Artículo original
Ginecol Obstet Mex. 2020; 88 (8): 508-516.

Estrategia combinada en fertilización in vitro: mínima estimulación y transferencia de embrión único con diagnóstico genético. Experiencia de 3 años en dos centros de reproducción en México

A combined in-vitro fertilization strategy: minimal stimulation IVF, PGT-A and SET. Results from 3 years' experience at two IVF centers in Mexico.

Cristina Magaly Sánchez-González,[1] Mónica Aguinaga-Ríos,[2] Rodolfo García-Sánchez,[3] Dante Sánchez-González,[4] Rodrigo Guarneros-Valdovinos,[5] Alejandro Chávez-Badiola[6]

RESUMEN

OBJETIVO: Evaluar los desenlaces de una estrategia combinada para fertilización in vitro: mínima estimulación ovárica, diagnóstico genético preimplantación para aneuploidias y transferencia de un solo embrión.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio de cohorte, retrospectivo, efectuado en dos centros de reproducción de México, en un periodo de tres años. Se incluyeron pacientes entre 25 y 45 años, en protocolo de fertilización in vitro, con mínima estimulación, diagnóstico genético preimplantación para aneuploidias (PGT-A) y transferencia de embrión único. El diagnóstico genético preimplantación se estableció mediante microarreglos y secuenciación de nueva generación (NGS). Para el análisis estadístico se integraron 5 grupos, según la edad de las pacientes: menores de 35 años; 35 a 37 años; 38 a 40 años; 41 a 42 años; y mayores de 42 años. Mediante estadística descriptiva se analizaron las variables numéricas y categóricas.

RESULTADOS: Se analizaron 175 ciclos, en 125 pacientes (edad promedio: 39 años ± 5). Se obtuvieron, en promedio, 5 óvulos por ciclo. La tasa de fertilización fue de 86.5% y la de blastocisto por óvulo fertilizado de 50.7%. Se tomó biopsia para diagnóstico genético preimplantación para aneuploidias a 404 embriones. La tasa general de euploidia fue de 33%. Se efectuaron 69 transferencias de embrión único, con una tasa de embarazo por transferencia de 71%. La tasa de nacimiento por transferencia fue de 60.8% (42 nacimientos).

CONCLUSIONES: La combinación de mínima estimulación, diagnóstico genético preimplantación para aneuploidias y transferencia de embrión único, es un procedimiento adecuado para alcanzar una tasa de nacimiento alta.

PALABRAS CLAVE: Fertilización in vitro; diagnóstico genético; aneuploidia; transferencia de blastocisto; estimulación mínima; tasa de nacimiento.

Abstract

OBJECTIVE: To evaluate results of a combined approach in IVF, using minimal stimulation, preimplantation genetic testing for aneuploidy, and single blastocyst transfer.

MATERIALS AND METHODS: Retrospective cohort study over a three years' period in two fertility centers in Mexico. A total of 125 patients were included, between 25 and 45 years old, with minimal stimulation IVF, preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) and single euploid embryo transfer. PGT was performed using microarrays and next generation sequencing (NGS).

RESULTS: A total of 175 cycles (mean age: 39 years old) were analyzed in 125 patients. On average, five eggs were collected per cycle; fertilization rate was 86.57%; blastocyst rate was 50.7% per fertilized egg. Only 33% of embryos were euploid. Pregnancy rate per transferred embryo was 71%. Live birth rate was 60.8% (42 births).

[1] Director médico, Ciudad de México
[2] Departamento de Genética, Ciudad de México.
[3] Departamento de Embriología, Guadalajara, Jalisco.
[4] Departamento de Embriología, Ciudad de México.
[5] Médico Asociado, Ciudad de México.
[6] Director de Innovación y Tecnología. New Hope Fertility Center.

Recibido: septiembre 2019

Aceptado: junio 2020

Correspondencia
Alejandro Chávez Badiola
drchavez-badiola@nhfc.mx

Este artículo debe citarse como
Sánchez-González CM, Aguinaga-Ríos M, García-Sánchez R, Sánchez-González D, Guarneros-Valdovinos R, Chávez-Badiola A. Estrategia combinada en fertilización in vitro: mínima estimulación y transferencia de embrión único con diagnóstico genético. Experiencia de 3 años en dos centros de reproducción en México. Ginecol Obstet Mex. 2020; 88 (8): 508-516.
https://doi.org/10.24245/gom.v88i8.3490

CONCLUSIONS: A combination of minimal stimulation, PGT-A and single blastocyst embryo transfer can yield a high live birth rate.

KEYWORDS: IVF; Genetic testing; Aneuploidy; Blastocyst transfer; minimal stimulation; Birth rate.

ANTECEDENTES

Los avances recientes en fertilización in vitro, como la introducción del cultivo extendido a blastocisto, el análisis genético y la mejoría en las técnicas de criopreservación (vitrificación), han permitido poner en duda los procedimientos convencionales.[1,2,3] Además de la calidad del laboratorio, los esfuerzos dirigidos a la obtención de mejores resultados en los tratamientos de fertilización in vitro deben considerar distintas variables, sobre todo: el protocolo de estimulación ovárica, la selección embrionaria y la cantidad de embriones transferidos.

La estimulación ovárica durante los tratamientos de fertilización in vitro parece tener repercusión más allá de la cantidad de óvulos obtenidos.[1,2,4] Los esquemas de mínima estimulación ovárica ofrecen ventajas potenciales en relación con los convencionales: menor dosis de medicamentos con menos costos relacionados,[4] menor riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica y, quizá, mayor proporción de embriones euploides,[5] con menor tiempo para lograr el nacimiento.

Si bien se ha documentado extensamente el riesgo asociado de embarazo múltiple,[6,7,8] por mucho tiempo ha permanecido la práctica de transferir varios embriones,[9] debido a las bajas tasas de embarazo por embrión transferido[9] y de supervivencia con las técnicas de congelación.[10] Los avances recientes han conseguido mejorar los protocolos, las condiciones del laboratorio, la selección del embrión y el diagnóstico genético preimplantación de aneuploidias. Aunado a lo anterior se esperan tasas de supervivencia de 98% con técnicas de vitrificación eficientes,[11] por lo que actualmente es difícil justificar la transferencia de varios embriones. Además, las tasas acumuladas de nacimiento después de la transferencia de embrión único pueden, incluso, ser superiores a las que se observan cuando se transfieren varios embriones.[12]

Para la transferencia de embrión único, el mayor reto sigue siendo la selección del embrión con el mejor potencial. Con base en las clasificaciones actuales, la selección del embrión se fundamenta en criterios morfológicos subjetivos,[13-17] pero la mala correlación entre la morfología embrionaria y el complemento cromosómico han llevado a la implementación del diagnóstico genético preimplantación para aneuploidias. Esta optimización en la evaluación de la competencia del embrión permite una mejor selección del embrión, con el potencial de viabilidad más alto.

Al utilizar las tecnologías más recientes de diagnóstico genético preimplantación de aneuploidias se ha demostrado un incremento significativo en las tasas de implantación,[18,19,20] menor tiempo para lograr el embarazo[21] y de riesgo de aborto.[22] En la actualidad, mediante la secuenciación de última generación para el análisis cromosómico del blastocisto, los estudios reportan una tasa de implantación de 64%, con una tasa de nacimiento de 62%.[20]

El objetivo de este estudio fue: evaluar los desenlaces de una estrategia combinada para fertilización in vitro: mínima estimulación ovárica, diagnóstico genético preimplantación para aneuploidias y transferencia de un solo embrión.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio de cohorte, retrospectivo, efectuado en dos centros de reproducción de México, en un periodo de tres años (junio 2014 a julio 2017). La estimulación ovárica, el cultivo a blastocisto y la preparación endometrial se llevaron a cabo de acuerdo con los protocolos descritos por nuestro grupo.[23] La estimulación se inició en los días 3 a 7 del ciclo menstrual, con 50 mg de citrato de clomifeno cada 24 horas (Serophene®, Merck, Italia), seguido de la aplicación de menotropinas (75-150 UI, Merional®, Corne, Suiza) en días alternos, empezando el segundo día de la administración del citrato de clomifeno (**Figura 1**). La inyección del disparo se indicó cuando, por lo menos, un folículo había alcanzado 18 mm con un análogo de GnRH (Triptorelina 0.5 mg, Gonapeptyl®, Ferring, Alemania) o con gonadotropina coriónica 250 µg (Ovidrel®, Merck, Italia). La captura de óvulos se efectuó 36 horas después del disparo. La inyección intracitoplasmática de espermatozoides se realizó en todos los óvulos maduros, con previa identificación del huso meiótico, y cultivo subsecuente a la etapa de blastocisto[14] para tomar la biopsia del trofoectodermo.

Biopsia de trofoectodermo y diagnóstico genético preimplantación de aneuploidias

Las pacientes recibieron asesoría genética antes de iniciar el ciclo de fertilización in vitro. Las biopsias de trofoectodermo se tomaron con las técnicas convencionales.[24] Durante los primeros 12 meses del estudio, las biopsias solo se tomaron de embriones con clasificación del trofoectodermo A y B.[25] A partir de junio 2015 y luego de una actualización de los protocolos internos para la biopsia de trofoectodermo, se tomaron las biopsias en cada uno de los embriones con masa celular interna y células del trofoectodermo, sin importar su clasificación.

Los microarreglos (aCGH) se consideraron la tecnología de elección para el análisis del diagnóstico genético preimplantación de aneuploidia de junio 2014 a julio 2015; a partir de entonces fue mediante secuenciación de nueva generación. Después de la biopsia de trofoectodermo todos los blastocistos se vitrificaron con el método CryoTop (Kitazato Biopharma, Fuji, Japón),[24]

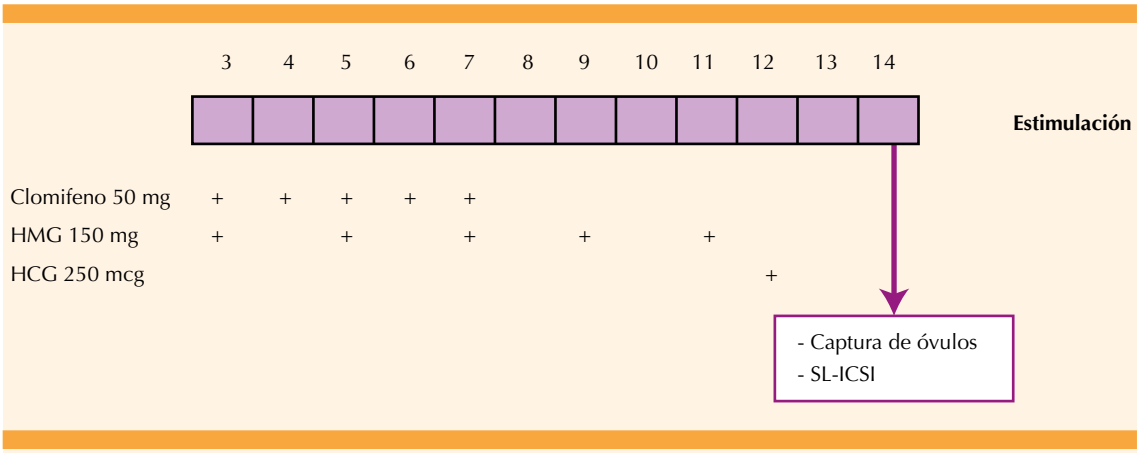


Figura 1. Protocolo de estimulación ovárica controlada.

https://doi.org/10.24245/gom.v88i8.3490

con la transferencia de un embrión euploide en un ciclo subsecuente.

Técnicas citogenéticas

Hibridación genómica comparativa basada en microarreglos. El ADN en las células se amplificó con el sistema SurePlex (Illumina). La muestra embrionaria se marcó con fluoroforos Cy3 y Cy5, según las guías del fabricante. Se llevó a cabo la mezcla e hibridación de las muestras en el microarreglo 24 sure (V2 y V3, Illumina) de 6 a 12 horas. La intensidad de la fluorescencia se detectó con un escáner de laser (Power scanner, TECAN), y los datos se procesaron con Blue Fuse Multi (v3.2, Illumini). Los resultados se interpretaron según Zegers-Hoschchild.[26]

Secuenciación de nueva generación. La amplificación del genoma se efectuó con el sistema de amplificación SurePlex (Illumina), y los códigos individuales se incorporaron a las bibliotecas. El análisis de las secuencias y la interpretación de los datos se realizaron con Ion Reporter (Life-Thermofisher, USA).

El análisis genético y la interpretación se procesaron en un laboratorio externo (Igenomix). Los desenlaces perinatales se clasificaron conforme al glosario internacional de infertilidad 2017.[26]

Transferencia embrionaria y prueba de embarazo

En todos los casos la transferencia de blastocisto único se llevó a cabo en ciclos diferidos, con protocolos de reemplazo hormonal para la preparación endometrial. Siete días después de la transferencia se hacía una determinación cuantitativa sérica de la fracción beta de hCG. Dos semanas después de la prueba de embarazo inicial se practicó un ultrasonido transvaginal. El seguimiento de los datos del embarazo y del nacimiento se hizo mediante un interrogatorio por vía telefónica.

Análisis estadístico

El tamaño de la muestra se estimó con Epiinfo (n = 103 pacientes) con un intervalo de confianza de 99% y frecuencia esperada de 95%. Para el análisis estadístico se formaron 5 grupos, según la edad de las pacientes: menores de 35 años; 35 a 37 años; 38 a 40 años; 41 a 42 años; y mayores de 42 años. Los óvulos donados se clasificaron en el grupo correspondiente, según la edad de la donadora. Se analizaron las variables numéricas y categóricas mediante estadística descriptiva. Para el análisis de los datos se utilizó el programa Statistic Package for Social Sciences (SPSS) de IBM, v. 22.

Aprobación ética

Todas las pacientes firmaron el consentimiento informado para el tratamiento de fertilización in vitro, biopsia de trofoectodermo, criopreservación y diagnóstico genético, con base en los protocolos internos del centro de reproducción y del laboratorio de referencia. El comité de ética aprobó el estudio, considerando que es un análisis retrospectivo de resultados para evaluar los protocolos de práctica actuales.

RESULTADOS

Se realizaron 175 ciclos en 125 pacientes (edad promedio: 39 ± 5 años). Se incluyeron todos los ciclos para su análisis (promedio de 1.3 ciclos por paciente). La cantidad de pacientes por grupo de edad fue: 10 menores de 35 años, 17 entre 35 a 37 años, 42 entre 38 a 40 años, 31 de 41 a 42 años, y 25 mayores de 42 años.

Se obtuvieron 903 óvulos (en promedio 5 óvulos por ciclo), de los que 91.7% fueron metafase II (MII). La tasa de fertilización fue de 86.5%.

El **Cuadro 1** muestra la cantidad de ciclos por grupo de edad y la **Figura 2** la respuesta inicial al tratamiento.

La tasa de blastocisto logrado por óvulo en metafase II fue 60.5%, mientras que 50.7% de los óvulos fertilizados alcanzaron el estadio de blastocisto. La **Figura 3** especifica el porcentaje de blastocistos obtenidos según el grupo de edad.

Se tomó biopsia para diagnóstico genético preimplantación a 404 embriones (tasa de supervivencia de 99.8%). La principal indicación del estudio fue la edad materna avanzada, seguida de falla repetida en la implantación. Las razones para el diagnóstico genético en pacientes menores de 35 años fueron: antecedente de hijo con anomalía cromosómica, selección de sexo, factor masculino, y antecedente de ciclos de fertilización in vitro fallidos. Se incluyeron 6 ciclos de donación de óvulos con diagnóstico genético preimplantación por solicitud de la paciente, después de la asesoría genética.

Se analizaron 76 embriones con hibridación genómica comparativa basada en microarreglos y 328 con secuenciación de nueva generación. Las tasas reportadas de euploidia fueron 25 y 35% para hibridación genómica comparativa basada en microarreglos y secuenciación de nueva generación, respectivamente. Se obtuvieron reportes genéticos en 93.7% de los embriones con biopsia. Ninguno de los embriones analizados con hibridación genómica comparativa basada en microarreglos tuvo falla en la amplificación

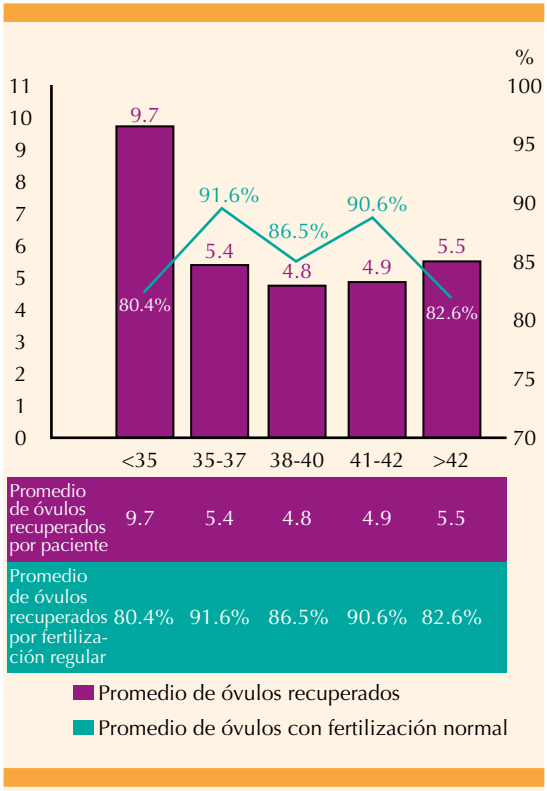


Figura 2. Desenlaces iniciales de los ciclos con mínima estimulación por grupo de edad.

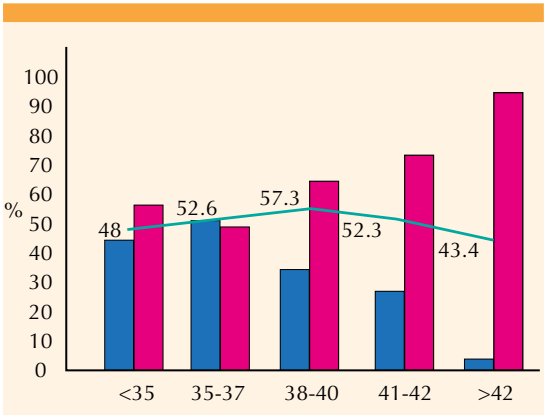
del ADN, mientras que en 7.3% de los embriones analizados por secuenciación de nueva generación no se logró la amplificación. La **Figura 3** muestra los desenlaces para el estudio genético y el porcentaje de embriones en día 5, según la edad materna.

La tasa general de euploidia fue de 33%. Si se excluía a las pacientes mayores de 42 años,

Cuadro 1. Cantidad de ciclos realizados y resultados por grupo de edad

Edad (años)	<35	35-37	38-40	41-42	>42
Número de ciclos	22	32	52	44	25
Número de ovocitos recuperados	193	119	247	216	128
Promedio de ovocitos recuperados por ciclo	9.7 (± 1.8)	5.4 (± 2.3)	4.8 (± 2.5)	4.9 (± 2.7)	5.5 (± 2.8)
Tasa de fecundación (2PN)	80.4%	91.6%	85.9%	90.6%	82%

https://doi.org/10.24245/gom.v88i8.3490



	<35	35-37	38-40	41-42	>42
Porcentaje de euploides	42.7	51.0	37.3	28.9	5.6
Porcentaje de aneuploides	57.4	49.0	62.7	71.2	94.4
Porcentaje de blastocistos obtenidos de óvulos inyectados	48.0	52.6	57.3	52.3	43.4

Figura 3. Porcentaje de blastos y embriones euploides por grupo de edad.

este porcentaje se incrementaba a 39.9%. Se observaron aneuploidias segmentarias aisladas en 16 embriones (4%). Las alteraciones cromosómicas numéricas y aneuploidias segmentarias se observaron en 17 embriones (4.2%).

En total, se obtuvieron 133 embriones euploides. Se efectuaron 69 transferencias de embrión único, con una tasa de embarazo por transferencia de 71% (**Cuadro 2**). En cuatro casos (8.1%) no se duplicaron las concentraciones de fracción beta de hCG a las 48 horas y no se observó saco gestacional (embarazo bioquímico). Se reportaron tres abortos de primer trimestre (6.1%), dos de ellos tuvieron diagnóstico genético del producto de aborto por secuenciación de nueva generación: caso 1, 46,XY. Caso 2, se transfirió un embrión masculino euploide pero el resultado del análisis de los marcadores polimórficos determinó que la muestra analizada era de origen materno (46XX). No se estableció el diagnóstico genético en el producto del tercer aborto.

Cuadro 2. Desenlaces de las transferencias de embriones euploides

Número de transferencias	69
Número de pruebas de hCG positivas	49 (71%)
Embarazo bioquímico	4 (8.1%)
Tasa de embarazo clínico por embrión transferido	45 (65.2%)
Aborto espontáneo	3 (6.1%)
Tasa de nacidos vivos	42 (60.8%)

La tasa de nacimiento por transferencia fue de 60.8% (n = 42). Se reportó restricción del crecimiento intrauterino en 2 casos. El peso promedio al nacimiento fue 2880 ± 120 gramos.

DISCUSIÓN

En este estudio se evaluaron los desenlaces de una estrategia combinada de fertilización in vitro: mínima estimulación, diagnóstico genético preimplantación y transferencia de embrión único. Los desenlaces de las tasas de fertilización, de blastocisto por óvulo fecundado, de embarazo clínico y de nacimiento, se encontraron por arriba de los límites de referencia reportados en la bibliografía.[11, 20, 21] No se describió la tasa de nacimientos por ciclo iniciado porque no se ha transferido la totalidad de los embriones. El cambio observado en estos desenlaces obliga a replantear los esquemas clásicos de estimulación, la selección embrionaria y las políticas de transferencia embrionaria.

En los ciclos de estimulación convencional se espera obtener, un promedio, de 4 embriones en día 5 por ciclo (de un promedio de 10 óvulos capturados por ciclo), lo que significa una tasa de embrión en día 5 por cada metafase II de 40%[12] y, por lo tanto, menor tasa de blastocistos por cada ciclo iniciado.[20,21] En comparación, nuestro estudio reportó una tasa de blastocisto por metafase II de 60.5%, mayor que la tasa calculada en los estudios revisados,[20, 21, 27] lo que podría estar rela-

cionado con ovocitos de mejor calidad logrados en un ciclo con estimulación mínima.[4,28]

Con base en estos desenlaces, los protocolos de mínima estimulación en condiciones óptimas de laboratorio se muestran como una opción eficiente para los tratamientos de fertilización in vitro porque disminuyen los riesgos de síndrome de hiperestimulación ovárica y de embarazo múltiple, mientras se mantienen tasas altas de blastocistos generados y de nacimiento.[4, 5,25,28,29] Cuando se considera la cantidad potencial acumulada de blastocistos puede obtenerse una tasa acumulada de nacimientos en un ciclo específico de fertilización in vitro o, incluso, en varios ciclos de FIV durante un periodo específico, comparable con los que se obtienen mediante la estimulación convencional.[9]

El análisis genético podría ser, hasta ahora, la única herramienta objetiva de selección embrionaria que ha comprobado su capacidad para disminuir el tiempo de espera para un embarazo exitoso.[21] En nuestro estudio se encontró que 33% de los embriones eran euploides. Este porcentaje es similar al observado por Fiorentino (2014) y Rubio (2017), quienes reportaron una tasa de embriones euploides de 38.5 y 21.4%, respectivamente, en pacientes con edad similar a la de nuestras pacientes.[20,21] Como es de esperarse, la edad materna más avanzada significa mayor frecuencia de aneuploidias. Sin embargo, en pacientes menores de 35 años, 42.7% de los embriones fueron euploides. Esto pudo deberse a los indicadores en este grupo de pacientes; se ha observado que los pacientes con factor masculino severo o con antecedente de un hijo con alteración cromosómica, tienen más riesgo de alteraciones cromosómicas.[5] El porcentaje de embriones con aneuploidias es comparable con el reportado por otros autores.[30]

Nuestra tasa de embarazo clínico, mediante la transferencia de embrión único euploide, fue de 65.2%, similar a la reportada por Fiorentino[20] y Friedenthal[30] y superior a la referida por Rubio.[21] La transferencia de embrión único ha demostrado una disminución significativa de la tasa de embarazos múltiples sin afectar las tasas generales de éxito,[8] lo que ha obligado a las asociaciones médicas a recomendar la transferencia de un solo embrión. A partir de 2017 la American Society for Reproductive Medicine and Assisted Reproductive Technology (ASRM) recomendó la transferencia de embrión único como primera elección en mujeres menores de 38 años y en pacientes con embriones euploides.[2]

Fortalezas y debilidades del estudio: la fortaleza de este estudio estriba en que trata un tema con una cohorte relativamente rara en la práctica actual de la fertilización in vitro en México. Muy pocas clínicas aplican este protocolo combinado junto con la congelación electiva; por lo tanto, estos hallazgos podrían otorgar información útil para mejorar los desenlaces clínicos en ciclos de fertilización in vitro con mínima estimulación. En cuanto a las limitaciones del estudio, la muestra fue pequeña y la tecnología de secuenciación de nueva generación no detectaba mosaicismo. Otra limitante concierne a la naturaleza retrospectiva del estudio. Se necesitan más estudios clínicos, a mayor escala, para validar nuestros desenlaces.

En el futuro queda dar respuesta a la pregunta ¿El grado de mosaicismo no detectado mediante la tecnología aplicada puede explicar la tasa de aborto observada en nuestro estudio?

CONCLUSIONES

Mediante la combinación de mínima estimulación, diagnóstico genético preimplantación y transferencia de embrión único puede alcanzarse una tasa de nacimiento alta. Consideramos que lo observado en estos desenlaces obliga a

https://doi.org/10.24245/gom.v88i8.3490

replantear los esquemas clásicos de estimulación, la selección embrionaria y las políticas de transferencia embrionaria.

REFERENCIAS

1. Edwards RG. IVF, IVM, natural cycle IVF, minimal stimulation IVF – time for a rethink. Reproductive BioMedicine Online 2007; 15 (1): 106-19. https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60699-2
2. Penzias A, et al. Guidance on the limits to the number of embryos to transfer: a committee opinion. Fertil Steril. 2017; 107 (4): 901-903. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.02.107.
3. ASRM Practice Committee. Comparison of pregnancy rates for poor responders using ivf with mild ovarian stimulation versus conventional IVF: A guideline. Fertil Steril. 2018; 109: 993-99. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.03.019.
4. Zhang JJ, et al. Minimal stimulation IVF vs conventional IVF: A randomized controlled trial. Am J Obstet Gynecol. 2016; 214 (1): 96.e1-96.e8. doi: 10.1016/j.ajog.2015.08.009.
5. Baart EB, et al. Milder ovarian stimulation for in-vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: A randomized controlled trial. Hum Reprod. 2007; 22 (4): 980-8. doi: 10.1093/humrep/del484
6. Sullivan EA, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies (ICMART) world report: Assisted reproductive technology 2004. Hum Reprod. 2013; 28 (5): 1375-90. doi: 10.1093/humrep/dew082.
7. Forman EJ, et al. Obstetrical and neonatal outcomes from the BEST Trial: Single embryo transfer with aneuploidy screening improves outcomes after in vitro fertilization without compromising delivery rates. Am J Obstet Gynecol 2014; 210 (2): 157.e1-6. doi: 10.1016/j.ajog.2013.10.016.
8. Klitzman R. Deciding how many embryos to transfer: ongoing challenges and dilemmas. Reprod Biomed Online 2016; 3: 1-15. doi: 10.1016/j.rbms.2016.07.001.
9. Niederberger C, et al. Forty years of IVF. Fertil Steril 2018; 110 (2): 185-324.e5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.06.005.
10. Ferraretti AP, et al. Trends over 15 years in ART in Europe: an analysis of 6 million cycles†. Hum Reprod Open 2017; 2: 1-10. https://doi.org/10.1093/hropen/hox012.
11. ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of art laboratory performance indicators. Hum Reprod Open 2017; 2017: hox011. doi: 10.1093/hropen/hox017.
12. Mancuso AC, et al. Elective single embryo transfer in women less than age 38 years reduces multiple birth rates, but not live birth rates, in United States fertility clinics. Fertil Steril 2016; 106: 1107-14. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.06.017.
13. Ebner T, et al. Selection based on morphological assessment of oocytes and embryos at different stages of preimplantation development: a review. Hum Reprod Update 2003; 9: 251-62. doi:10.1093/humupd/dmg021
14. Gardner DK, et al. Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rates and reduces the need for multiple embryo transfers. Fertil Steril. 1998; 69 (1): 84-8. doi:10.1016/s0015-0282(97)00438-x.
15. Rhenman A, et al. Which set of embryo variables is most predictive for live birth? A prospective study in 6252 single embryo transfers to construct an embryo score for the ranking and selection of embryos. Hum Reprod. 2015; 30 (1): 28-36. doi:10.1093/humrep/deu295.
16. Alfarawati S, et al. The relationship between blastocyst morphology, chromosomal abnormality, and embryo gender. Fertil Steril. 2011; 95 (2): 520-4. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.04.003.
17. Chamayou S, et al. The use of morphokinetic parameters to select all embryos with full capacity to implant. J Assist Reprod Genet. 2013; 30 (5): 703-10. doi: 10.1007/s10815-013-9992-2.
18. Scott RT, et al. Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: A randomized and paired clinical trial. Fertil Steril. 2013; 100 (3): 624-30. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.04.039.
19. Tan Y, et al. Clinical outcome of preimplantation genetic diagnosis and screening using next generation sequencing. Gigascience. 2014; 3 (1): 30. doi: 10.1186/2047-217X-3-30.
20. Fiorentino F, et al. Application of next-generation sequencing technology for comprehensive aneuploidy screening of blastocysts in clinical preimplantation genetic screening cycles. Hum Reprod. 2014; 29 (12): 2802-13. doi: 10.1093/humrep/deu277.
21. Rubio C, et al. In vitro fertilization with preimplantation genetic diagnosis for aneuploidies in advanced maternal age: a randomized, controlled study. Fertil Steril. 2017; 107 (5): 1-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.03.011.
22. Mastenbroek S, Repping S. Preimplantation genetic screening: Back to the future. Hum Reprod. 2014; 29 (9): 1846-50. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.03.011
23. López-Rioja MJ, et al. Estudio genético preimplantación para aneuploidias: resultados de la transición entre diferentes tecnologías. Ginecol Obstet Mex. 2018; 86 (2): 96-107. https://doi.org/10.24245/gom.v86i2.1634
24. Kuwayama M. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: The Cryotop method. Theriogenology. 2007; 67 (1): 73-80. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.09.014
25. Hardarson T, et al. The blastocyst. Hum Reprod. 2012;27 Suppl 1: i72-91. doi: 10.1093/humrep/des230.
26. Zegers-Hochschild F, et al. The international glossary on infertility and fertility care, 2017. Hum Reprod. 2017; 32 (9): 1786-801. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.06.005.

27. Sunkara SK, et al. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: An analysis of 400 135 treatment cycles. Hum Reprod. 2011; 26 (7): 1768-74. doi: 10.1093/humrep/der106.
28. Zhang J, et al. Minimal ovarian stimulation (mini-IVF) for IVF utilizing vitrification and cryopreserved embryo transfer. Reprod Biomed Online. 2010; 21 (4): 485-95. doi: 10.1016/j.rbmo.2010.06.033.
29. Teramoto S, Kato O. Minimal ovarian stimulation with clomiphene citrate: a large-scale retrospective study. Reprod Biomed Online 2007; 15: 134-48. https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60701-8
30. Friedenthal J, et al. 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): 627-32. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.12.017.

CITACIÓN ACTUAL

De acuerdo con las principales bases de datos y repositorios internacionales, la nueva forma de citación para publicaciones periódicas, digitales (revistas en línea), libros o cualquier tipo de referencia que incluya número doi (por sus siglas en inglés: Digital Object Identifier) será de la siguiente forma:

REFERENCIAS

1. Katarina V, Gordana T. Oxidative stress and neuroinflammation should be both considered in the occurrence of fatigue and depression in multiple sclerosis. Acta Neurol Belg. 2018;34(7):663-9. doi: 10.1007/s13760-018-1015-8.
2. Yang M, et al. A comparative study of three different forecasting methods for trial of labor after cesarean section. J Obstet Gynaecol Res. 2017;25(11):239-42. doi: https://doi.org/10.1016/j.gyobfe.2015.04.015.

https://doi.org/10.24245/gom.v88i8.3490