastocisto.

biopsia en etapa de segmentación tiene problemas técnicos y biológicos. Uno de los más importantes es la tasa de mosaicismo, la cual se encuentra en su nivel más alto en embriones en etapa de segmentación, independientemente de la edad materna. Para aumentar la detección de mosaicismo, se realiza la biopsia de dos células que a menudo resulta en la pérdida de volumen embrionario en al menos un 25%.

También hay evidencias de un análisis de *time-lapse* que menciona que la dinámica del desarrollo se ve afectada después de la remoción de las blastómeras, lo que causa una compactación retrasada y alteración de la eclosión de embriones.^{14,15} Por lo tanto, aunque la biopsia en etapa de segmentación ha sido históricamente el método de biopsia más comúnmente usado, se está reemplazando gradualmente por la biopsia en etapa de blastocisto.¹⁶

Biopsia de blastocisto

El blastocisto es el grado de desarrollo más alto que un embrión puede alcanzar en condiciones *in vitro* y se caracteriza por tres elementos: la masa celular interna, la capa celular externa o el trofoblasto y el blastocele.

Tras el éxito de la aplicación del cultivo extendido de blastocitos, se inició el desarrollo de la biopsia de trofoblasto. Un blastocisto tiene más de 100 células y, por lo tanto, un menor riesgo de que la eliminación de tres a 10 células del trofoblasto afecte la viabilidad del embrión.

La biopsia de blastocisto se realiza mediante la extracción de células del trofoblasto, el cual —se cree— representa la masa celular interna de la que surge el embrión. Una de las principales ventajas de la biopsia con blastocitos es que se pueden recuperar múltiples células de cada embrión sin tocar la masa celular embrionaria. Por lo tanto, la invasión del procedimiento, si no es nula, ciertamente se reduce en comparación con la biopsia de blastómera, con el beneficio adicional de un menor grado de mosaicismo.^{17,18}

TÉCNICAS AVANZADAS DE ANÁLISIS GENÉTICO EN PGT-A

La forma en que se realiza actualmente el PGT-A incluye lo siguiente:

- 1) La capacidad de evaluar simultáneamente el estado de ploidía de todos los cromosomas.
- 2) La capacidad de realizar una biopsia de trofoblasto.
- 3) La capacidad de vitrificar embriones después de la biopsia.

En la actualidad, el análisis cromosómico completo se realiza con diferentes plataformas genéticas, como la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (PCR), la hibridación genómica comparativa metafase (mCGH), la hibridación genómica comparativa de matriz (aCGH), el *microarray* de polimorfismo de nucleótido único (SNP),

y, más recientemente, la secuenciación de próxima generación (NGS).^{19,20}

PCR cuantitativa o PCR en tiempo real

Recientemente, la PCR se ha adaptado para el análisis del número de copias del cromosoma. Esta técnica requiere una reacción multiplex de alto orden después de realizar la preamplificación para aumentar al menos dos secuencias en cada brazo de cada cromosoma y para obtener una rápida cuantificación y comparación de cada producto a través del genoma en alrededor de cuatro a seis horas. Esta tecnología se ha empleado en PGT-A y ha demostrado una mejora en la implantación y las tasas de nacimientos vivos en ciclos de FIV. Es confiable para determinar la aneuploidía, pero no es ideal para detectar aberraciones cromosómicas estructurales o disomía uniparental.²¹⁻²⁴

Métodos basados en microarrays

Hay dos tipos principales de *microarrays* disponibles para pruebas genéticas. Se trata de un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) y matrices de hibridación genómica comparativa (aCGH). La CGH basada en *microarrays* tiene mayor resolución, rendimiento y velocidad que la CGH convencional, y se ha adoptado con éxito en el campo de PGD/PGT-A. Con el ADN marcado diferencial hibridado en la micromatriz que contiene sondas de ADN BAC, la aCGH puede evaluar anomalías cromosómicas como el número de copias y las translocaciones desequilibradas. Asimismo, es compatible con los métodos de muestreo, es decir, con la biopsia de trofoblasto, biopsia de blastómera y biopsia de cuerpo polar.²⁵⁻³⁰

La matriz SNP se diseñó inicialmente para estudios de asociación de genoma completo (GWAS) antes de su primera aplicación en PGD/PGS en 2011. Con millones de sondas que cubren todo el genoma, la serie de SNP tiene una resolución relativamente alta en la detección de trastornos de un solo gen, translocación equilibrada o desequilibrada, así como aneuploidía que incluye triploidía y disomía uniparental.^{31,32}

Para ampliar y mejorar el espectro de diagnóstico de los métodos de aCGH y SNP, Handyside et al. propusieron el término “karyomap”, que, en contraste con “cariotipo”, identifica los genotipos SNP de la descendencia de cuatro posibles haplotipos heredados en todos los cromosomas y, por lo tanto, revela posibles anomalías cromosómicas y mutaciones de un solo gen. El *karyomapping* es compatible con muchos métodos de biopsia diferentes, como la biopsia con blastocistos y biopsia de blastómera.^{33,34}

Secuenciación de próxima generación (NGS)

La NGS se basa en una secuenciación de ADN paralela de rendimiento altamente eficaz, la cual logra la secuenciación a escala del genoma en pocos días o incluso en 24 horas. La secuenciación de próxima generación es la plataforma más nueva para PGS, el cual realiza un alto rendimiento y una secuenciación de alta resolución por síntesis. La *Ta-ble 1* resume la capacidad de detección de las diferentes plataformas; todas ellas pueden evaluar la aneuploidía de cromosomas completos con tasas de error bajas, pero no todas las plataformas pueden detectar de manera confiable translocaciones desequilibradas, aneuploidías segmentarias, poliploidía o mosaicismo. La secuenciación de la

Tabla 1: Comparación de las plataformas actuales de PGT-A para la detección cromosómica completa.

Características	qPCR	aCGH	SNP array	Alta resolución NGS
Total de señales de datos independientes * (Lecturas por muestra)	96	2,700	32,000	700,000
Resolución en millones de megabytes	20	6	6	3
Diagnóstico erróneo de aneuploidías (%)	1	2	2	0
Traslocaciones desequilibradas	No	Sí	Sí	Sí
Aneuploidías parciales	No	Sí	Sí	Sí
Poliploidía	No	No	Sí	Sí
Porcentaje de mosaicismo detectable	No	40-60	No	20-80

Abreviaturas: qPCR = Reacción en cadena de polimerasa cuantitativa; aCGH = Matriz de hibridación genómica comparativa; SNP = Polimorfismo de un solo nucleótido; NGS = Secuenciación de próxima generación.

* Número de lecturas por ejecución × número de muestras por ejecución × porcentaje de lecturas perdidas = número de lecturas por muestra. Friedenthal. NGS increases ongoing PRs. Fertil Steril. 2017.



Trofoblasto (TE); Masa celular interna (MCI).

Figura 2: Diferentes tipos de mosaicismo.

próxima generación ha ganado popularidad debido a su capacidad para identificar translocaciones desequilibradas, aneuploidías segmentarias, algunas triploides y menores niveles de mosaicismo que otras técnicas.^{14,35-37}

CONSIDERACIONES CLÍNICAS

El mosaicismo cromosómico de un embrión, que se define como la presencia de dos o más linajes celulares distintos dentro del embrión, ha llevado recientemente a una discusión que involucra la competencia de los embarazos normales. La aneuploidía (desequilibrio en el número de cromosomas) se ha considerado durante mucho tiempo como uno de los principales factores que afectan la tasa de éxito de FIV. Sin embargo, el mosaicismo de un solo cromosoma o segmento es un evento común que, lamentablemente, limita la capacidad predictiva del PGD. Si se transfiere o no un embrión de mosaico, sigue siendo un tema de debate. Siempre es difícil tomar decisiones sobre la transferencia de estos embriones, especialmente en los casos en que todos los embriones se reportan en mosaico o aneuploides y la pareja no puede intentar otro ciclo (*Figura 2*). Los embriones de mosaico se implantan con menos frecuencia y abortan con más frecuencia que los embriones euploides. A pesar de ello, algunos embriones en mosaico dan como resultado nacidos vivos sanos. Existen muy pocos datos sobre el seguimiento de los bebés nacidos después de la transferencia de embriones de mosaico, pero no se han informado cariotipos anormales, lo que sugiere que la línea celular anormal se eliminó o creció tan lentamente que ya no se pudo detectar.^{14,38,39}

Idealmente, la selección genética de embriones debe realizarse con un método no invasivo o mínimamente invasivo, preciso, sencillo de interpretar y de bajo costo. Actualmente, se está trabajando con métodos no invasivos mediante el muestreo del fluido de blastocele, “blastocentesis”, o simplemente el muestreo de los medios de cultivo donde se cultivaron los embriones. Aunque prometedor,

este enfoque debe estar fundamentado en investigaciones adicionales donde se demuestre que es representativo de la constitución cromosómica del embrión. Por lo tanto, se puede concluir que queda mucho camino por recorrer antes de que PGT-A se incorpore como un procedimiento de rutina en la práctica de FIV a nivel mundial.

REFERENCIAS

1. Mastenbroek S, Twisk M, van der Veen F, Repping S. Preimplantation genetic screening: a systematic review and meta-analysis of RCTs. *Hum Reprod Update*. 2011; 17 (4): 454-466.
2. Simpson JL. Preimplantation genetic diagnosis to improve pregnancy outcomes in subfertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2012; 26 (6): 805-815.
3. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RM. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature*. 1990; 44 (6268): 768-770.
4. Griffin D, Wilton L, Handyside A, Winston R, Delhanty J. Pregnancies following the diagnosis of sex in preimplantation embryos by fluorescent *in situ* hybridisation. *BMJ*. 1993; 6 (6889): 1382.
5. Munné S, Weier HU, Stein J, Grifo J, Cohen J. A fast and efficient method for simultaneous X and Y *in situ* hybridization of human blastomeres. *J Assist Reprod Genet*. 1993; 10 (1): 82-90.
6. Verlinsky Y, Rechitsky S, Schoolcraft W, Strom C, Kuliev A. Preimplantation diagnosis for Fanconi anemia combined with HLA matching. *JAMA*. 2001; 285 (24): 3130-3133.
7. Lavery S. Preimplantation genetic diagnosis: new reproductive options for carriers of haemophilia. *Haemophilia*. 2004; 10 (Suppl 4): 126-132.
8. Handyside AH, Lesko JC, Tarin JJ, Winston RM, Hughes MR. Birth of a normal girl after *in vitro* fertilization and preimplantation diagnostic testing for cystic fibrosis. *N Engl J Med*. 1992; 327 (13): 905-909.
9. Wells D, Sherlock JK, Handyside AH, Delhanty JD. Detailed chromosomal and molecular genetic analysis of single cells by whole genome amplification and comparative genomic hybridisation. *Nucleic Acids Res*. 1999; 27 (4): 1214-1218.
10. Vouillaire L, Slater H, Williamson R, Wilton L. Chromosome analysis of blastomeres from human embryos by using comparative genomic hybridization. *Hum Genet*. 2000; 106 (2): 210-217.
11. Fragogli E, Alfarawati S, Spath K, Jaroudi S, Sarasa J, Enciso M et al. The origin and impact of embryonic aneuploidy. *Hum Genet*. 2013; 132 (9): 1001-1013.

12. Verlinsky Y, Ginsberg N, Lifchez A, Valle J, Moise J, Strom CM. Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis. *Hum Reprod.* 1990; 5 (7): 826-829.
13. Magi MC, Montag M, Koster M, Muzi L, Geraedts J, Collins J et al. Polar body array CGH for prediction of the status of the corresponding oocyte.: Part II: technical aspects. *Hum Reprod.* 2011; 26 (11): 3181-3185.
14. Munné S, Wells D. Detection of mosaicism at blastocyst stage with the use of high-resolution next-generation sequencing. *Fertil Steril.* 2017; 107 (5): 1085-1091.
15. Kirkegaard K, Hindkjaer JJ, Ingerslev HJ. Human embryonic development after blastomere removal: a time-lapse analysis. *Hum Reprod.* 2012; 27 (1): 97-105.
16. Cimadomo D, Capalbo A, Ubaldi FM, Scarica C, Palagiano A, Canipari R, Rienzi L. The impact of biopsy on human embryo developmental potential during preimplantation genetic diagnosis. *Biomed Res Int.* 2016; 2016: 7193075.
17. 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): 1628-1636.
18. Glujsovsky D, Farquhar C, Quintero RA, Alvarez SC, Blake D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016; (6): CD002118.
19. Wells D. Next-generation sequencing: the dawn of a new era for preimplantation genetic diagnostics. *Fertil Steril.* 2014; 101 (5): 1250-1251.
20. Munné S. Status of preimplantation genetic testing and embryo selection. *Reprod Biomed Online.* 2018; 37 (4): 393-396.
21. Treff NR, Scott Jr RT. Four-hour quantitative real-time polymerase chain reaction-based comprehensive chromosome screening and accumulating evidence of accuracy, safety, predictive value, and clinical efficacy. *Fertil Steril.* 2013; 99 (4): 1049-1053.
22. Scott RT Jr, Upham KM, Forman EJ, Hong KH, Scott KL, Taylor D et al. Blastocyst biopsy with comprehensive chromosome screening and fresh embryo transfer significantly increases *in vitro* fertilization implantation and delivery rates: a randomized controlled trial. *Fertil Steril.* 2013; 100 (3): 697-703.
23. Treff NR, Tao X, Ferry KM, Su J, Taylor D, Scott RT Jr. Development and validation of an accurate quantitative real-time polymerase chain reaction-based assay for human blastocyst comprehensive chromosomal aneuploidy screening. *Fertil Steril.* 2012; 97 (4): 819-824.
24. Brezina PR, Kearns WG. The evolving role of genetics in reproductive medicine. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2014; 41 (1): 41-55.
25. Pinkel D, Segraves R, Sudar D, Clark S, Poole I, Kowbel D et al. High-resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet.* 1998; 20 (2): 207-211.
26. Ramos L, del Rey J, Daina G, García-Aragónés M, Armengol L, Fernandez-Encinas A et al. Oligonucleotide arrays vs. metaphase-comparative genomic hybridisation and BAC arrays for single-cell analysis: first applications to preimplantation genetic diagnosis for Robertsonian translocation carriers. *PLoS One.* 2014; 9 (11): e113223.
27. Fiorentino F, Spizzichino L, Bono S, Biricik A, Kokkali G, Rienzi L et al. PGD for reciprocal and Robertsonian translocations using array comparative genomic hybridization. *Hum Reprod.* 2011; 26 (7): 1925-1935.
28. Capalbo A, Wright G, Elliott T, Ubaldi FM, Rienzi L, Nagy ZP. FISH reanalysis of inner cell mass and trophectoderm samples of previously array-CGH screened blastocysts shows high accuracy of diagnosis and no major diagnostic impact of mosaicism at the blastocyst stage. *Hum Reprod.* 2013; 28 (8): 2298-2307.
29. Capalbo A, Bono S, Spizzichino L, Biricik A, Baldi M, Colamaria S et al. Sequential comprehensive chromosome analysis on polar bodies, blastomeres and trophoblast: insights into female meiotic errors and chromosomal segregation in the preimplantation window of embryo development. *Hum Reprod.* 2013; 28 (2): 509-518.
30. Fishel S, Gordon A, Lynch C, Dowell K, Ndukwe G, Kelada E et al. Live birth after polar body array comparative genomic hybridization prediction of embryo ploidy-the future of IVF? *Fertil Steril.* 2010; 93 (3): 1006 e7-1006 e10.
31. Treff NR, Northrop LE, Kasabwala K, Su J, Levy B, Scott RT Jr. Single nucleotide polymorphism microarray-based concurrent screening of 24-chromosome aneuploidy and unbalanced translocations in preimplantation human embryos. *Fertil Steril.* 2011; 95 (5): 1606-12 e1-2.
32. Treff NR, Tao X, Schillings WJ, Bergh PA, Scott RT Jr, Levy B. Use of single nucleotide polymorphism microarrays to distinguish between balanced and normal chromosomes in embryos from a translocation carrier. *Fertil Steril.* 2011; 96 (1): e58-65.
33. Li G, Jin H, Xin Z, Su Y, Brezina PR, Benner AT et al. Increased IVF pregnancy rates after microarray preimplantation genetic diagnosis due to parental translocations. *Syst Biol Reprod Med.* 2014; 60 (2): 119-124.
34. Thornhill AR, Handyside AH, Ottolini C, Natesan SA, Taylor J, Sage K et al. Karyomapping-a comprehensive means of simultaneous monogenic and cytogenetic PGD: comparison with standard approaches in real time for Marfan syndrome. *J Assist Reprod Genet.* 2015; 32 (3): 347-356.
35. Friedenthal J, Maxwell SM, Munné S, Kramer Y, McCulloh DH, McCaffrey C, Grifo JA. Next generation sequencing for preimplantation genetic screening improves pregnancy outcomes compared with array comparative genomic hybridization in single thawed euploid embryo transfer cycles. *Fertil Steril.* 2018; 109 (4): 627-632.
36. Munné S, Blazek J, Large M, Martinez-Ortiz PA, Nisson H, Liu E et al. Detailed investigation into the cytogenetic constitution and pregnancy outcome of replacing mosaic blastocysts detected with the use of high-resolution next-generation sequencing. *Fertil Steril.* 2017; 108 (1): 62-71.
37. Maxwell SM, Colls P, Hodes-Wertz B, McCulloh DH, McCaffrey C, Wells D et al. Why do euploid embryos miscarry? A case-control study comparing the rate of aneuploidy within presumed euploid embryos that resulted in miscarriage or live birth using next-generation sequencing. *Fertil Steril.* 2016; 106 (6): 1414-1419.e5.
38. Fragouli E, Alfarawati S, Spath K, Babariy, D, Wells D, Tarozzi N et al. Analysis of implantation and ongoing pregnancy rates following the transfer of mosaic diploid-aneuploid blastocysts. *Human Genetics.* 2017; 136 (7): 805-819.
39. Greco E, Minasi MG, Fiorentino F. Healthy babies after intrauterine transfer of mosaic aneuploid blastocysts. *N Engl J Med.* 2015; 373 (21): 2089-2090.