



Tamizaje genético preimplantacional: desarrollo y aplicaciones

Rafael A Sánchez-Usabiaga¹
Anaid Batista-Espinoza²
Ricardo Hurtado-Amador²
Sergio Romero-Tovar²

¹ Director General, Médica Fértil.
² Médica Fértil, Querétaro.

RESUMEN

La aplicación de la tecnología genómica inició una nueva era en el campo de la medicina reproductiva, con gran potencial de desarrollo en los próximos años. En la actualidad, durante un ciclo de fecundación *in vitro* (FIV) es posible obtener material genético de un ovocito o de un embrión en desarrollo y evaluar así los 23 pares de cromosomas. Esto se conoce como tamizaje genético preimplantacional, que permite identificar aneuploidías (alteración en el número de cromosomas) en ovocitos o embriones en desarrollo. Recientemente, el tamizaje genético preimplantacional se propuso para identificar embriones euploides potencialmente viables y elevar las tasas de implantación y de nacidos vivos. Sin embargo, a quiénes deberá ofrecerse el tamizaje genético preimplantacional es un tema de gran debate.

Palabras clave: diagnóstico genético preimplantacional, aneuploidías, fecundación *in vitro*, tamizaje genético preimplantacional.

Preimplantation genetic screening: development and applications

ABSTRACT

The application of genomic technology has entered a new era in the field of reproductive medicine, with great potential for development in the coming years. Currently it is possible for an IVF cycle to obtain genetic material from an egg or a developing embryo and thus assess the 23 pairs of chromosomes. This is known as preimplantation genetic screening (PGS), which identifies the presence of aneuploidy (change in the number of chromosomes) in oocytes and developing embryos. PGS has recently been proposed to identify potentially viable euploid embryos and increase implantation rates and live birth. However, to whom the PGS should be offered is a subject of great debate.

Key words: preimplantation genetic diagnosis, aneuploidy, *in vitro* fertilization, preimplantation genetic screening.

Recibido: 17 de julio 2014

Aceptado: 4 de septiembre 2014

Correspondencia: Dr. Rafael Sánchez Usabiaga
Médica Fértil
Prolongación Constituyentes 218
76180 Querétaro, Qro.

Este artículo debe citarse como
Sánchez-Usabiaga RA, Batista-Espinoza A, Hurtado-Amador R, Romero-Tovar S. Tamizaje genético preimplantacional: desarrollo y aplicaciones. Reproducción (Méjico) 2014;7:67-74.

ANTECEDENTES

Durante las últimas décadas el mundo ha sido testigo de increíbles avances en muchos campos de la medicina. Ninguno ha tenido mayor cambio como el de la genética. Estos grandes alcances se deben a la tecnología (genómica-bioinformática) que rodea al mundo de la genética. La secuenciación del genoma humano lograda hace muy poco tiempo se considera el pilar de estos logros médicos. Hoy día es posible disponer de la secuencia completa del genoma de cada individuo, que puede realizarse en días por un monto aproximado de mil dólares,¹ esta cantidad es relativamente baja si se considera el costo-beneficio. De igual forma, la tecnología en el tamizaje genético preimplantacional ha avanzado en los últimos años. En esta revisión se describen las aplicaciones actuales y las limitaciones de esta nueva tecnología.

Un ciclo de fecundación *in vitro* (FIV) consiste en la administración de gonadotropinas a la mujer para inducir la estimulación ovárica y reclutar mayor número de folículos, llevándolos a su maduración.^{2,3} Los óvulos dentro de estos folículos se obtienen mediante aspiración transvaginal guiada por ultrasonido y son inseminados y cultivados *in vitro*. Los embriones resultantes generalmente se desarrollan el día 3 o 5, se transfieren al útero uno o dos de los “mejores” embriones y el resto se criopreserva. Identificar cuál embrión es el “mejor” ha sido un tema de intenso debate desde el inicio de esta tecnología en el decenio de 1970.

Tradicionalmente, la evaluación de las características morfológicas embrionarias ha sido el principal criterio de selección del embrión óptimo.⁴ Sin embargo, la tasa de implantación por embrión transferido no es mayor de 40% en la mayor parte de las clínicas de reproducción.⁵ Por ello, durante mucho tiempo, diferentes investigadores han buscado otros métodos

diagnósticos capaces de seleccionar al embrión potencialmente viable. Este esfuerzo ha llevado al desarrollo de diferentes tecnologías que incluyen: la metabolómica, la video-grabación en tiempo real y el tamizaje genético preimplantacional.

Evolución del tamizaje genético preimplantacional

El tamizaje genético preimplantacional consiste en la toma de biopsia del cuerpo polar de un ovocito maduro, o de una o varias células obtenidas del embrión en desarrollo, que se analizan genéticamente. El resultado de este análisis guía al embriólogo a seleccionar al embrión que se transferirá al útero. Debido a que el tamizaje genético preimplantacional se realiza en células del embrión, esta tecnología sólo puede utilizarse durante un ciclo de FIV.

El tamizaje genético preimplantacional evalúa la existencia de aneuploidías (alteraciones numéricas en los cromosomas) en embriones obtenidos de padres cromosómicamente normales. En contraste, el diagnóstico genético preimplantacional se realiza para identificar alteraciones cromosómicas donde el estado de portador se diagnosticó previamente en alguno de los padres, como translocaciones, enfermedades monogénicas y alteraciones mitocondriales.

El tamizaje genético preimplantacional se ha utilizado en pacientes con riesgo elevado de aneuploidía, como: edad materna avanzada, antecedente de aborto recurrente, falla repetida en la implantación y factor masculino severo.^{3,6,7} Diferentes autores sugieren que estas pacientes pueden verse beneficiadas con el tamizaje genético preimplantacional.^{3,7}

De acuerdo con los datos publicados por la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE), en los últimos 10 años el

tamizaje genético preimplantacional se utilizó en 61% de los ciclos en los que se realizó estudio genético de preimplantación.⁸

El tamizaje genético preimplantacional parece ser una alternativa razonable para mejorar la eficiencia en la selección de embriones euploides para la transferencia uterina durante los ciclos de FIV. Los estudios clásicos reportan que entre 50 y 60% de los abortos espontáneos del primer trimestre tienen una aneuploidía.^{9,10} Estos datos se obtuvieron de estudios citogenéticos realizados en material de aborto.^{9,10}

Inicialmente, la biopsia del cuerpo polar fue muy popular porque podía establecerse un diagnóstico sin perturbar el desarrollo del embrión y podía realizarse antes de la fecundación.^{3,8,11}

En este estudio se determina el complemento cromosómico del cuerpo polar, lo que indirectamente refleja el contenido del ovocito. Sin embargo, esta técnica es incapaz de detectar errores cromosómicos derivados del padre o cualquier otro error inducido durante o después de la fecundación. Debido a estas limitaciones, la biopsia de cuerpo polar se realiza principalmente en los países donde la legislación limita la práctica de biopsia a embriones en desarrollo.^{3,12}

Las clínicas que inicialmente realizaron el tamizaje genético preimplantacional se enfocaron a detectar aneuploidías de cromosomas específicos utilizando la hibridación fluorescente *in situ* (FISH), que típicamente evaluaba entre 5 y 10 pares de cromosomas. Tradicionalmente, la biopsia se practicaba durante el día 3 de desarrollo embrionario (Figura 1).^{13,14} Los resultados prometedores generaron gran entusiasmo por el uso de esta tecnología.¹⁵⁻¹⁷

Lamentablemente los resultados de esta técnica no pudieron mejorar las tasas de embarazo clíni-



Figura 1. Embrión en estadio de división al que se realizó biopsia al tercer día de crecimiento.

co, esta falta de eficacia fue ampliamente referida en el documento publicado por Mansterbroek.¹⁸ Artículos similares pusieron en tela de juicio los beneficios del tamizaje genético preimplantacional, por lo que diferentes sociedades médicas sugirieron no seguir realizándolo.¹⁹⁻²¹ Los estudios adicionales dilucidaron diferentes limitaciones biológicas que podrían explicar las deficiencias del tamizaje genético preimplantacional en la práctica clínica. La más importante es la elevada tasa de mosaicismo cromosómico en embriones de día 3.^{22,23} El mosaicismo es una condición en la que un embrión tiene más de una línea celular. En otras palabras, embriones con mosaico pueden tener líneas celulares euploides y aneuploides en un mismo embrión. Los estudios que evaluaron este fenómeno concluyeron que la mayoría de los embriones puede tener mosaicos al tercer día de desarrollo.²²⁻²⁴ Por tanto, realizar la biopsia en el día 3 puede generar un resultado no representativo. La existencia de mosaico también se ha demostrado en embriones de día 5 o 6 de desarrollo.²⁵ Sin embargo, los datos recientes sugieren que el mosaico es mucho menor al día 5 de desarrollo embrionario.²⁶

Hace poco Scott y colaboradores publicaron que el momento óptimo para realizar la biopsia

embrionaria y su estudio genético es en etapa de blastocisto. La biopsia de trofectodermo no tiene un efecto negativo en el desarrollo del embrión.²⁷ Sin embargo, en la mayor parte de los centros que no tienen un laboratorio de genética, se requiere vitrificar los embriones. A pesar de prolongar el tiempo del tratamiento, los resultados clínicos son equivalentes al transferir embriones euploídes durante un ciclo de FIV con embriones criopreservados, manteniendo los resultados clínicos. En la actualidad la etapa de blastocisto es el momento óptimo para realizar biopsias para tamizaje genético preimplantacional (Figura 2).^{28,29}



Figura 2. Biopsia de blastocisto.

Otra limitante de la forma tradicional de realizar el tamizaje genético preimplantacional fue el uso de la hibridación fluorescente *in situ* para determinar las alteraciones cromosómicas porque no evalúa los 23 pares.³⁰ Los estudios recientes demostraron que las aneuploidías clínicamente relevantes ocurren en cualquiera de los 23 pares de cromosomas.³¹

Estas dos principales limitantes han llevado a muchos laboratorios de genética a ofrecer hibridación fluorescente *in situ* utilizando otras tecnologías [polimorfismos de nucleótido único

(SNP) o hibridación genómica comparada (CGH-*a*)] que evalúan los 23 pares de cromosomas mediante una biopsia embrionaria realizada en estadio de blastocisto. Las tasas de embarazo logradas utilizando esta tecnología son marcadamente superiores que las que se alcanzaron con la hibridación fluorescente *in situ*.^{32,33}

Por ejemplo, un estudio reciente, en el que se evaluaron los 23 pares de cromosomas en más de 4,500 embriones, determinó que las tasas de embarazo clínico en mujeres con pérdida repetida de la gestación fueron significativamente superiores que en los estudios en los que se recurrió a la hibridación fluorescente *in situ*.³² Además, las tasas de embarazo fueron mejoradas con el estudio de los 23 pares de cromosomas realizado en embriones en los días 5 y 6 de desarrollo, comparados con los de toma de biopsia en el día 3.^{32,34,35} Esto ha generado un renovado interés en el tamizaje genético preimplantacional; sin embargo, todavía queda por determinar si esta nueva tecnología es eficaz y el tipo de población que se beneficiará con ella.

Los polimorfismos de nucleótido único y la hibridación genómica comparada se basan en la obtención de ADN embrionario, fragmentación, amplificación y evaluación de los fragmentos amplificados utilizando microarreglos (Figura 3).³⁶ Este proceso de amplificación es una fuente potencial de errores, así como de falla en la amplificación de todo el ADN embrionario, que puede producir resultados falsos positivos. Además, debido a que el material de ADN inicialmente amplificado se toma de una o varias células, cualquier contaminación externa puede producir un resultado erróneo.

Evidencias para su aplicación clínica

Los estudios hechos en centros que realizan tamizaje genético preimplantacional efectuando la biopsia en los días 5 o 6 muestran resultados

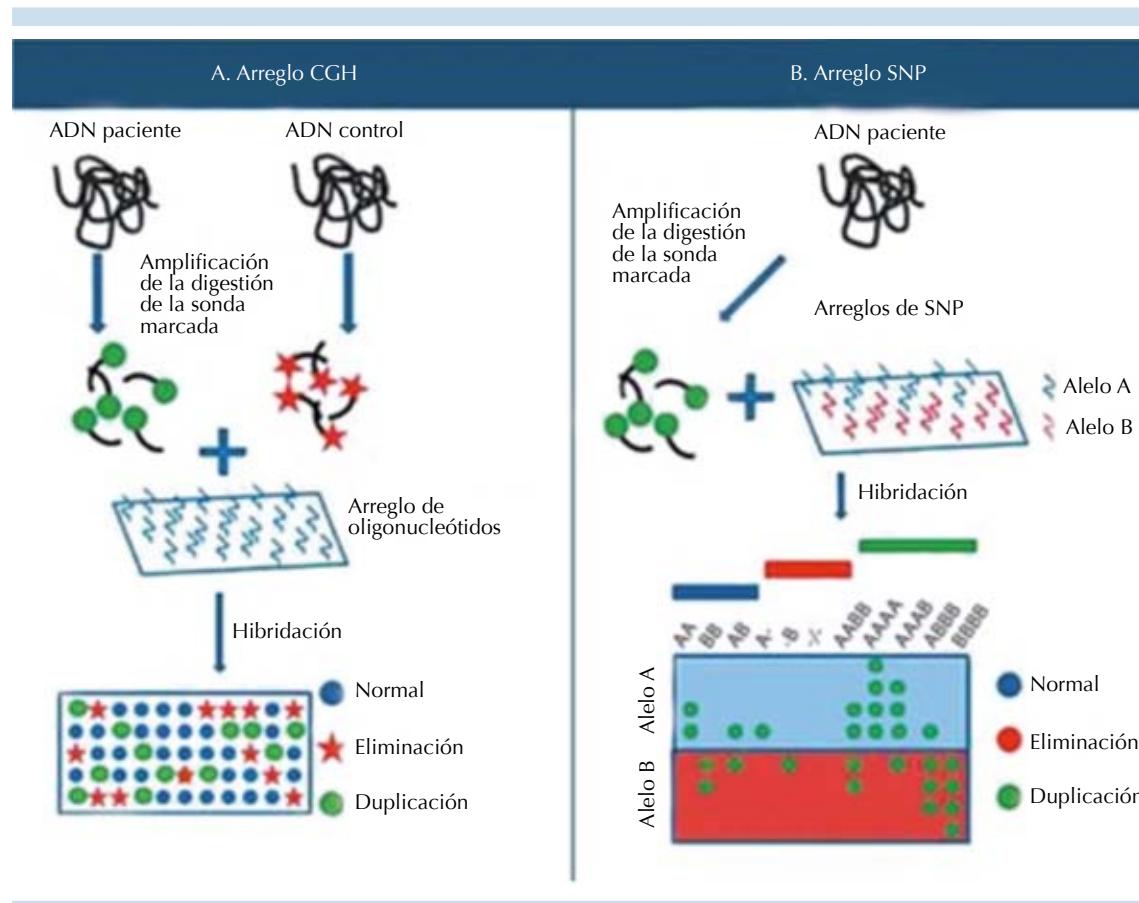


Figura 3. Comparación de las tecnologías hibridación genómica comparada (A) y polimorfismos de nucleótido único (B).

CGH-a: hibridación genómica comparada; SNP: polimorfismos de nucleótido único.

Adaptada de la referencia 37.

alentadores, con tasas de embarazo superiores a 75%.^{32,34,35} Sin embargo, una crítica fundamental al uso generalizado del tamizaje genético preimplantacional es la falta de estudios controlados con distribución al azar que muestren de manera concluyente que el procedimiento tiene resultados favorables. Hasta donde sabemos, al momento de escribir este artículo, tres estudios con distribución al azar demostraron mejores resultados en las tasas de embarazo utilizando tamizaje genético preimplantacional, comparado con la selección de embriones con base en sus características morfológicas para la selección

y transferencia al útero.³⁷⁻³⁹ Estos estudios son relativamente pequeños, por tanto, se requieren más estudios antes de que el tamizaje genético preimplantacional se utilice ampliamente. En la actualidad se están realizando diferentes estudios clínicos controlados con distribución al azar, esperemos que en breve se comuniquen sus resultados.

A pesar de la falta de apoyo de las diferentes sociedades médicas y de estudios controlados con distribución al azar que demuestren definitivamente los beneficios de esta tecnología, el

tamizaje genético preimplantacional representa el estudio genético preimplantacional mayormente realizado en todo el mundo y se está utilizando cada vez más.⁸

Diferentes clínicas tradicionalmente ofrecen el tamizaje genético preimplantacional a parejas con riesgo elevado de aneuploidías, como pérdida inexplicable del embarazo, factor masculino severo, edad materna avanzada y falla repetida de implante de embriones. Sin embargo, recientemente, algunas clínicas ampliaron su uso a mujeres sin riesgo. De hecho, algunas clínicas recomiendan ampliamente el tamizaje genético preimplantacional a prácticamente todas las pacientes sometidas a FIV como una estrategia para elevar las tasas de embarazo en parejas infériles. Continúa el debate en cuanto a qué población es apta para someterse al tamizaje genético preimplantacional y es posible que se pueda prolongar en los próximos años.

Limitaciones del tamizaje genético preimplantacional

A pesar de los datos favorables que están surgiendo en el campo del tamizaje genético preimplantacional, existen limitantes técnicas y biológicas de esta tecnología. Las limitaciones de la hibridación fluorescente *in situ* y la toma de la biopsia en embriones del tercer día son significativas.

Tal vez la fuente de error más importante del tamizaje genético preimplantacional al evaluar los 23 pares de cromosomas en la biopsia de blastocisto es la discrepancia celular en el embrión en desarrollo porque un blastocisto tiene dos componentes celulares, la masa celular interna y el trofoectodermo.³

La masa celular interna contiene células que están destinadas a integrar tejido fetal, mientras que el trofoectodermo se desarrollará a tejido

placentario. La biopsia de blastocisto obtiene células del trofoectodermo con el propósito de minimizar el daño al embrión que se pudiera causar a la toma de células de la masa celular interna. A pesar de la alta correlación entre la composición cromosómica del trofoectodermo y la masa celular interna, algunos datos sugieren que incluso 10% de los embriones en etapa de blastocisto puede tener aneuploidías en el trofoectodermo, pero no en la masa celular interna y viceversa.²⁶ Por tanto, la biopsia de trofoectodermo realizada en etapa de blastocisto, desde un punto de vista biológico, puede no ser universalmente predictiva del estado cromosómico del embrión en desarrollo, incluso si no existe ningún error técnico en la realización del análisis genético. Además, puede haber mosaicismo en alguna población celular del trofoectodermo. La tecnología de microarreglos es capaz de detectar casi todos los niveles de mosaicismo, excepto los de muy bajo grado.⁴⁰

Las limitantes mencionadas demandan que las pacientes que serán sometidas a tamizaje genético preimplantacional sean asesoradas acerca de los pros y contras del procedimiento, preferentemente por un médico especializado en genética. Asimismo, los estudios genéticos prenatales se siguen recomendando a todas las mujeres sometidas a tamizaje genético preimplantacional.

CONCLUSIONES

Las nuevas tecnologías relacionadas con el tamizaje genético preimplantacional están mostrando datos que sugieren que el procedimiento podría ser muy valioso al mejorar las tasas de embarazo en parejas sometidas a tratamientos de FIV. La realización de tamizaje genético preimplantacional sigue siendo motivo de controversia. En un futuro próximo se verán los resultados de varios artículos que intentan dar respuesta a estas preguntas.



A pesar de la falta de datos definitivos, el tamizaje genético preimplantacional se aplica con mayor frecuencia con una constante expansión de indicaciones clínicas. Mientras se esperan algunos estudios controlados con distribución al azar que definan los beneficios del tamizaje genético preimplantacional, los resultados de los laboratorios de genética en todo el mundo son alentadores. Por tanto, el uso juicioso del tamizaje genético preimplantacional parece razonable hoy día, porque las evidencias actuales sugieren que algunas parejas pueden tener resultados favorables con esta nueva tecnología. Sólo con el paso del tiempo podrá definirse claramente el papel del tamizaje genético preimplantacional.

REFERENCIAS

1. Rizzo JM, Buck MJ. Key principles and clinical applications of "next-generation" DNA sequencing. *Cancer Prev Res* 2012;5:887-900.
2. Brezina PR, Benner A, Rechitsky S, et al. Single-gene testing combined with single nucleotide polymorphism microarray preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy: a novel approach in optimizing pregnancy outcome. *Fertil Steril* 2011;95:1786.
3. Brezina PR, Brezina DS, Kearns WG. Preimplantation genetic testing. *BMJ* 2012;345:5908.
4. Brezina PR, Zhao Y. The ethical, legal, and social issues impacted by modern assisted reproductive technologies. *Obstet Gynecol Int* 2012;2012:686253.
5. Ajduk A, Zernicka-Goetz M. Advances in embryo selection methods. *F1000 Biol Rep* 2012;4:11.
6. Fragouli E, Wells D, Whalley KM, Mills JA, et al. Increased susceptibility to maternal aneuploidy demonstrated by comparative genomic hybridization analysis of human MII oocytes and first polar bodies. *Cytogenet Genome Res* 2006;114:30-38.
7. Vialard F, Boitrelle F, Molina-Gomes D, Selva J. Predisposition to aneuploidy in the oocyte. *Cytogenet Genome Res* 2011;133:127-135.
8. Harper JC, Wilton L, Traeger-Synodinos J, et al. The ESHRE PGD Consortium: 10 years of data collection. *Hum Reprod Update* 2012;18:234-247.
9. Monni G, Ibba RM, Zoppi MA. Prenatal genetic diagnosis through chorionic villus sampling. In: Milunsky A, Milunsky J, editors. *Genetic disorders and the fetus*, 6th ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2010.
10. Kearns WG, Pen R, Graham J, et al. Preimplantation genetic diagnosis and screening. *Semin Reprod Med* 2005;23:336-347.
11. Verlinsky Y, Rechitsky S, Esvikov S, et al. Preconception and preimplantation diagnosis for cystic fibrosis. *Prenat Diagn* 1992;12:103-110.
12. Tuffs A. Germany allows restricted access to preimplantation genetic testing. *BMJ* 2011;343:4425.
13. Schoolcraft WB, Fragouli E, Stevens J, Munne S, et al. Clinical application of comprehensive chromosomal screening at the blastocyst stage. *Fertil Steril* 2010;94:1700-1706.
14. Brezina PR, Kearns WG. Preimplantation genetic screening in the age of 23-chromosome evaluation: why FISH is no longer an acceptable technology. *J Fertil In Vitro* 2011;1:103.
15. Munné S, Chen S, Fischer J, et al. Preimplantation genetic diagnosis reduces pregnancy loss in women aged 35 years and older with a history of recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 2005;84:331-335.
16. Platteau P, Staessen C, Michiels A, Van Steirteghem A, et al. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in women older than 37 years. *Fertil Steril* 2005;84:319-324.
17. Mantzouratos A, Mania A, Fragouli E, et al. Variable aneuploidy mechanisms in embryos from couples with poor reproductive histories undergoing preimplantation genetic screening. *Hum Reprod* 2007;22:1844-1853.
18. Mastenbroek S, Twisk M, Echten-Arends J, Sikkema-Raddatz B, et al. *In vitro* fertilization with preimplantation genetic screening. *N Engl J Med* 2007;357:9-17.
19. Checa MA, Alonso-Coello P, Solà I, Robles A, et al. IVF/ICSI with or without preimplantation genetic screening for aneuploidy in couples without genetic disorders: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 2009;26:273-283.
20. 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;17:454-466.
21. Practice Committee of Society for Assisted Reproductive Technology, Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Preimplantation genetic testing: A practice committee opinion. *Fertil Steril* 2008;90:136-143.
22. Harton GL, Magli MC, Lundin K, Montag M, et al. ESHRE PGD Consortium/Embryology Special Interest Group—best practice guidelines for polar body and embryo biopsy for preimplantation genetic diagnosis/screening (PGD/PGS). *Hum Reprod* 2011;26:41-46.
23. Munné S, Weier HU, Grifo J, Cohen J. Chromosome mosaicism in human embryos. *Biol Reprod* 1994;51:373-379.
24. van Echten-Arends J, Mastenbroek S, Sikkema-Raddatz B, et al. Chromosomal mosaicism in human preimplantation embryos: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2011;17:620-627.

25. Bielanska M, Tan SL, Ao A. High rate of mixoploidy among human blastocysts cultured *in vitro*. *Fertil Steril* 2002;78:1248-1253.
26. Brezina PR, Sun Y, Anchan RM, Li G, et al. Aneuploid embryos as determined by 23 single nucleotide polymorphism (SNP) microarray preimplantation genetic screening (PGS) possess the potential to genetically normalize during early development. *Fertil Steril* 2012;98:108.
27. Scott KL, Hong KH, Scott RT Jr. Selecting the optimal time to perform biopsy for preimplantation genetic testing. *Fertil Steril* 2013;100:608-614.
28. Schoolcraft WB, Treff NR, Stevens JM, Ferry K, et al. Live birth outcome with trophectoderm biopsy, blastocyst vitrification, and single-nucleotide polymorphism microarray-based comprehensive chromosome screening in infertile patients. *Fertil Steril* 2011;96:638-640.
29. Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG. Comprehensive chromosome screening of trophectoderm with vitrification facilitates elective single-embryo transfer for infertile women with advanced maternal age. *Fertil Steril* 2013;100:615-619.
30. Harper JC, Sengupta SB. Preimplantation genetic diagnosis: state of the art 2011. *Hum Genet* 2012;131:175-186.
31. Brezina PR, Tobler K, Benner AT, Du L, et al. All 23 chromosomes have significant levels of aneuploidy in recurrent pregnancy loss couples. *Fertil Steril* 2012;97:7.
32. Brezina PR, Tobler K, Benner AT, Du L, et al. *In vitro* fertilization (IVF) cycles and 4,873 embryos using 23-chromosome single nucleotide polymorphism (SNP) microarray preimplantation genetic screening (PGS). *Fertil Steril* 2012;97:23-24.
33. Wells D, Alfarawati S, Fragouli E. Use of comprehensive chromosomal screening for embryo assessment: microarrays and CGH. *Mol Hum Reprod* 2008;14:703-710.
34. Forman EJ, Tao X, Ferry KM, Taylor D, et al. Single embryo transfer with comprehensive chromosome screening results in improved ongoing pregnancy rates and decreased miscarriage rates. *Hum Reprod* 2012;27:1217-1222.
35. Schoolcraft WB, Fragouli E, Stevens J, Munne S, et al. Clinical application of comprehensive chromosomal screening at the blastocyst stage. *Fertil Steril* 2010;94:1700-1706.
36. Habela CW, Hamosh A. Genetic testing for intellectual disability: A role in diagnostic evaluation. Recent AAP guidelines on genetic testing in children warrant pediatricians' awareness of the newest screening modalities. *Contemporary Pediatrics* -Montvale- 2013;30.
37. Yang Z, Liu J, Collins GS, Salem SA, et al. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. *Mol Cytogenet* 2012;5:24.
38. Scott RT Jr, Upham KM, Forman EJ, Hong KH, 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;100:697-703.
39. Forman EJ, Hong KH, Ferry KM, Tao X, et al. *In vitro* fertilization with single euploid blastocyst transfer: a randomized controlled trial. *Fertil Steril* 2013;100:608-614.
40. Mamas T, Gordon A, Brown A, Harper J, Sengupta S. Detection of aneuploidy by array comparative genomic hybridization using cell lines to mimic a mosaic trophectoderm biopsy. *Fertil Steril* 2012;97:943-947.