Artículo original
Ginecol Obstet Mex. 2020 junio;88(6):363-371.

Diagnóstico genético preimplantacional no invasivo; datos preliminares en México

Non-invasive preimplantation genetic diagnosis; preliminary data in Mexico.

Gerardo Barroso-Villa,[1,2] María Eugenia Pöo-Lanillo,[3] Carlos Valdespin-Fierro,[2,4] Lucía Daniela García-Montes,[4] Ana Paula Machargo-Gordillo,[4] Rosaura Ávila-Lombardo[5]

Resumen

OBJETIVO: Analizar las tasas de concordancia, falsos positivos y negativos entre el ADN embrionario circulante en medio de cultivo y su relación con los reportes de la biopsia de trofoectodermo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio observacional, prospectivo y comparativo, llevado a cabo en el Centro de Reproducción Arcos Nascere en noviembre 2018. Criterios: de inclusión: parejas en esquema de fertilización *in vitro*, con diagnóstico genético preimplantacional de aneuploidias. Criterios de exclusión: pacientes con anomalías estructurales o enfermedades monogénicas. Criterio de eliminación: blastocistos con eclosión asistida. Variables de respuesta: tasa de concordancia, falsos positivos y negativos entre las biopsias de trofoectodermo y los medios de cultivo. El análisis estadístico se realizó con SPSS 25.0, con pruebas t de Student y χ^2 con valor de $p < 0.05$ significativa.

RESULTADOS: Se analizaron 20 blastocistos de 5 parejas y se obtuvieron resultados informativos de 17 (amplificación global exitosa); 70% en día 5 y 100% en día 6. La tasa general de concordancia entre las biopsias de trofoectodermo y los medios de cultivo fue de 68.7% (42.8% en día 5 y 88.8% en día 6). En cuanto a las discrepancias, solo se observaron 2 falsos negativos en los medios de cultivo *vs* la biopsia de trofoectodermo (14.2% en día 5 y 11.11% en día 6); hubo 3 casos de falsos positivos (la mitad en día 5 y ninguno en día 6-7).

CONCLUSIONES: Con la prueba genética no invasiva de aneuploidias se alcanzaron altas tasas de concordancia, sobre todo en embriones en día 6.

PALABRAS CLAVE: Diagnóstico preimplantacional; medio de cultivo; aneuploidias; fertilización *in vitro*; biopsias; blastocisto.

Abstract

OBJECTIVE: Analyze the concordance, false positive and false negative rates between circulating free DNA of the culture media compared to the results of the trophectoderm biopsy.

MATERIALS AND METHODS: Observational, prospective and comparative study, conducted at Arcos Reproduction Center S.C. *Nascere* in november 2018. Couples with indication of preimplantation genetic diagnosis of aneuploidies undergoing *In vitro* Fertilization were included; carriers of structural anomalies or monogenic diseases were excluded and blastocysts with assisted hatching were eliminated. The response variables were the concordance, false positives and false negatives rates between trophoctoctoderm biopsies and culture media. Statistical analysis was performed with SPSS 25.0, using t-Student and chi-square tests with a value of $p < 0.05$ significant.

RESULTS: Informative results were obtained in 17 of the 20 culture media (85% successful global amplification); 70% on day 5 and 100% on day 6. The general concordance rate between trophectoderm biopsies and culture media was 68.7% (42.8% on day 5 and 88.8% on day 6). Regarding discrepancies, only 2 false negatives were observed in the culture media compared to the trophectoderm biopsy (14.2% on day 5 and 11.1% on day 6). There were 3 cases false positives (42.8% on day 5 and 0% on day 6).

Artículo ganador del tercer lugar del concurso "Víctor Espinosa de los Reyes Sánchez" Investigación Básica, celebrado en el 69 Congreso Mexicano de Obstetricia y Ginecología.

[1] Director científico, Centro de Reproducción Arcos, NASCERE, Ciudad de México.
[2] Adscrito al Departamento de Ginecología y Obstetricia, Centro Médico ABC, The American and British Cowdray, Ciudad de México.
[3] Directora del Laboratorio de Embriología, IGENOMIX, Ciudad de México.
[4] Adscrito a la División de Salud Reproductiva, Centro de Reproducción Arcos, NASCERE, Ciudad de México.
[5] Directora del Laboratorio de fertilización in vitro, Centro de Reproducción Arcos, NASCERE, Ciudad de México.

Recibido: diciembre 2019

Aceptado: marzo 2020

Correspondencia
Gerardo Barroso Villa
barrosog@me.com

Este artículo debe citarse como
Barroso-Villa G, Pöo-Lanillo ME, Valdespin-Fierro C, García-Montes LD, Machargo-Gordillo AP, Ávila-Lombardo R. Diagnóstico genético preimplantacional no invasivo; datos preliminares en México. Ginecol Obstet Mex. 2020 junio;88(6):363-371.
https://doi.org/10.24245/gom.v88i6.3867

CONCLUSIONS: High rates of concordance were reached with the non-invasive genetic aneuploidy test, mainly in embryos on day 6.

KEYWORDS: Preimplantation Diagnosis; Culture Media; Aneuploidies; Fertilization *in vitro*; Biopsies; Blastocyst.

ANTECEDENTES

La frecuencia de aneuploidias en embriones humanos varía de 20 a 80%,[1,2] es la más alta en comparación con cualquier otra especie. La identificación de anomalías cromosómicas es especialmente importante en embriones de pacientes con mayor riesgo de aneuploidia: edad materna avanzada, fallo de implantación o pérdida gestacional recurrente.[3] Por lo tanto, el análisis cromosómico del blastocisto es un factor con influencia para determinar si un embrión culminará en un recién nacido sano en casa.

Las técnicas de diagnóstico genético preimplantacional que evalúan aneuploidias, analizan el contenido cromosómico completo de una o varias células con alta sensibilidad y especificidad.[4] La muestra de partida se obtiene mediante una biopsia e implica mayor costo económico y un procedimiento invasivo para el embrión, por lo que un enfoque más económico y no invasivo resultaría más benéfico para todas las partes involucradas.

Existen avances recientes en este campo, el ADN circulante embrionario se ha identificado en medios de cultivo, su origen en la etapa de blastocisto podría atribuirse a la apoptosis que ocurre durante el desarrollo normal.[5] Inicialmente se efectuaron algunos estudios dirigidos a detectar genes específicos, algunos de ellos relacionados con enfermedades monogénicas (MTHFR9, HBA1/HBA210, SRY11). Posteriormente, se llevaron a cabo las pruebas genéticas no invasivas de aneuploidias, con resultados altamente variables en la tasa de concordancia.[6-9] En este caso, cada patrón cromosómico observado en los medios de cultivo se comparó con el protocolo estándar de análisis de las células de trofoectodermo obtenidas durante la biopsia del embrión en día 5-6 de desarrollo. Sin embargo, la diferencia en los resultados puede relacionarse con las diferentes metodologías de amplificación y detección aplicadas. Además, las tasas de concordancia se definieron de manera diferente en cada estudio; es decir, los resultados aneuploides en los medios de cultivo embrionario y la biopsia de trofoectodermo podrían considerarse concordantes, a pesar de no mostrar los mismos cromosomas aneuploides.

La repercusión de las condiciones de cultivo en la eficacia del enfoque no invasivo la investigaron Hammond y colaboradores.[5] Este grupo encontró un nivel muy bajo de contaminación de ADN (mitocondrial y nuclear) en los medios de control de tres tipos diferentes de medios comerciales, que no habían estado en contacto con los embriones. Se cree que el bajo nivel basal de contaminación del ADN es consecuencia del suplemento proteico de los medios de cultivo.

El objetivo de este estudio fue: analizar las tasas de concordancia, falsos positivos y negativos entre el ADN embrionario circulante en medio

https://doi.org/10.24245/gom.v88i6.3867

de cultivo y su relación con los reportes de la biopsia de trofoectodermo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio observacional, prospectivo y comparativo, llevado a cabo en el Centro de Reproducción Arcos Nascere en noviembre 2018. Criterio de inclusión: parejas en esquema de fertilización in vitro, con diagnóstico genético preimplantacional de aneuploidias. Criterios de exclusión: pacientes con anomalías estructurales o enfermedades monogénicas. Criterio de eliminación: blastocistos con eclosión asistida. A todos los casos se tomó biopsia de trofoectodermo y los reportes se compararon con un análisis doble ciego con el resultado de ADN circulante liberado por el mismo embrión en el medio de cultivo.

La biopsia del trofoectodermo se efectuó el día 5 o 6 según el desarrollo morfológico del embrión, y la muestra de cultivo embrionario se recolectó inmediatamente después de transferir el embrión a la placa de la biopsia. Después de la recolección de la muestra de cultivo embrionario, las muestras se almacenaron en congelación a -7 °C antes de enviarlas al laboratorio de genética. Los resultados de secuenciación de próxima generación se analizaron con un algoritmo patentado por Igenomix para identificar aneuploidias de cromosomas completos y aneuploidias segmentarias (del/dup> 15 Mb). Este algoritmo fue diseñado con ADNg de líneas celulares (*Coriell Institute, NJ, EUA*) con aneuploidias conocidas (trisomías 2, 9, 13, 15, 18, 20, 21 y 22). Después de secuenciar las muestras, los umbrales se calcularon con los datos sin procesar. Para este estudio, los umbrales fueron menos de 50% de ADN aneuploide para la euploidia y más menos 50% de ADN aneuploide para la aneuploidia.

Las tasas de éxito de amplificación de ADN (muestras amplificadas con éxito-muestras analizadas totales) se estimaron individualmente para biopsias de trofoectodermo y muestras de ADN circulante embrionario. El porcentaje de falsos positivos se estimó considerando la cantidad de biopsias de trofoectodermo euploides con muestras de cultivo embrionario aneuploide con respecto a los resultados informativos totales para ambos tipos de muestras. Los falsos negativos se calcularon con base en la cantidad de biopsias de trofoectodermo aneuploide con medio de cultivo embrionario euploide con respecto a los resultados informativos totales para ambos tipos de muestras. Para la concordancia cromosómica individual se excluyeron los embriones caóticos (≥ 6 aneuploidias), porque la baja cantidad o calidad de ADN también puede dar lugar a este tipo de perfiles.

La estimulación ovárica controlada y la inducción de la ovulación se llevaron a cabo conforme a la práctica clínica habitual. La recuperación de ovocitos se efectuó con guía vaginal por ultrasonido. Horas después de la captura se denudaron las células del cúmulo antes de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides. Inmediatamente después, los ovocitos se lavaron en 0.6 mL de medio de manipulación multipropósito con albúmina de suero humano al 5% y, finalmente, se transfirieron a gotas individuales de 30 µL de medio de cultivo único continuo preequilibrado (*CSCM; Irvine Scientific*) en aceite mineral (*Irvine Scientific*). El cultivo de embriones individuales se realizó en una atmósfera humidificada controlada que contenía 5% de oxígeno y 6% de CO_2. El día 4, cada embrión o mórula compactada se lavó a fondo en tres gotas secuenciales de 20 µL de medio de cultivo único continuo preequilibrado (*CSCM; Irvine Scientific)* y, finalmente, se trasladó a una gota individual de 10 µL. Para cada paciente se incluyó una muestra de control negativo de medios que siguieron el mismo protocolo, pero sin estar en contacto con el embrión. Los embriones que alcanzaron la etapa de blastocisto

completamente expandido en el día 5 o 6 de desarrollo embrionario se trasladaron a una placa de biopsia y las muestras de medio de cultivo embrionario se recolectaron en tubos de reacción en cadena de la polimerasa mantenidos en hielo. El medio de cultivo embrionario correspondió a medios de cultivo acondicionado recolectados después de un solo día en cultivo (día 4 al día 5) o dos días en cultivo (día 4 al día 6). Se tomó biopsia de los blastocistos en su lugar mediante un método que implica la apertura simultánea de la zona pelúcida y la recuperación de fragmentos de la biopsia de trofoectodermo (**Figura 1**). No se realizó eclosión asistida, y a todos los embriones que alcanzaron la etapa de blastocisto completamente expandido se les tomó biopsia, independientemente de su calidad morfológica y día de desarrollo.

La comparación de los valores cuantitativos para los resultados de secuenciación de próxima generación de biopsias de trofoectodermo y medio de cultivo embrionario se efectuó con pruebas t de Student de muestra independiente, con un valor de $p < 0.05$ obtenido para una prueba de dos colas considerada estadísticamente significativa. Con la prueba Shapiro-Wilk se confirmó una distribución normal y con la prueba de Levene para la igualdad de varianzas la homocedasticidad; por esta razón se eligió una prueba paramétrica. Para comparar datos categóricos se realizaron pruebas de χ^2 y se aplicaron pruebas exactas no paramétricas de Fisher en casos de bajo número. La $p < .05$ se consideró estadísticamente significativa. Estos análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS 25.0 (IBM).

Esta investigación fue aprobada por el Comité de Investigación de The American British Cowdray Medical Center, I.A.P., con el código IGX1-NIP-CS-18-02-SUB1.

RESULTADOS

Se analizaron 20 blastocistos de 5 parejas y se obtuvieron resultados informativos en 17 (amplificación global exitosa); 70% en día 5 y el 100% en día 6. La tasa de amplificación global fue de 85% (17 de los 20 medios de cultivo analizados), en día 5 fue de 70% en comparación con el día 6 de desarrollo, en donde la tasa de amplificación fue de 100% de los medios de cultivo analizados. **Cuadro 1**

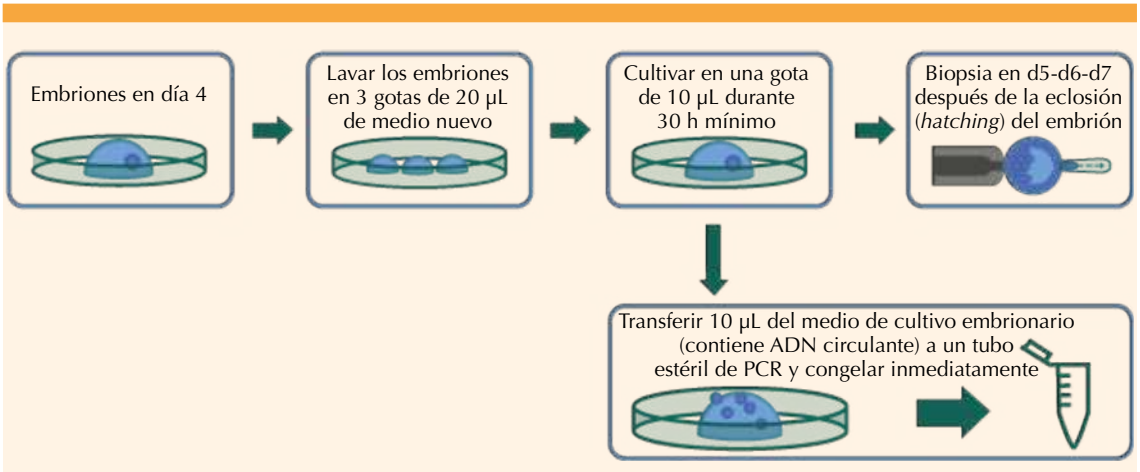


Figura 1. Ejemplificación del procedimiento para el diagnóstico genético preimplantacional no invasivo.

https://doi.org/10.24245/gom.v88i6.3867

Cuadro 1. Comparación de resultados en día 5 y día 6 entre biopsia de trofoectodermo y medio de cultivo

	Resultados (%)	Día 5	Día 6	Total
Resultado informativo	Medio de cultivo	70.0 (7/10)	100.0 (10/10)	85 (17/20)
	Biopsia de trofoectodermo	100.0 (10/10)	90.0 (9/10)	95.0 (19/20)
Concordancia embrionaria	Concordancia entre biopsia de trofoectodermo con medio de cultivo	42.8 (3/7)	88.8 (8/9)	68.7 (11/16)
Discordancia embrionaria	Falsos positivos	42.8 (3/7)	0 (0/9)	18.7 (3/16)
	Falsos negativos	14.2 (1/7)	11.11 (1/9)	12.5 (2/16)
	Cantidad de muestras	10	10	20

Las biopsias de trofoectodermo mostraron tasas similares de amplificación, independientemente del día en el que se tomó la biopsia y las horas de exposición al medio de cultivo. Por el contrario, la tasa de amplificación del medio de cultivo embrionario aumentó significativamente cuando se practicó en el día 6 de desarrollo embrionario en comparación con la recolección de muestras en día 5 (p=.0004). La tasa general de concordancia entre las biopsias de trofoectodermo y los medios de cultivo, en términos de diagnóstico, fue de 68.7%: 42.8% para el día 5 y 88.8% para los blastocistos del día 6 (**Figura 2**). Los resultados generales de concordancia para el día 6 fueron significativamente diferentes en comparación con el día 5. En cuanto a las discrepancias, sólo se observaron 3 falsos negativos en los medios de cultivo en comparación con la biopsia de trofoectodermo (tasa de falsos negativos de 14.2% para el día 5 y 11.1% para los blastocistos del día 6) (**Cuadro 1**) sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ambos casos (**Figura 3**). Quizá los dos casos fueron el resultado de la contaminación con ADN materno porque en los dos casos solo se observó un cromosoma aneuploide. Por último, se reportaron 3 falsos positivos: 42.8% para el día 5 y 0% para los embriones del día 6. **Figura 4**

DISCUSIÓN

Este es el primer estudio en México que demuestra la consistencia de las pruebas de aneuploidia con un enfoque no invasivo en comparación con la biopsia de trofoectodermo, avanzando un paso hacia la comprensión del valor clínico agregado de las pruebas genéticas no invasivas de aneuploidias. Con la incorporación de un enfoque no invasivo, nuestro objetivo fue considerar las dos limitaciones principales del análisis de aneuploidias a través del diagnóstico genético preimplantacional actual: *i)* la invasividad y *ii)* el costo-beneficio porque al no utilizar material adicional para la toma de una biopsia se disminuye el costo del procedimiento.

La concordancia entre el diagnóstico genético preimplantacional de aneuploidias y la prueba genética no invasiva de aneuploidias ya la reportaron otros grupos, pero con una variación notable.[6-10] Sin embargo, estos estudios analizaron el ADN circulante embrionario desde el día 3 hasta el día 5[6,7,8,10] o, incluso, desde el día 1.[9] La cantidad de embriones analizados en nuestro estudio fue de 20; además, en nuestro caso, programamos la recolección de medios de cultivo embrionario cultivados en condiciones específicas del día 4 al día 5, y del día 4 al día 6. Nuestro enfoque fue completamente no invasivo porque no se realizó una eclosión asistida o una vitrificación de espermatozoides, óvulos o embriones antes de la biopsia del trofoectodermo en comparación con otros estudios.[6-10] A pesar de estas diferencias, nuestra tasa de am-

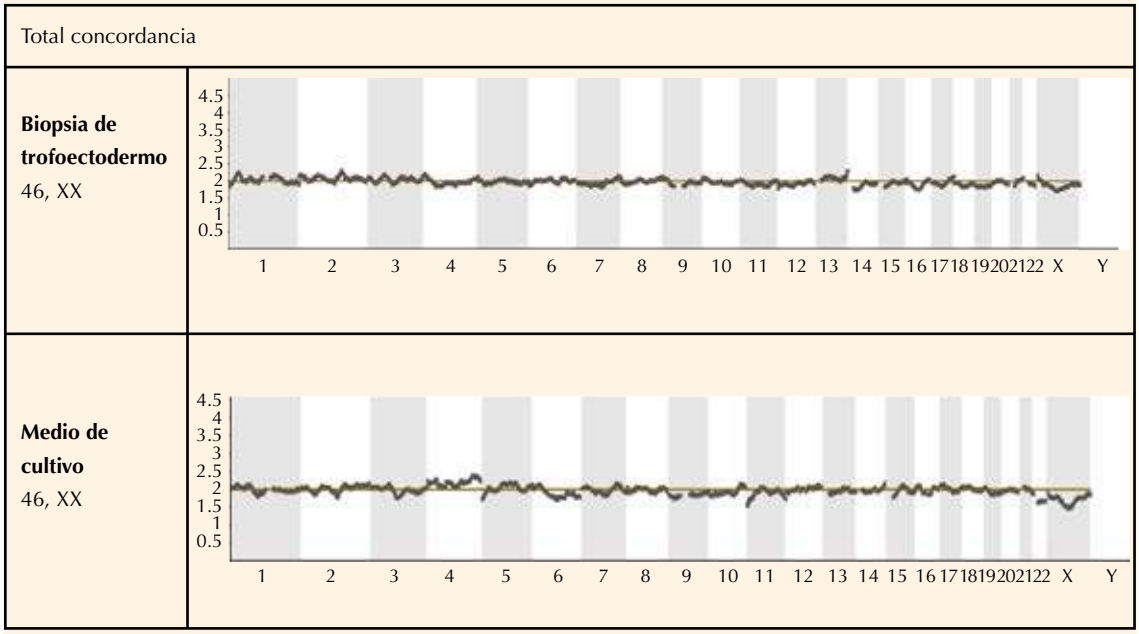


Figura 2. Embrión euploide cromosómicamente normal de sexo femenino en el que se obtuvo una concordancia total en la biopsia de trofoectodermo y muestra de ADN circulante embrionario.

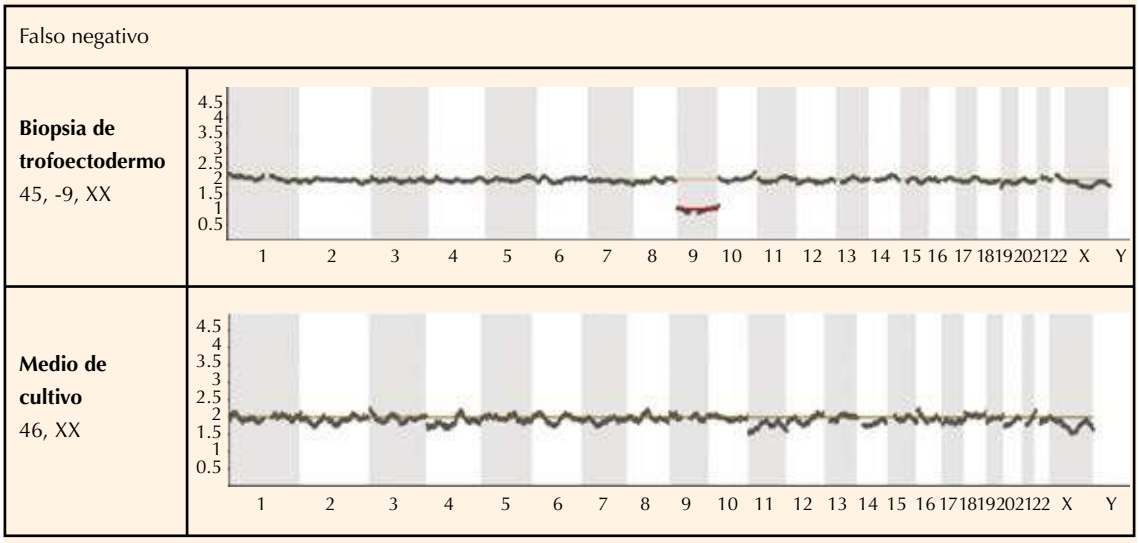


Figura 3. Embrión aneuploide cromosómicamente anormal, de sexo femenino, diagnosticado por biopsia de trofoectodermo que muestra un falso negativo en muestra de ADN circulante embrionario con un resultado 46 XX.

https://doi.org/10.24245/gom.v88i6.3867

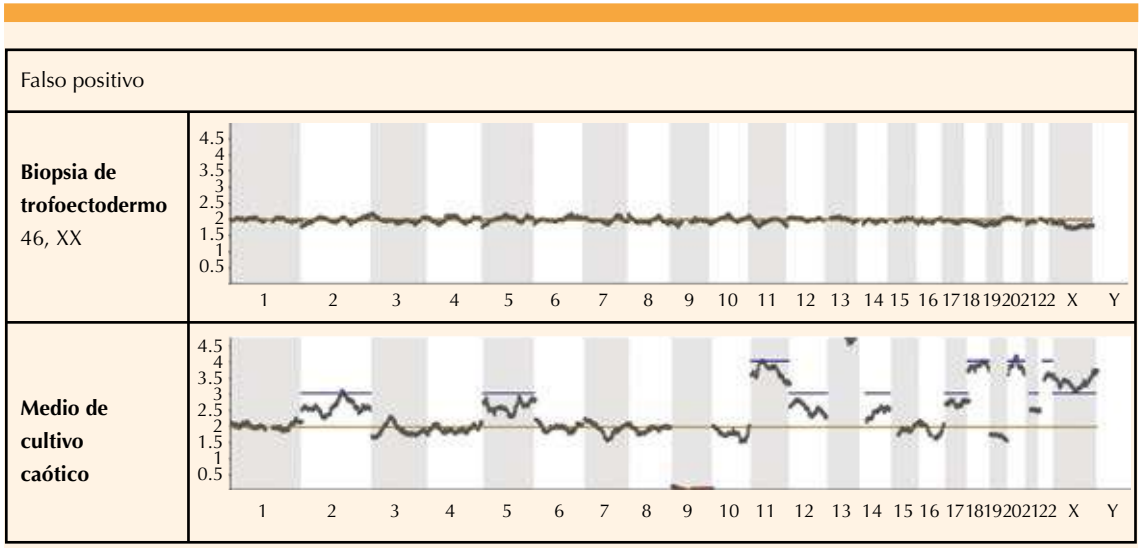


Figura 4. Embrión euploide cromosómicamente normal, de sexo femenino, diagnosticado por biopsia de trofoectodermo que muestra un falso positivo en muestra de ADN circulante embrionario con un resultado caótico.

plificación global fue de 85% y alcanzó 100% en el medio de cultivo embrionario cuando los embriones se cultivaron 48 horas o más desde el día 4 en adelante. La tasa general de concordancia entre las biopsias de trofoectodermo y los medios de cultivo fue de 68.7% (42.8% para el día 5 y 88.8% para los blastocistos del día 6). Esta diferencia sugiere que 24 horas de exposición adicional al medio pueden conducir a mayor concentración de ADN expulsado y, por lo mismo, a mejores resultados.[11,12] A pesar de los diferentes criterios utilizados para definir las tasas de concordancia en otros estudios se alcanzó un alto nivel de concordancia sin intervención previa. Solo Xu *y* su grupo[8] tuvieron tasas de concordancia más altas (85.7%) pero ellos utilizaron procesos de vitrificación y calentamiento antes de tomar la biopsia, lo que podría propiciar la liberación de ADN circulante.

Cuando se analizaron las discordancias, 18.7% fueron falsos positivos y 12.5% falsos negativos. Esos valores fueron aún mejores cuando se considera en el día 6 la muestra de cultivo embrionario (con una media de 50.8 horas en cultivo desde el día 4) con 0% de falsos positivos y 11.11% de falsos negativos.

Se estudió la repercusión potencial de la calidad del embrión, la edad de la madre y la calidad de los espermatozoides, y no se observó ninguna influencia como lo sugieren otros estudios.[13,14] Con respecto a la metodología desarrollada para nuestro enfoque, el pequeño volumen de medio utilizado para cultivar los embriones (10 µL) fue una preocupación inicial. Minasi[15] reportó que un volumen reducido de medio no es perjudicial para el embrión, sino que en realidad mejora su desarrollo a blastocisto. Se cree que esto es una respuesta al aumento de factores autocrinos liberados por los embriones previos a la implantación.

En este estudio se aporta evidencia de que las modificaciones de las condiciones de cultivo, la manipulación de embriones y el protocolo de secuenciación de próxima generación pueden mejorar la tasa de amplificación y las

tasas de concordancia y disminuir el efecto de las células de la granulosa en la precisión del diagnóstico. Este fue un estudio prospectivo que probó un nuevo enfoque con diferentes horas de cultivo de embriones en la gota de 10 µL para explorar el tiempo óptimo en cultivo. Se observaron mejores resultados con el tiempo de cultivo desde el día 4 hasta el día 6 en comparación con el tiempo más corto en el medio de cultivo.

Desde antes se han aplicado diferentes metodologías para la amplificación del genoma completo (de sus siglas en inglés WGA "*Whole genome amplification*").[16] Varios autores utilizaron un solo paso WGA,[6-10] mientras que Vera-Rodríguez y su grupo[6] realizaron una doble amplificación. Además, la hibridación genómica comparativa de la matriz fue la tecnología aplicada en algunos estudios,[9,10] mientras que la secuenciación de próxima generación se ha aplicado en las últimas publicaciones.[6,7,8]

En este estudio, y en gran parte de los previos, el análisis de muestras de medio de cultivo, falsos negativos y falsos positivos se determinó comparándolos con la biopsia del trofoectodermo, como el criterio estándar. De hecho, las biopsias de trofoectodermo son, seguramente, representativas de errores meióticos. Sin embargo, para la detección de errores mitóticos y la comprensión del mosaicismo, las nuevas fuentes de ADN, como el ADN circulante embrionario que potencialmente es liberado por las células de todo el embrión, podrían proporcionar información valiosa adicional y ayudar a dilucidar la repercusión real del mosaicismo en la clínica.

CONCLUSIONES

Se alcanzaron altas tasas de concordancia con la prueba genética no invasiva de aneuploidias, sobre todo en embriones del día 6. La mayor incidencia de fallas de amplificación y falsos positivos se reportó con análisis de embriones biopsiados en el día 5 de desarrollo embrionario, lo que sugiere que la baja concentración de ADN embrionario en los medios de cultivo se debe a un tiempo limitado de exposición de los embriones al medio de cultivo. Lo aquí expuesto ofrece una herramienta diagnóstica no invasiva en la evaluación genética del embrión en etapa tardía y su potencial de implantación.

Los resultados informativos (muestras amplificadas con éxito-muestras analizadas totales) se estimaron individualmente para biopsias de trofoectodermo y muestras de ADN circulante embrionario. La concordancia embrionaria se determinó por la cantidad de muestras con resultado coalescente entre biopsia de trofoectodermo con medio de cultivo embrionario con respecto a los resultados informativos. El porcentaje de falsos positivos se estimó considerando el número de biopsias de trofoectodermo euploides con muestras de cultivo embrionario aneuploide con respecto a los resultados informativos. Los falsos negativos se calcularon considerando la cantidad de biopsias de trofoectodermo aneuploide con medio de cultivo embrionario euploide con respecto a los resultados informativos.

REFERENCIAS

1. Vera-Rodriguez M, et al. Prediction model for aneuploidy in early human embryo development revealed by single-cell analysis. Nat. Commun 2015; 6: 7601. doi: 10.1038/ncomms8601
2. Hassold T & Hunt P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. Nat. Rev. Genet 2001; 2 (4): 280-91. doi: 10.1038/35066065
3. Rubio C, et al. Use of array comparative genomic hybridization (array-CGH) for embryo assessment: clinical results. Fertility and Sterility 2013; 99 (4): 1044-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.01.094
4. Fiorentino F, et al. Development and validation of a next-generation sequencing-based protocol for 24-chromosome aneuploidy screening of embryos. Fertil Steril. 2014; 101 (5): 1375-82. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.01.051
5. Hammond E, et al. Characterizing nuclear and mitochondrial DNA in spent embryo culture media: genetic

https://doi.org/10.24245/gom.v88i6.3867

contamination identified. Fertil Steril. 2017; 107 (1): 220-228. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.10.015

6. Vera-Rodriguez M, et al. Origin and composition of cell-free DNA in spent medium from human embryo culture during preimplantation development. Obstetrical & Gynecological Survey 2018; 33 (4): 745-56. doi: 10.1093/humrep/dey028.
7. Ho J, et al. Pushing the limits of detection: investigation of cell-free DNA for aneuploidy screening in embryos. Fertil Steril 2018; 110 (3): 467-475. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.03.036.
8. Xu J, et al. Noninvasive chromosome screening of human embryos by genome sequencing of embryo culture medium for in vitro fertilization. Proc Natl Acad Sci USA. 2016; 113 (42): 11907-12. doi: 10.1073/pnas.1613294113
9. Feichtinger M, et al. Noninvasive preimplantation genetic screening using array comparative genomic hybridization on spent culture media: a proof-of concept pilot study. Reprod Biomed Online 2017; 34 (6): 583-89. doi: 10.1016/j.rbmo.2017.03.015
10. Shamonki M, et al. Proof of concept: preimplantation genetic screening without embryo biopsy through analysis of cell-free DNA in spent embryo culture media. Fertil Steril 2016; 106 (6): 1312-18. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.07.1112
11. Rubio C, et al. Origin of false positives and false negatives in non-invasive preimplantation genetic testing for aneuploidies. Fertility and Sterility 2018; 110 (4): e412. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.07.1182
12. Shamonki M, et al. Proof of concept: preimplantation genetic screening without embryo biopsy through analysis of cell-free DNA in spent embryo culture media. Fertility and Sterility 2016; 106 (6): 1312-18. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.07.1112
13. Capalbo A, et al. Diagnostic efficacy of blastocoel fluid and spent media as sources of DNA for preimplantation genetic testing in standard clinical conditions. Fertil Steril 2018; 110 (5): 870-79. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.05.031
14. Stigliani S, et al. Mitochondrial DNA content in embryo culture medium is significantly associated with human embryo fragmentation. Hum Reprod. 2013; 28 (10): 2652-60. doi: 0.1093/humrep/det314
15. Minasi M, et al. Improved blastocyst formation with reduced culture volume: comparison of three different culture conditions on 1128 sibling human zygotes. J Assist Reprod Genet. 2015; 32 (2): 215-20. doi: 10.1007/s10815-014-0399-5
16. Hawkins T, et al. Whole genome amplification. Applications and advances. Current opinion in biotechnology 2002; 13: 65-7. doi: 10.1016/S0958-1669(02)00286-0

Puntaje para mantener la vigencia

El Consejo Mexicano de Ginecología y Obstetricia otorga puntos para la vigencia de la certificación a los ginecoobstetras que envíen, a la página web del Consejo, un comentario crítico de un artículo publicado en la revista Ginecología y Obstetricia de México. El comentario deberá tener mínimo 150 y máximo 500 palabras.