



Identificación de aneuploidías en 24 cromosomas en blastocisto durante procedimientos de fecundación *in vitro*

Sánchez-Usabiaga RA¹, Vera-Aguado MG², Batista-Espinoza A², Ramírez E³, Marchese MV³, Cruz-Orozco OP³

Resumen

ANTECEDENTES: a pesar de los avances en los procedimientos de fecundación *in vitro* (FIV), en la mayoría de los casos no se logra un embarazo a término. Se ha sugerido que las aneuploidías embrionarias son una de las principales causas del fallo del tratamiento. Se han propuesto nuevas tecnologías moleculares para realizar el tamizaje genético preimplantacional (PGS) en los 23 pares de cromosomas.

OBJETIVO: determinar la frecuencia de aneuploidías en embriones logrados en una clínica privada de FIV en México, y su relación con la edad materna y origen parental.

PACIENTES Y MÉTODO: estudio prospectivo y descriptivo efectuado de enero de 2013 a julio de 2015 en el que se analizaron embriones obtenidos por FIV, estudiados mediante microarreglos de ADN con base en polimorfismos de nucleótido único, denominado *parental support* (microarreglo PS). Se analizó la frecuencia de aneuploidías en 4 diferentes grupos (< 35 años [A], 35-39 años [B], 40 años o más [C] y donación de óvulos [D]), el tipo de aneuploidía (nulismía, monosomía, trisomía, deleción, duplicación), así como el origen de las aneuploidías (materno, paterno o mixto). Todos los embriones se vitrificaron para su posterior transferencia al útero.

RESULTADOS: se incluyeron 383 embriones, de los que 44% fueron aneuploides, con frecuencia de 43, 44 70 y 28% en los grupos A, B, C y D, respectivamente. Las anomalías más frecuentes fueron: aneuploidías en múltiples cromosomas (34%), trisomías (22%), aneuploidías en dos cromosomas (19.5%), monosomías (15.5%), y deleción/duplicación (9%). En pacientes mayores de 35 años, más de 70% de las aneuploidías fueron de origen materno.

CONCLUSIONES: el análisis genético preimplantacional en los 23 pares de cromosomas demuestra una alta frecuencia de embriones aneuploides. Las aneuploidías aumentan en relación con la edad de la mujer, la mayoría son de origen materno. Esta información clínica es relevante para la asesoría y toma de decisiones de los pacientes durante procedimientos de FIV, además, evita el almacenamiento de embriones aneuploides.

PALABRAS CLAVE: diagnóstico genético preimplantacional, PGS, microarreglo PS, tamizaje genético preimplantacional, FIV.

¹ Director General Médica Fértil.

² Médica Fértil Querétaro.

³ Médica Fértil Santa Fé.

Recibido: septiembre 2015

Aceptado: diciembre 2015

Correspondencia

Dra. María Guadalupe Vera Aguado
repasistida@medicafertil.com.mx

Este artículo debe citarse como

Sánchez-Usabiaga RA, Vera-Aguado MG, Batista-Espinoza A, Ramírez E, Marchese MV, Cruz-Orozco OP. Identificación de aneuploidías en 24 cromosomas en blastocisto durante procedimientos de fecundación *in vitro*. Reproducción (México). 2015 octubre;8(2):93-100.

Reproducción 2015 October;8(2):93-100.

Identification of aneuploidies in 24 chromosomes in blastocyst during procedures of *in vitro* fertilization.

Sánchez-Usabiaga RA¹, Vera-Aguado MG², Batista-Espinoza A², Ramírez E³, Marchese MV³, Cruz-Orozco OP³

Abstract

BACKGROUND: Despite advances in the methods of *in vitro* fertilization (IVF), in most cases fail to achieve a live birth. It has been suggested that embryonic aneuploidy are a major cause of treatment failure. New molecular technologies have been proposed for preimplantation genetic screening (PGS) in the 23 pairs of chromosomes.

OBJECTIVE: To determine the frequency of aneuploidy in embryos achieved in a private IVF clinic in Mexico, and its relationship with maternal age and parental origin.

PATIENTS AND METHOD: A prospective and descriptive study was done from January 2013 to July 2015, analyzing embryos obtained by IVF, that were studied by DNA microarrays based on single nucleotide polymorphisms, known as "parental support" (microarray PS). The frequency of aneuploidy in 4 different groups (<35 years [A], 35-39 years [B], 40 years or more [C], and egg donation [D]), the type of aneuploidy (nullisomy, monosomy, trisomy, deletion, duplication) and the origin of aneuploidy (maternal, paternal or mixed) were analyzed. All embryos were vitrified for subsequent transfer to the uterus.

RESULTS: Three hundred eighty-three embryos were included, from which 44% were aneuploid, having a frequency of 43%, 44%, 70% and 28% in groups A, B, C and D, respectively. The most frequent abnormalities were: multiple chromosome aneuploidy (34%), trisomies (22%), two chromosome aneuploidy (19.5%), monosomies (15.5%), and deletion/duplication (9%). In patients over 35, over 70% of the aneuploidies were of maternal origin.

CONCLUSIONS: Preimplantation genetic analysis in the 23 pairs of chromosomes shows a high frequency of aneuploid embryos. Aneuploidy increases in relation to the age of the woman being mostly of maternal origin. This clinical information is relevant to the assessment and decision-making of patients during IVF procedures also avoids storing aneuploid embryos.

KEYWORDS: preimplantation genetic diagnosis; PGS; microarray PS; preimplantation genetic screening; FIV

¹ Director General Médica Fértil.

² Médica Fértil Querétaro.

³ Médica Fértil Santa Fé.

Correspondence

Dra. María Guadalupe Vera Aguado
repasistida@medicafertil.com.mx



ANTECEDENTES

En mujeres infértiles sometidas a fecundación *in vitro* (FIV), sólo 17% de los embriones transferidos durante el mismo ciclo de tratamiento, con óvulos propios, logran un embarazo clínico.¹

Diferentes estudios han demostrado que embriones humanos en etapas tempranas de desarrollo frecuentemente tienen alteraciones en el número de copias de los 23 pares de cromosomas (aneuploidías)²⁻⁹ y que más de 50% de los embriones humanos generados en FIV muestran células aneuploides (mosaicismo).²⁻⁴

Las aneuploidías embrionarias generalmente conllevan a resultados reproductivos adversos, como la falla de implantación, aborto espontáneo o el nacimiento de un niño con alteraciones cromosómicas.¹⁰⁻¹⁸

La mayor parte del conocimiento de la ploidía en embriones humanos en desarrollo se debe al estudio clásico de cariotipo y a la hibridación con inmunofluorescencia *in situ* (FISH).¹⁹⁻²³

El FISH típicamente identifica el estado de ploidía entre cinco y ocho cromosomas y, por tanto, pierde un porcentaje considerable de aneuploidías.^{24,25} Además, se asocia con altos índices de error, lo que pudiera disminuirse si se realizara con diferentes sondas de ADN.^{19,26}

Nuevas tecnologías para el tamizaje genético preimplantacional (PGS), como los microarreglos de hibridación genómica comparativa (aCGH), o los microarreglos mediante polimorfismos de nucleótido único (aSNPs), permiten estudiar la ploidía en los 23 pares de cromosomas.²⁷⁻²⁹

Sin embargo, estas dos metodologías están sujetas al fallo en la detección de pérdidas de alelos en un heterocigoto (*allele drop-out*) y, por tanto, presentar cambios en la amplificación del

ADN, que conllevan a alterar los resultados del estudio.^{30,31} Otro inconveniente importante de estas dos metodologías es la imposibilidad de diferenciar entre el tipo de ploidías que pueden tener el mismo número de cromosomas (por ejemplo disomía uniparental) o determinar el origen materno o paterno de los cromosomas del embrión.

Johnson y colaboradores validaron un nuevo método para realizar tamizaje genético preimplantacional (PGS) con una precisión similar al estudio clásico de cariotipo en metafase.⁶

Este método para realizar el PGS, denominado microarreglo "*parental support*" (microarreglo PS), se basa en la identificación de polimorfismos de nucleótido único de origen parental y la frecuencia de entrecruzamientos, pudiendo identificar el origen del haplotipo, ya sea materno o paterno, heredado al embrión. Esto permite inferir el correcto genotipo del embrión y, por tanto, aumenta significativamente el poder estadístico para determinar el estado de ploidías celulares. Además, el microarreglo PS permite identificar las inserciones y deleciones, así como translocaciones cromosómicas.

El objetivo de este artículo es determinar la frecuencia de aneuploidías en embriones logrados en una clínica privada de FIV en México, y su relación con la edad materna y origen parental.

PACIENTES Y MÉTODO

Estudio prospectivo y descriptivo, efectuado de enero de 2013 a julio de 2015, en el que se analizaron 70 ciclos de mujeres sometidas a tratamiento de FIV. En todas las pacientes se realizó protocolo de estudio de la pareja infértil que incluye: seminograma, valoración anatómica de genitales internos femeninos y cavidad uterina, determinación de hormona antimülleriana y perfil infeccioso (hepatitis, VIH).

Las indicaciones para realizar FIV fueron en una población con causas comunes de infertilidad e incluyeron los siguientes diagnósticos: ovario poliquístico (21%), factor tubárico (7%), factor uterino (8.5%), endometriosis (6%), factor masculino (14%), baja reserva ovárica (21%), infertilidad de origen desconocido (20%) y enfermedad monogénica (1%).

Todas las mujeres fueron sometidas a estimulación ovárica controlada con menotropinas altamente purificadas (Merapur®, Ferring), en protocolo de antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH, Cetrotide®, Merck). La captura ovocitaria se realizó entre 35 y 37 horas posterior a la inducción de la ovulación mediante la aplicación de la hormona gonadotropina corionica humana (hGC) o análogos de la GnRH.

Cada paciente firmó el consentimiento informado para la realización de los protocolos de estimulación ovárica controlada, FIV y PGS.

Con la intención de evitar una posible contaminación genética, se realizó inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). Los embriones se mantuvieron en cultivo hasta el estadio de blastocisto (5-6 días de desarrollo), y se realizó biopsia de 5-8 células de trofoectodermo. Las células biopsiadas se lavaron en PBS y se colocaron en microtubos para PCR. Las células se preservaron a -78°C (hielo seco) hasta el momento de su análisis. Los 24 cromosomas se analizaron mediante microarreglos de CGH en su variante de a-SNP (Spectrum™) con información genotípica de ambos padres (PS).

El análisis del ADN lo realizó el laboratorio Natera (San Carlos, California, Estados Unidos).

Todos los embriones biopsiados se vitrificaron hasta tener los resultados del tamizaje cromosómico.

El análisis estadístico se realizó usando las pruebas de χ^2 y Z para datos no paramétricos; se consideró diferencia significativa un valor p menor a 0.05. Se usó el paquete estadístico SPSS 22.0.0.0.

RESULTADOS

Se realizó biopsia de células de trofoectodermo en 383 embriones obtenidos de 70 parejas sometidas a FIV, con intervalo de edad materna de 20 a 43 años. Los casos se dividieron en cuatro grupos: menores de 35 años, entre 35 y 39 años, mayores de 40 años y donantes de óvulos (**Cuadro 1**).

Se realizó PGS mediante la metodología de microarreglos PS en 336 embriones (88%).

En 47 embriones (12%) no hubo amplificación de ADN, por lo que se excluyeron del estudio. La falta de amplificación ocurrió en los primeros casos realizados, atribuyéndose a la curva de aprendizaje del procedimiento (biopsia) y problemas de logística de envío de la muestra al laboratorio de referencia.

El 56% de los embriones analizados (188/336) fueron euploides y el 44% (148/336) tuvieron algún tipo de aneuploidía. Se observó un incremento significativo de aneuploidías en pacientes de más de 40 años ($p=0.001$). **Cuadro 1 y Figura 1.**

Entre las aneuploidías identificadas, en todos los embriones analizados las más frecuentes fueron en múltiples cromosomas (50/148, 34%), seguidas de las trisomías en un sólo cromosoma (33/148, 22%). **Cuadro 2**

Un dato importante es el porcentaje elevado de trisomías en casos con donación de óvulos (31.5%, $p<0.05$).

**Cuadro 1.** Edad promedio de las pacientes, embriones biopsiados y analizados en cada grupo de estudio

	Menores de 35 años	De 35 a 39 años	Mayores de 40 años	Ovodonación	Total
Núm. de casos	20	25	11	14	70
Edad promedio (años)	29.7	36.5	41.2	28.3	33.6
Embriones biopsiados	115 (5.8±1.9)*	142 (5.7±2.1)*	46 (4.2±2.0)*	80 (5.7±2.8)*	383
Embriones analizados	98	127	44	67	336
Euploides	56 (57%) (2.8±2.1)**	71 (56%) (2.8±2.2)**	13 (29.5%) (1.2±1.5)**	48 (72%) (3.4±2.7)**	188 (56%)
Aneuploides	42 (43%)	56 (44%)	31 (70%) ^a	19 (28%)	148 (44%)

* Promedio de embriones biopsiados por paciente (± desviación estándar).

** Promedio de embriones euploides por paciente (±desviación estándar).

^a p=0.001.

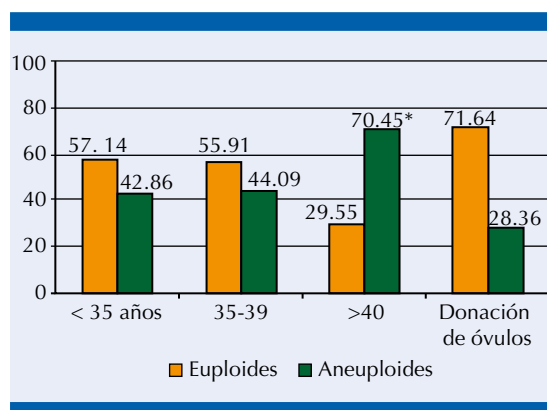


Figura 1. Resultados del tamizaje de aneuploidías en 24 cromosomas en 336 embriones analizados. Se observa un incremento significativo de embriones aneuploides en mujeres mayores de 40 años, p=0.001.

Se determinó el origen de las aneuploidías, se observó un incremento significativamente mayor en las de origen materno a medida que aumentaba la edad de la paciente (p=0.01). **Cuadro 3**

DISCUSIÓN

En este artículo se comunican los resultados de la frecuencia de aneuploidías en embriones logrados mediante FIV en una población general infértil. Las indicaciones para realizar la FIV y

del estudio PGS fueron diversas, pudiéndose generalizar los resultados de aneuploidías en parejas infértiles sometidas a esta técnicas de reproducción asistida. Además, se incluyeron pacientes normo, bajas e hiperrespondedoras y donadoras de ovocitos, lo que representa diferentes grupos de pacientes.

Por tanto, estos resultados tienen implicaciones de amplio alcance, que incluyen: nueva información proporcionada para el asesoramiento del pronóstico reproductivo de los pacientes y conocer la prevalencia de las aneuploidías en diferentes grupos de edades en población mexicana.

Los resultados se obtuvieron utilizando una tecnología innovadora de microarreglos PS que fue desarrollada con el propósito de proporcionar un análisis preciso del número de copias en los 23 pares de cromosomas y el tipo de aneuploidía.⁶

Encontramos que las aneuploidías más comunes fueron en un solo cromosoma (47%), que incluyeron: delección-duplicación, monosomías y trisomías, seguidas de las anormalidades en múltiples cromosomas (34%); a diferencia de lo reportado por Franasiak y su grupo, quienes

Cuadro 2. Tipo de aneuploidías identificadas

	Menores de 35	De 35 a 39 años	Mayores de 40 años	Ovodonación	Total
Monosomía en un solo cromosoma	4.76	25.00	9.68	21.05	15.54
Trisomía en un solo cromosoma	19.05	26.79	12.90	31.58*	22.30
Delección/duplicación	14.29	7.14	0	15.79	8.78
Anormalidad en dos cromosomas	14.29	17.86	32.26*	15.79	19.59
Anormalidad en múltiples cromosomas	47.62*	23.21	45.16*	15.79	33.78*

*p<0.05.

Las cifras representan porcentajes.

Cuadro 3. Origen parental de las aneuploidías detectadas en cada grupo de estudio

Edad	Materno	Paterno	Mixto
<35 años	26.19	14.29	45.24
35-39 años	73.21*	5.36	14.29
≥40 años	77.42*	0	22.58
Ovodonación	42.11	26.32	15.79

*p=0.01.

Las cifras representan porcentajes.

encontraron 64% de aneuploidías en un solo cromosoma y 16% en múltiples cromosomas.³²

Otro dato importante es que en mujeres jóvenes (incluyendo donantes), el porcentaje de trisomías en un solo cromosoma no es significativo en comparación con mujeres de edad avanzada (29 vs 13%, p>0.1), contrario a lo reportado en otros estudios.³²

Un estudio publicado con una serie considerable de pacientes reportó que incluso en 25% de los casos no hubo embriones euploides,³³ en nuestro estudio, 20% de los casos (14/70) no tuvieron embriones euploides. Estos hallazgos permiten no sólo una mejor orientación de los pacientes, sino también mayor comprensión de la biología reproductiva; también son una valiosa herramienta que sirve como patrón de referencia de los nuevos estudios en PGS.

A la fecha, no hay información de la frecuencia de aneuploidías embrionarias evaluadas mediante microarreglo PS en México. Además, en nuestra población, el tamizaje genético se realizó en pacientes que buscan atención de su infertilidad por afecciones frecuentes; la distribución del número de embriones evaluados por edad es similar a la observada en la población general infértil. Por tanto, estos datos sirven como una referencia y permiten comparaciones de cara al futuro en la aplicación de estas nuevas tecnologías, ya que no sólo mejoran la precisión en los resultados en el número de copias de cromosomas, sino además informan acerca del origen parental de cada cromosoma analizado en la biopsia del embrión.

Además de la distribución de aneuploidías, los porcentajes de alteración cromosómica, única, doble o múltiple, así como la relación de monosomías/trisomías ayudan a tener un panorama claro de las aneuploidías en reproducción humana.³⁴

Otro aspecto importante es limitar el número de embriones criopreservados a sólo los que son euploides, disminuyendo considerablemente la cantidad de embriones almacenados.

Reconocemos las limitaciones de nuestro estudio, ya que el número de embriones estudiados es bajo; sin embargo, la tendencia de nuestros resultados es similar a trabajos previamente



publicados con mayor número de embriones analizados.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados invitan a continuar la aplicación de esta tecnología, con el fin de mejorar sus ventajas y disminuir sus limitantes en la práctica clínica cotidiana. Debemos destacar tres situaciones fundamentales para la asesoría de la pareja.

El primer punto es conocer el porcentaje de embriones aneuploides. Los datos en los diferentes grupos de edades sirven para iniciar el asesoramiento de los pacientes, dado el porcentaje de aneuploidías observadas en mujeres menores de 35 años, con aumento progresivo con la edad materna.

El segundo punto de asesoramiento es la probabilidad de no tener embriones euploides para su transferencia al útero.

Por último, el tercer punto para el adecuado asesoramiento es identificar el origen parental de las aneuploidías (materno o paterno), dando información importante a las parejas acerca de su futuro reproductivo. Al considerar estos datos, puede ser razonable recurrir a un nuevo ciclo de tratamiento con opciones alternativas, como la ovodonación.

Agradecimientos

Por su valiosa colaboración en la realización de este trabajo, agradecemos al Dr. Mariano Grilli, Dr. Claudio Regueira Edelman y al M.C. Carlos Durand Montaña.

REFERENCIAS

1. Centers for Disease Control and Prevention. American Society for Reproductive Medicine. Society for Assisted

Reproductive Technology. 2010 Assisted Reproductive Technology National Summary Report. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 2012. Available at: <http://www.cdc.gov/art/ART2010/>

2. Vanneste E, Voet T, Le Caignec C, Ampe M, et al. Chromosome instability is common in human cleavage-stage embryos. *Nat Med* 2009;15:577-583.
3. Fragouli E, Lenzi M, Ross R, Katz-Jaffe M, et al. Comprehensive molecular cytogenetic analysis of the human blastocyst stage. *Hum Reprod* 2008;23:2596-2608.
4. Wells D, Delhanty JD. Comprehensive chromosomal analysis of human preimplantation embryos using whole genome amplification and single cell comparative genomic hybridization. *Mol Hum Reprod* 2000;6:1055-1062.
5. Voullaire L, Slater H, Williamson R, Wilton L. Chromosome analysis of blastomeres from human embryos by using comparative genomic hybridization. *Hum Genet* 2000;106:210-217.
6. Johnson DS, Gemelos G, Baner J, Ryan A, et al. Preclinical validation of a microarray method for full molecular karyotyping of blastomeres in a 24-h protocol. *Hum Reprod* 2010;25:1066-1075.
7. Baart EB, Van Opstal D, Los FJ, Fauser BC, Martini E. Fluorescence *in situ* hybridization analysis of two blastomeres from day 3 frozen-thawed embryos followed by analysis of the remaining embryo on day 5. *Hum Reprod* 2004;19:685-693.
8. Baart EB, van den Berg I, Martini E, Eussen HJ, et al. FISH analysis of 15 chromosomes in human day 4 and day 5 preimplantation embryos: the added value of extended aneuploidy detection. *Prenat Diagn* 2007;27:55-63.
9. Munne S, Chen S, Colls P, Garrisi J, et al. Maternal age, morphology, development, and chromosome abnormalities in over 6000 cleavage-stage embryos. *Reprod Biomed Online* 2007;14:628-634.
10. Munne S, Magli C, Bahce M, Fung J, et al. Preimplantation diagnosis of the aneuploidies most commonly found in spontaneous abortions and live births: XY, 13, 14, 15, 16, 18, 21, 22. *Prenat Diagn* 1998;18:1459-1466.
11. Warburton D, Kline J, Stein Z. Cytogenetic abnormalities in spontaneous abortions of recognized conceptions. In: Porter IH, Willey A, editors. *Perinatal genetics: diagnosis and treatment*. New York: Academic Press, 1986;133.
12. Bianco K, Caughey AB, Shaffer BL, Davis R, Norton ME. History of miscarriage and increased incidence of fetal aneuploidy in subsequent pregnancy. *Obstet Gynecol* 2006;107:1098-1102.
13. Rubio C, Pehlivan T, Rodrigo L, Simon C, et al. Embryo aneuploidy screening for unexplained recurrent miscarriage: a minireview. *Am J Reprod Immunol* 2005;53:159-165.
14. Sullivan AE, Silver RM, LaCoursiere DY, Porter TF, Branch DW. Recurrent fetal aneuploidy and recurrent miscarriage. *Obstet Gynecol* 2004;104:784-788.
15. Verlinsky Y, Tur-Kaspa I, Cieslak J, Bernal A, et al. Preimplantation testing for chromosomal disorders improves

- reproductive outcome of poor-prognosis patients. *Reprod Biomed Online* 2005;11:219-225.
16. Sermon K, Van Steirteghem A, Liebaers I. Preimplantation genetic diagnosis. *Lancet* 2004;363:1633-1641.
 17. Simpson JL. Causes of fetal wastage. *Clin Obstet Gynecol* 2007;50:10-30.
 18. Thornhill AR, deDie-Smulders CE, Geraedts JP, Harper JC, et al. ESHRE PGD Consortium Best practice guidelines for clinical preimplantation genetic diagnosis (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS). *Hum Reprod* 2005;20:35-48.
 19. Colls P, Escudero T, Cekleniak N, Sadowy S, et al. Increased efficiency of preimplantation genetic diagnosis for infertility using "no result rescue". *Fertil Steril* 2007;88:53-61.
 20. Verlinsky Y, Cohen J, Munne S, Gianaroli L, et al. Over a decade of experience with preimplantation genetic diagnosis. *Fertil Steril* 2004;82:302-303.
 21. Cupisti S, Conn CM, Fragouli E, Whalley K, et al. Sequential FISH analysis of oocytes and polar bodies reveals aneuploidy mechanisms. *Prenat Diagn* 2003;23:663-668.
 22. Fragouli E, Wells D, Whalley KM, Mills JA, . 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.
 23. Fragouli E, Wells D, Thornhill A, Serhal P, et al. Comparative genomic hybridization analysis of human oocytes and polar bodies. *Hum Reprod* 2006;21:2319-2328.
 24. Wilton L. Preimplantation genetic diagnosis and chromosome analysis of blastomeres using comparative genomic hybridization. *Hum Reprod Update* 2005;11:33-41.
 25. DeUgarte CM, Li M, Surrey M, Danzer H, et al. Accuracy of FISH analysis in predicting chromosomal status in patients undergoing preimplantation genetic diagnosis. *Fertil Steril* 2008;90:1049-1054.
 26. Mir P, Rodrigo L, Mateu E, Peinado V, et al. Improving FISH diagnosis for preimplantation genetic aneuploidy screening. *Hum Reprod* 2010;25:1812-1817.
 27. Le Caignec C, Spits C, Sermon K, De Rycke M, et al. Single-cell chromosomal imbalances detection by array CGH. *Nucleic Acids Res* 2006;34:e68.
 28. Hu DG, Webb G, Hussey N. Aneuploidy detection in single cells using DNA array-based comparative genomic hybridization. *Mol Hum Reprod* 2004;10:283-289.
 29. Hellani A, Abu-Amero K, Azouri J, El-Akoum S. Successful pregnancies after application of array-comparative genomic hybridization in PGS-aneuploidy screening. *Reprod Biomed Online* 2008;17:841-847.
 30. Fragouli E, Delhanty JD, Wells D. Single cell diagnosis using comparative genomic hybridization after preliminary DNA amplification still needs more tweaking: too many miscalls. *Fertil Steril* 2007;88:247-248; author reply 248-249.
 31. Munne S. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy and translocations using array comparative genomic hybridization. *Curr Genomics* 2012;13:463-470.
 32. Franasia JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril* 2014;101:656-663.
 33. Harper J, Coonen E, De Rycke M, Fiorentino F, et al. What next for preimplantation genetic screening (PGS)? A position statement from the ESHRE PGD Consortium Steering Committee. *Hum Rep* 2010;25:821-823.
 34. Fragouli E, Wells D. Aneuploidy in the human blastocyst. *Cytogenet Genome Res* 2011;133:149-159.

AVISO PARA LOS AUTORES

Revista Mexicana de la Reproducción tiene una nueva plataforma de gestión para envío de artículos. En: <https://www.revisionporpares.com/index.php/RMMRepro/login> podrá inscribirse en nuestra base de datos administrada por el sistema *Open Journal Systems* (OJS) que ofrece las siguientes ventajas para los autores:

- Subir sus artículos directamente al sistema.
- Conocer, en cualquier momento, el estado de los artículos enviados, es decir, si ya fueron asignados a un revisor, aceptados con o sin cambios, o rechazados.
- Participar en el proceso editorial corrigiendo y modificando sus artículos hasta su aceptación final.