Artículo original
Ginecol Obstet Mex. 2017 mayo;85(5):289-297.

Incidencia y origen parental de las aneuploidias en blastocistos: comparación entre dos centros de reproducción asistida en México

Sánchez-Usabiaga RA,[1] González-Becerra JE,[2] Vera-Aguado MG,[2] Ramírez EG,[3] Durand-Montaño C[3]

Resumen

OBJETIVO: determinar la incidencia y origen de las aneuploidias en blastocistos de dos centros mexicanos de reproducción asistida.

MATERIALES Y MÉTODOS: estudio de cohorte, retrospectivo, efectuado entre los meses de enero de 2014 a diciembre de 2015 de blastocistos de día 5 y 6 obtenidos durante tratamientos de fecundación *in vitro* y analizados con el tamizaje genético previo a la implantación, en su variante de microarreglos de polimorfismo de nucleótido único (SNP *microarrays*) con el algoritmo *Parental Support* (Natera, USA), que permite evaluar la ploidía de los 24 cromosomas. Comparación de variables continuas: T de Student y categóricas χ^2.

RESULTADOS: se analizaron 450 blastocistos de 80 pacientes. En el centro A: 132 blastocistos fueron de día 5 y 108 de día 6. En el centro B: 94 blastocistos fueron de día 5 y 116 de día 6. Las pacientes del centro A tuvieron mayor edad materna (37.3 ± 3.8 *vs* 32.4 ± 5.6; $p<0.05$). La incidencia total de blastocistos con aneuploidias fue similar en ambos centros; al diferenciar entre embriones de día 5 y día 6 sí hubo diferencia. El centro A reportó aumento de blastocistos aneuploides de día 6 *vs* blastocistos de día 5 (61.1 *vs* 36.3%; $p<0.05$). En el centro B la incidencia de embriones aneuploides fue similar entre blastocistos de día 5 y día 6 (48.9 *vs* 43.1; $p > 0.05$). El origen de las aneuploidias fue, principalmente, materno (centro A, 68.7%; centro B, 60.75%) seguido por origen mixto (centro A, 19.65%; centro B, 28.1%) y, finalmente, origen paterno (centro A, 11.6%; centro B, 11.1%).

CONCLUSIONES: la incidencia de aneuploidias embrionarias entre embriones de día 5 y día 6 fue diferente entre centros. El origen fue, principalmente, materno, seguido de mixto y finalmente paterno.

PALABRAS CLAVE: embrión, estudio o tamizaje genético previo a la implantación (PGS), implantación, blastocisto, aneuploidia, cromosomas.

[1] Director General, Médica Fértil.
[2] Médica Fértil, Querétaro.
[3] Médica Fértil, Santa Fe.

Recibido: diciembre 2016

Aceptado: marzo 2017

Correspondencia
Dr. Juan Enrique González Becerra
jegb_79@hotmail.com

Este artículo debe citarse como
Sánchez-Usabiaga RA, González-Becerra JE, Vera-Aguado MG, Ramírez EG, Durand-Montaño C. Incidencia y origen parental de las aneuploidias en blastocistos: comparación entre dos centros de reproducción asistida en México. Ginecol Obstet Mex 2017 mayo;85(5):289-297.

Ginecol Obstet Mex. 2017 May;85(5):289-297.

Incidence and parental origin of aneuploidies in blastocysts: comparison between two centers of assisted reproduction in Mexico.

Sánchez-Usabiaga RA,[1] González-Becerra JE,[2] Vera-Aguado MG,[2] Ramírez EG,[3] Durand-Montaño C[3]

Abstract

OBJECTIVE: To determine the incidence and origin of aneuploidies in blastocysts of two assisted reproduction centers in México.

MATERIAL AND METHODS: Retrospective cohort study. In the period from january 2014 to December 2015, we incluided blastocysts on day 5 and day 6 of developmet, analyzed with preimplantation genetic screening; in two assisted reproduction centers. Blastocysts biopsied on day 7 and embryos that did not perform genetic diagnosis made, were excluded. The comparison of continuous variables: "T of student", categorical: χ^2.

RESULTS: Were analized 450 blastocysts obtained from 80 patients. In center A, 132 blastocysts were on day five and 108 on day six; In the center B; 94 blastocysts were on day five and 116 on day six. Maternal age was higher in center A (37.3 ± 3.8 vs 32.4 ± 5.6 years, p <0.05). The total incidence of aneuploid blastocysts was similar in both centers; By differentiating between embryos from day five and day six if there was difference. The center A presented aneuploid blastocysts increase of day 6 compared with blastocysts of day 5 (61.1 vs 36.3%, p <0.05). In Center B the incidence of aneuploid embryos was similar between blastocysts from day 5 and 6 (48.9 vs 43.1; p> 0.05). In both centers, the main origin of aneuploidies was the maternal cause (center A, 68.7%, center B, 60.75%), followed by mixed origin (center A, 19.65%, center B, 28.1%) and finally of paternal cause (center A, 11.6%, center B, 11.1%).

CONCLUSIONS: The incidence of embryonic aneuploidies between embryos from day 5 and day 6 was different between centers. The origin was mainly maternal, followed by mixed and paternal.

KEY WORDS: Embryo; Preimplantation genetic screening (PGS); Implantation; Blastocyst; Aneuploidy; Chromosome

[1] Director General, Médica Fértil.
[2] Médica Fértil, Querétaro.
[3] Médica Fértil, Santa Fe.

Correspondence
Dr. Juan Enrique González Becerra
jegb_79@hotmail.com

ANTECEDENTES

Las alteraciones en los cromosomas de los embriones de humanos desarrollados mediante fertilización in vitro incluyen errores numéricos (aneuploidias) y estructurales (pérdidas, duplicaciones y translocaciones).[1] Las aneuploidias, a su vez, coexisten en más de la mitad de los

embriones analizados mediante tamizaje genético previo a la implantación,[2] que se reportan incluso en 100% de aneuploidias en pacientes de edad avanzada y entre 45 a 54% en pacientes menores de 35 años de edad.[2-4]

Las aneuploidias embrionarias se asocian con pronóstico reproductivo adverso, como la falla en la implantación, mayor número de abortos del primer trimestre o el nacimiento de un niño con alteraciones cromosómicas.[5]

Diferentes estudios reportan que los blastocistos de día 5 de desarrollo tienen menos aneuploidias que los embriones de día 3, quizás debido a la activación del control celular previo a este estadio, que hace que disminuya el número de embriones aneuploides y permite elegir blastocistos potencialmente viables para su transferencia al útero.[6] En ocasiones existe lenta progresión a blastocisto hasta el día 6 o 7, lo que algunos autores relacionan con mayor tasa de aneuploidias.[7,8]

El objetivo de este estudio es determinar la incidencia y el origen de las aneuploidias en blastocistos de día 5 y 6 de desarrollo; además, analizar la tendencia de estos resultados al comparar dos clínicas de reproducción asistida ubicadas en diferentes estados de la República Mexicana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio de cohorte, retrospectivo, efectuado con datos obtenidos de enero de 2014 a diciembre de 2015 de dos centros privados de reproducción asistida [centro A (Ciudad de México) y centro B (Querétaro)]. Se incluyeron blastocistos de día 5 y 6 obtenidos durante tratamientos de fecundación in vitro y analizados con el tamizaje genético previo a la implantación, en su variante de micro-arreglos de polimorfismo de nucleótido único (SNP *microarrays*) analizados con el algoritmo *Parental Support* (Natera Inc., USA) que permite evaluar la ploidía de los 24 cromosomas. Se excluyeron los embriones que las condiciones adecuadas para toma de biopsia fueron en día 7 de desarrollo embrionario y los embriones a los que se tomó biopsia en día 5 o 6 de desarrollo y no se logró establecer el diagnóstico genético (no codificación).

En nuestras instituciones, a partir de 2014, durante el proceso de fecundación in vitro se ofrece el diagnóstico genético previo a la implantación; sobre todo a parejas con edad materna avanzada, pérdida gestacional recurrente, antecedente de ciclos de fecundación in vitro fallidos, factor masculino alterado severo y transferencia de embrión único.

Todas las participantes firmaron un consentimiento informado para la realización de los protocolos de estimulación ovárica controlada, FIV y tamizaje genético previo a la implantación.

Biopsia embrionaria para el tamizaje genético previo a la implantación

Todos los embriones se evaluaron el día 5 de desarrollo, según la clasificación de Gardner. Se determinó el grado de expansión (1-5), características de la masa celular interna (A, B y C) y células de trofoectodermo (A, B y C) para determinar el día de la biopsia. Se consideraron aptos para biopsia los embriones con grado de expansión 3, 4 y 5, masa celular interna grado A y B y trofoectodermo A y B. Los embriones que no cumplieron en día 5 con esas características se reevaluaron 24 horas después (día 6) para tomar la biopsia. Si en la segunda evaluación tenían esas características (por ejemplo, embriones grado 1 y 2, mórulas cavitadas en día 5, se reevaluaron en día 6) . Se utilizó una aguja "Biopsy" MBB-BP-30 de la marca Origio Inc. (Charlottesville, VA, EUA) y para sujetar a los embriones se utilizó una aguja "Holding" MPH-

SM-30 de la marca Origio Inc. (Charlottesville, VA EUA), con ayuda del micromanipulador se tomaron de 5 a 10 células del trofoectodermo, desprendiéndolas del blastocisto con ayuda del láser (Zilos Tk, Hamilton Thorne Biosciences), incidiendo sobre la superficie de la zona colapsada y con pulsos de una intensidad de 400 microsegundos cada uno, al 100% de potencia. Seguido de esto, las células biopsiadas permanecieron en congelación a -78°C (hielo seco) para ser enviadas al laboratorio de Natera, en donde se llevó a cabo el tamizaje genético previo a la implanmtación.

Tamizaje genético previo a la implantación basado en SNPs

En Natera, las muestras biopsiadas de los blastocistos de día 5 y 6 se genotipificaron con Illumina HumanCyto-12 DNA BeadChips y analizaron con el algoritmo informático *Parental Support* que analiza las mediciones de los SNP de los padres y de los blastocistos y permite la comparación de las copias de ADN con los blastocistos de los padres; es así como se identifican el tipo de alteración cromosómica (numérica o estructural) y el origen (materno, paterno o mixto).[9]

La comparación de los datos obtenidos se efectuó con t de Student cuando las variables eran continuas, con evaluación previa de la normalidad. χ^2 cuando las variables fueron categóricas. En todos los casos se consideró una $p < 0.05$ como diferencia estadísticamente significativa. Se utilizó el paquete estadístico SSPS en su versión 22.0.0.0. en español

RESULTADOS

Se analizaron 450 blastocistos obtenidos de 80 pacientes. En el centro A: 132 (55%) fueron de día 5 y 108 (45%) de día 6, a diferencia del centro B en donde 94 (44.7%) blastocistos fueron de día 5 y 116 (55.2%) de día 6. En el centro A hubo aumento estadísticamente significativo de la edad materna (37.3 ± 3.8 *vs* 32.4 ± 5.6) ($p<0.05$) al comparar con el centro B (Cuadro 1). No existió diferencia en la incidencia de aneuploidias entre la totalidad de embriones entre el centro A y B, al diferenciar entre embriones de día 5 y día 6 sí hubo diferencia entre centros. (**Cuadro 1**)

En el centro A existió aumento significativo de blastocistos aneuploides de día 6 (61.1 *vs* 36.3%) ($p<0.05$) al comparar con los de día 5 del mismo centro (Cuadro 1); sin embargo, en el centro B no hubo diferencia de aneuploidias entre blastocistos de día 5 y 6.

Al comparar blastocistos de día 5 del centro A con blastocistos de día 5 del centro B (**Figura 1**) se determinó que no hay diferencia estadística del origen materno (63.6 *vs* 69.2%), paterno (13.6 *vs* 10.2%) y mixto (22.7 *vs* 20.5%) de las aneuploidias.

Al comparar los blastocistos de día 6 del centro A con los blastocistos de día 6 del centro B, el segundo reportó disminución con significancia estadística del origen materno de aneuploidias (73.8 *vs* 52.3%) ($p<0.05$), el origen paterno no mostró diferencia estadística (9.5 *vs* 11.9%) y el origen mixto tuvo aumento estadísticamente significativo (16.6 *vs* 35.7%) ($p<0.05$) en el centro B. **Figura 1**

Al determinar el origen de las aneuploidias: causa materna o causa paterna, en el centro A el origen materno como causa de aneuploidias fue mayor en blastocistos de día 5 (63.6 *vs* 13.6%) ($p<0.05$) y blastocistos de día 6 (73.8 *vs* 9.5%) ($p<0.05$). Al realizar la misma determinación del origen de las aneuploidias en el centro B, el origen materno fue mayor que el paterno en blastocistos de día 5 (69.2 *vs* 10.2%) ($p<0.05$) y día 6 (52.3 *vs* 11.9%) ($p<0.05$) (Figura 1).

Cuadro 1. Características de la muestra y aneuploidias

	Centro A			Centro B		p
n	43			37		*NA*
Edad materna	37.3±3.8			32.4±5.6		*<0.05*
Blastocistos	240			210		*NA*
Blastocistos biopsiados	5.8±2.9			6.2±1.7		*ND*
Aneuploides	47.5 (114/240)			45.7 (96/210)		*ND*
Día de blastulación	**Día 5**	**Día 6**	***p***	**Día 5**	**Día 6**	***P***
Blastocistos	132	108		94	116	*NA*
Edad materna	37±5	36.3±4.5	ND	32.5±5.6	32±4.8	*ND*
Aneuploides	36.3 (48/132)	61.1 (66/108)	<0.05	48.9 (46/94)	43.1 (50/116)	*ND*

Media ± DE y porciento (n/total). NA: no se aplicó análisis estadístico y ND: sin diferencia estadística

Al comparar la aneuploidias de origen materno con las de origen mixto en el centro A, las primeras tuvieron aumento estadístico significativo en blastocistos de día 5 (63.6 *vs* 22.7%) (p<0.05) y día 6 (73.8 *vs* 16.6%) (p<0.05). En el centro B se llevó a cabo la misma comparación y el origen materno fue mayor que el origen mixto en blastocistos de día 5 y 6; (69.2 *vs* 20.5%) (p<0.05) y (52.3 *vs* 35.7%), respectivamente (**Figura 1**).

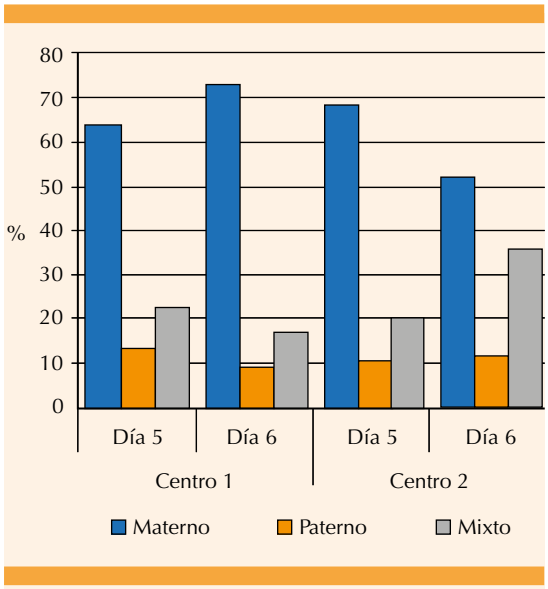


Figura 1. Origen parental.

Al comparar las aneuploidias de origen paterno con las de origen mixto en el centro A no hubo diferencia estadística significativa en los blastocistos de día 5 (13.6 *vs* 22.7) y día 6 (9.5 *vs* 16.6%). En el centro B, los blastocistos de día 5 (10.2 *vs* 20.5%) no mostraron diferencia estadística aunque en los blastocistos de día 6 el origen paterno de las aneuploidias fue menor que el origen mixto (11.9 *vs* 35.7%) (p<0.05) (Figura 1).

La incidencia de múltiples aneuploidias se analizó entre blastocistos de día 5 y día 6 y se observó que el centro A tuvo más embriones con aneuploidias múltiples en blastocistos de día 6 (19.85 *vs* 32.41%) (p<0.05). En el centro B no hubo diferencia (22.34 *vs* 18.97%). Al comparar los blastocistos de día 5 del centro A con los del centro B de día 5 no hubo diferencia (19.84 *vs* 22.34%) pero al comparar los blastocistos de día 6 del centro A con los de día 6 del centro B en el primero hubo aumento significativo (32.40 *vs* 18.96%) (p<0.05). (**Figura 2**)

Al determinar los errores parciales entre blastocistos de día 5 y día 6 se observó que el centro A tuvo aumento significativo de errores parciales en blastocistos de día 6 (4.58 *vs* 12.03%) (p<0.05). El centro B no mostró diferencia (5.31 *vs* 4.31%). Al evaluar los errores parciales en

blastocistos de día 5 del centro A con los blastocistos de día 5 del centro B, no hubo diferencia (4.58 *vs* 5.31%), pero cuando se compararon los blastocistos de día 6 del centro A contra los del centro B de día 6, el centro A mostró aumento significativo en la incidencia (12.03 *vs* 4.31%) (p<0.05). (**Figura 2**)

Al analizar las trisomías embrionarias en blastocistos de día 5 y día 6 no se encontraron diferencia en el centro A (5.34 *vs* 5.55%) ni en el centro B (15.96 *vs* 14.66%). Al comparar entre centros, el centro B tuvo aumento significativo en blastocistos de día 5 (5.34 *vs* 15.95%) (p<0.05) y 6 (5.55 *vs* 14.65%) (p<0.05) de esas trisomías, al comparar con sus homólogos del centro A. (**Figura 2**)

Al evaluar la incidencia de trisomías en el centro B se observó aumento numérico de los cromosomas 16 (0.8 *vs* 2.8%), 22 (0 *vs* 2.3) y sexual (XXX + XXY) (0 *vs* 2.3%), al comparar con el centro A. (**Figura 3**)

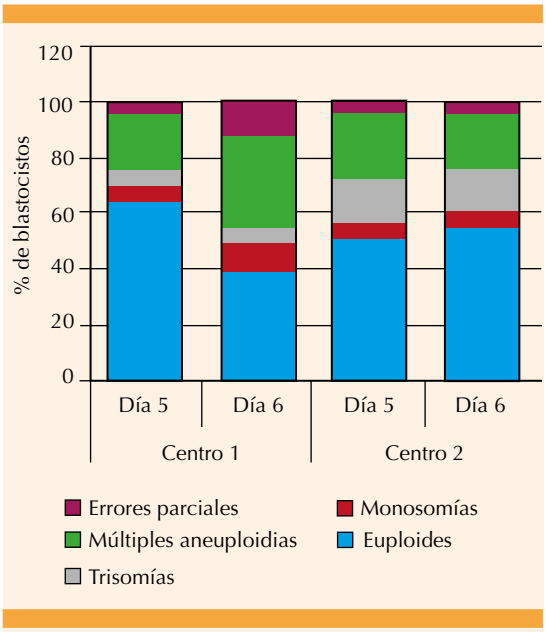


Figura 2. Tasa de blastocistos euploides y aneuploides (por tipo).

DISCUSIÓN

Se reportan los resultados de dos centros de reproducción en los que se realizó tamizaje genético previo a la implantación (SNPs-array con "Parental Support") que aportó información de la incidencia y origen parental (materno, paterno y mixto) de las aneuploidias cromosómicas en blastocistos de día 5 y 6 en dos centros de fertilidad.

En el centro A hubo mayor incidencia de embriones aneuploides en los que tuvieron retardo en la blastulación (día 6 de desarrollo 61.3%); nuestros datos coinciden con los de Taylor y su grupo, quienes efectuaron la comparación de embriones de día 5 y día 6 de desarrollo y reportaron mayor incidencia de embriones aneuploides en día 6 (57.2%).

En el centro B no se encontró diferencia en la incidencia de embriones aneuploides entre blastocistos de día 5 *versus* día 6 (48.9 *vs* 50%). Estos resultados coinciden con los de Piccolomini y sus coautores,[9] quienes reportan que los blastocistos de día 5 y 6 obtenidos de mujeres jóvenes no tienen diferencia de aneuploidias entre ellos (61.4 *vs* 69.9%). Resultados similares a lo publicado por Kroener y su grupo[10] que al comparar blastocistos desarrollados en día 6 con los de día 5 no encontraron diferencia en la tasa de aneuploidias entre ellos.

Algunas metodologías solo pueden determinar si el origen de la aneuploidia es materna. Nosotros, con la metodología empleada y el algoritmo de *Parental Support* determinamos si el origen de la aneuploidia fue materno, paterno o mixto (ambos padres). En nuestro grupo de pacientes, independientemente de la edad y del centro, las aneuploidias fueron principalmente de origen materno, lo que coincide con lo reportado en la bibliografía[11-13] seguido del mixto y, por último, las de origen paterno.

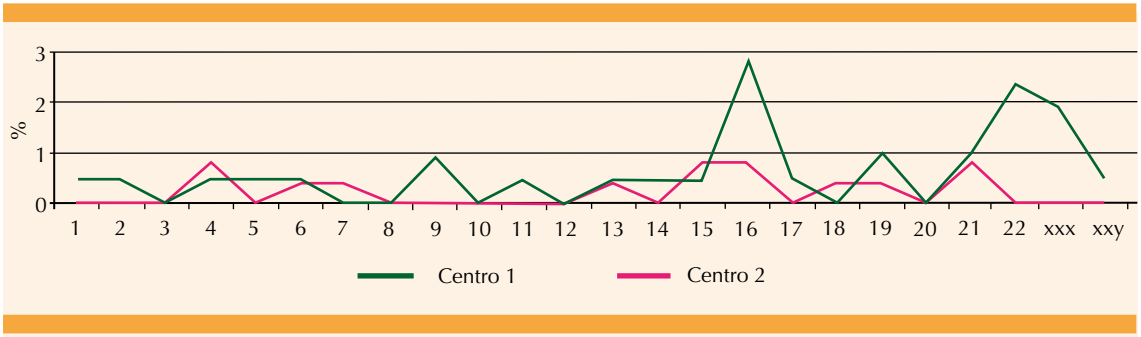


Figura 3. Tasa de trisomías por cromosoma.

La incidencia de aneuploidias de origen mixto fue mayor en embriones de seis días de desarrollo en el centro B, donde la edad materna fue menor. Este hallazgo nos hace creer que el factor edad no es la única causa del aumento de aneuploidias y que pudieran existir otros factores, como la predisposición genética parental a desarrollar embriones aneuploides, debido quizá a alteraciones en mitocondrias, alteraciones en el huso meiótico o pérdida de factores de corrección, entre muchos otros, que pueden alterar la segregación de los cromosomas.[14,15]

Existen factores que se han asociado con la incidencia de embriones aneuploides, aparte de la edad materna. En la actualidad son motivo de controversia: el tipo de estimulación ovárica,[16-19] ciertos medios de cultivo, las condiciones embrionarias según el criterio del embriólogo para tomar la biopsia, número de células para estudio, condiciones que pueden afectar la incidencia de anormalidades cromosómicas asociadas con factores bioquímicos, metabólicos y condiciones epigenéticas.[17,20]

Sills y su grupo[21] encontraron que 18% de las aneuploidias embrionarias fueron de causa paterna exclusivamente. En nuestro estudio la incidencia fue de 10.2% (embriones de día 5 en el Centro B) e incluso 13.6% (embriones de día 5 en el Centro B). Aunque la causa paterna es la menor de las tres, la realización de futuras investigaciones ampliará los límites, el conocimiento, el entendimiento del factor paterno y su papel en el logro del éxito reproductivo con el nacimiento de un hijo sano en casa.

En el Centro B (mujeres jóvenes) los embriones tuvieron mayor incidencia de trisomías lo que coincide con resultados de otros autores.[3,4,22]

El aumento en la incidencia de trisomías en el grupo de menor edad (10% más) no coincide con lo descrito en la mayor parte de los estudios que atribuyen el incremento de trisomías principalmente al aumento de la edad materna.[23-25] Entre las trisomías observadas con mayor frecuencia estuvieron los cromosomas 16, 22 y sexual (XXX y XXY), lo que coincide con la tendencia de otros investigadores que han asociado a los cromosomas 16 y 22 con abortos espontáneos.[25,26]

En el Centro A el desarrollo a blastocisto a seis días se asoció con incremento en la incidencia de errores parciales y múltiples alteraciones cromosómicas. Si bien el tamaño de la muestra fue limitado para afirmar que existe asociación para explicar el retardo en el desarrollo es importante mencionarlo para futuras investigaciones.

Los datos de la ploidía de los embriones de este estudio permiten conocer los diferentes

orígenes de las aneuploidias, no solo de origen materno,[9] información que puede tener una repercusión clínica directa en el campo de la fertilización in vitro. Los estudios más recientes demuestran una alta frecuencia de mosaicismo (alteración cromosómica en la que, en un mismo individuo, coexisten dos o más poblaciones celulares con distinto genotipo) en embriones humanos y un grado significativo de autocorrección.[27,28]

El entendimiento de los diferentes tipos y orígenes de las aneuploidias en embriones, aunado a datos de la evolución de los embriones con mosaicismo en su tendencia a la autocorrección, permitirá la selección de los que tengan mayores posibilidades de desarrollarse en un niño saludable.[25,29] Sin embargo, es importante considerar que hoy día la prevalencia del mosaicismo y el destino de los embriones solo se comprenden parcialmente; por esto los datos aquí reportados no pretenden ser representativos de la ploidía completa de los embriones, solo aportar información relevante de las células de trofoectodermo estudiadas.

Un campo de investigación para determinar el origen de las aneuploidias embrionarias, independiente de la edad, permitirá explicar el porqué de las diferencias en aneuploidias observadas en dos clínicas de reproducción asistida. También será importante determinar las repercusiones en reproducción humana.

CONCLUSIONES

La frecuencia de aneuploidias fue diferente en los dos centros entre embriones de día 5 y día 6. El origen de las aneuploidias embrionarias fue, principalmente, materno, seguido del origen mixto y, finalmente, paterno. Se aporta suficiente evidencia para continuar la investigación en esta área. Este estudio puede servir de base para estudios clínicos prospectivos.

REFERENCIAS

1. Vanneste E, Voet T, Le Caignec C, Ampe M Koning P, Melotte C, Debrock S, Amyere M, Vikkula M, Schuit F, Fryns J, Verbeke G, DHooghe T, Moreau Y, Chromosome instability is common in human cleavage-stage embryos. Nature Medicine, 2009; 15 (5): 577-583.
2. Demko Z, Simon A, McCoy R, Petrov D, Rabino M, Effects of maternal age on euploidy in a large cohort of embryos analyzed with 24-chromosome single-nucleotide polymorphioms-based preimplantation genetic screening, Fertility and Sterility, 2016; 105 (5): 1307-1313.
3. Baart E, Martini E, Berg L, Macklon N, Galjaard R Fauser B, Opstal D, Preimplantation genetic screening reveal a high incidence of aneuploidy and mosaicism in embryos from young woman undergoing IVF, Human Reproduction, 2006; 1: 223-233.
4. Yang Z, Liu J, Collins G, Salem S, Liu X, Lyle S, Peck A, Sills E, Salem R, 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, Molecular Cytogenetics, 2012; 5 (24): 1-8.
5. Menasha J, Levy B, Hirschhorn K, Kardon NB. Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in spontaneous abortions: new insights from a 12-year study. Genetics in Medicine, 2005; 7: 251–63.
6. Barbash S, Frumkin T, Malcov M, Yaron Y, Cohen T, Azem F, Amit A, Ben D, Preimplantation aneuploid embryos undergo selft-correction in correlation with their developmental potential, Fertility ans Sterility, 2009; 92 (3): 890-896.
7. Taylor T, Patrick J, Gitlin S, Wilson J, Crain J, Griffin D, Comparison of aneuploidy, pregnancy and live birth rates between day 5 and day 6 blastocysts, Reproductive BioMedicine Online, 2014; 29: 305-310.
8. Su Y, Jian-jun L, Wang C, Haddad G, WEI-Hua W, Aneuploidy analysis in day 7 human blastocysts produced by in vitro fertilization, Reproductive Biology and Endocrinology, 2016: 14 (20); 1-7.
9. Piccolomini M, Nicolielo M, Bonetti T, Motta E, Serafini P, Alegretti J, Does slow embryo development predict a higt aneuploidy rate on trophectoderm biopsy?, Reproductive BioMedicine online, 2016: 33 (3); 398-403.
10. Kroener L, Ambartsumyan G, Briton C, Dumesic D, Surrey M, Munne S, Hill D, The effect of timing of embryonic progression on chromosomal abnormality, Fertility and Sterility, 2012: 98 (4); 876-880.
11. Campbell I, Stewart J, James R, Lupski J, Stankiewicz P, Olofsson P, Shaw C, Parent of origin, mosaicism, and recurrence risk: probabilistic modeling explains the broken symmetry of transmission genetics, The American Journal of Human Genetics, 2014: 95; 345-359.
12. Tylor T, Gitlin S, Patrick J, Crain J, Wilson J, Griffin D, The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of

chromosomal mosaicism in humans, Human Reproduction Update, 2014: 20 (4); 571-581.

13. Munne S, Held K, Magli C, Ata B, Wells D, Fragouli E, Baukloh V, Fischer R, Gianaroli L, Intra-age, intercenter, and intercycle differences in chromosome abnormalities in oocytes, Fertility and Sterility, 2012: 97 (4); 935-942.
14. Hassold T, Hall H, Hunt P, The origin of human aneuploidy: where we have been, where we are going, Human Molecular Genetic, 2007: 16 (2): R203-R208.
15. Robinson W, Mc Fadden D, Stephenson M, The origin of abnormalities in recurrent aneuploidy/polyploidy, American Society of Human Genetics, 2001; 69 (6); 1245-1254.
16. Massie J, Shahine L, Milki A, Westphal L, Lathi R, Ovarian stimulation and the risk of aneuploid conceptions, Fertility and Sterility, 2011: 95 (3); 970-972.
17. Munné S, Magli C, Adler A, Wright G, Boer K, Mortimer D, Ticker M, Cohen J, Gianaroli L, Treatmet-related chromosome abnormalities in human embryos, Human Reproduction, 1997: 12 (4); 780-784.
18. Telli C, Mehmet E, Nuray B, Yirmibes M, Mesut O, Ahmet E, Onur K, Mustafa C, Gülsün K, Does ovulation induction increase the risk of aneuploid conception? comparison of first trimester miscarriages after FSH stimulated cycles and naturally conceived cycles, International Journal of Womens Health and Reproduction Sciences, 2014: 2 (4); 225-228.
19. Baart E, Martini E, Eijkemans M, Van Opstal D, Beckers N, Verhoeff A, Macklon N, Fauser B, Milder ovarian stimulation for in vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: a randomized controlled trial, Human Reproduction, 2007: 22 (4); 980-988.
20. Swain J, Carrel D, Cobo A, Meseguer M, Rubio C, Smith G, Optimizing the culture environment and embryo manipulation to help maintain embryo developmental potential, Fertility and Sterility, 2016: 105 (3); 571-587.
21. Sills E, Li, Frederick J, Khoury C, Potter D, Determining parental origin of embryo aneuploidy analysis of genetic error observed in 305 embryos derived from anonymous donor oocyte IVF cycles, Molecular Cytogenetics, 2014; 7 (68): 1-8.
22. Alonso Á, Bermejo S, Hernández R, Ayala R, González A,Grether P, Diagnóstico citogénetico en aborto espontáneo del primer trimestre, Ginecología y Obstetricia de México, 2011: 79 (12); 779-784.
23. Chiang T, Schultz R, Lampson M, Meiotic origins of maternal age-related aneuploidy, Biology of Reproduction, 2012; 86 (1): 1-7.
24. Hassold T, Hunt P, To err (meioticcaly) is human: the genesis of human aneuploidy, Nature Reviews Genetics, 2001: 2; 280-29.
25. Rabinowitz M, Ryan A, Gemelos G, Hill M, Baner J, Cinnioglu C, Bamjevic M, Potter D, Petrov D, Demko Z, Origins and rate of aneuploidy in human blastomeres, Fertility and Sterility, 2011; 97 (2): 395-401.
26. López A, Bermejo S, Hernández R, Ayala R, González del Ángel A, González P, Diagnóstico citogenético en aborto espontáneo del primer trimestre, Ginecología y Obstetricia de México 2011:79; 779-784.
27. Capalbo A, Ubaldi F, Rienzi L, Scott R, Treff N, Detecting mosaicism in trophectoderm biopsies: current challenges and future possibilities, Human Reproduction, 2016: doi:10.1093/humrep/dew250.
28. Johnson DS, Cinnioglu C, Ross R, Filby A, Gemelos G, Hill M, Ryan A, Smotrich D, Rabinowitz M, Murray MJ, Comprehensive analysis of karyotypic mosaicism between trophectoderm and inner cell mass, Molecular Human Reproduction, 2010: 16 (12); 944-949.
29. Rabinowitz M, Pettersen B, Le A, Gemelos G, Tourgeman D, DNA fingerprint confirmation of healthy livebirth following PGS results indicating trisomy 3 of paternal origin and likely embryo and likely embryo mosaicism, Presented at the Annual Meeting of the Pacific Coast Reproductive Society, April 13-17, 2011; Rancho Mirage, AC.