



Tasa de embarazo en mujeres mayores de 38 años sometidas a fertilización *in vitro* con prueba de preimplantación genética en transferencia de embrión único vs doble

Pregnancy rate in women older than 38 years submitted to *in vitro* fertilization with genetic preimplantation test in transference of single embryo vs double embryo.

Ángel Saucedo-López,¹ Gabriela García-Jiménez,² José Carlos Hernández-García,³ Salvador Espino y Sosa,⁴ Alfonso Saucedo-López,⁵ Alejandra Gómez-Fernández⁶

Resumen

OBJETIVO: Comparar la tasa de embarazo en curso en pacientes mayores de 38 años con indicación de prueba de preimplantación genética (PGS) tras transferencia de embrión único vs doble.

MATERIAL Y MÉTODO: Estudio unicéntrico retrospectivo en el que mujeres mayores de 38 años con infertilidad de la clínica IVINSEMER México fueron remitidas para PGS del 1 de mayo de 2016 al 30 de junio de 2017. Se incluyeron las mujeres que tras el/los ciclos de FIV-ICSI originaron más de un embrión con biopsia embrionaria en los días 3 o 5 utilizando la técnica PGS por Array-CGH IGENOMIX® para transferir el/los embrión(es) euploides en ciclo en fresco o congelado. Se comparó el número de embriones euploides recuperados y transferidos (transferencia de embrión único o doble), la tasa de embarazo bioquímico, la tasa de embarazo clínico, la tasa de embarazo en curso y la tasa de gestación múltiple.

RESULTADOS: La tasa de embarazo en curso por transferencia de embrión único en el día 3 fue de tres pacientes embarazadas (7.6%) en comparación con ninguna paciente cuando fueron por transferencia de embrión doble, sin diferencia estadísticamente significativa. Cuando la transferencia fue en el día 5, hubo 10 pacientes (25.6%) con embarazo en curso y por transferencia de embrión doble solo una paciente (2.5%), con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.0001$, IC95% 0.5500-1.086).

CONCLUSIÓN: La tasa de embarazo en curso por transferencia de embrión único es superior a la de embrión doble con diferencia estadísticamente significativa cuando la transferencia se realiza en el día 5.

PALABRAS CLAVE: Prueba de preimplantación genética; transferencia de embriones; fertilización *in vitro*; intracytoplasmic sperm injection; tasa de embarazo.

Abstract

OBJECTIVE: To compare the pregnancy rate in progress in patients older than 38 years with indication of genetic preimplantation test (PGS) after single (SET) vs double (DET) embryo transfer.

MATERIAL AND METHOD: A retrospective unicentric study including women ≥ 38 years with infertility in the clinic IVINSEMER Mexico referred for PGS from May 01, 2016 to June 30, 2017. There were included those who after the IVF-ICSI cycles originated > 1 embryos with embryo biopsy on day 3 or 5 using the PGS technique by Array-CGH IGENOMIX® to transfer the embryo(s) euploid in fresh or frozen cycle. We compared the number of recovered and transferred euploid embryos (SET or DET), biochemical pregnancy rate, clinical pregnancy rate, ongoing pregnancy rate and multiple gestation rate.

¹ Alta Especialidad en Infertilidad y Reproducción Asistida, Instituto Valenciano de Infertilidad (México). Adscrito al Hospital Gineco-Pediatría 3A, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México.

² Bióloga de la Reproducción, Instituto Valenciano de Infertilidad (España). Instituto Nacional de Perinatología, Ciudad de México.

³ Biólogo de la Reproducción, Hospital de Alta Especialidad Gineco-Obstetricia núm. 4, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México.

⁴ Médico materno-fetal, Subdirector de Investigación Clínica, Instituto Nacional de Perinatología, Ciudad de México.

⁵ Médico cirujano, Hospital General Regional núm. 36, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México.

⁶ Ginecoobstetra adscrito al Hospital Gineco-Pediatría 3A, Ciudad de México.

Recibido: mayo 2019.

Aceptado: septiembre 2019.

Correspondencia

Ángel Saucedo López
angelthisis@hotmail.com

Este artículo debe citarse como

Saucedo-López A, García-Jiménez G, Hernández-García JC, Espino y Sosa S y col. Tasa de embarazo en mujeres mayores de 38 años sometidas a fertilización *in vitro* con prueba de preimplantación genética en transferencia de embrión único vs doble. Reproducción (México). 2019; Vol. 10: 16 de octubre 1-9
<https://doi.org/10.24245/rmmr.v10id.3184>

RESULTS: There were included 63 patients. The ongoing pregnancy rate by SET on day 3 was 3 pregnant patients (7.6%) compared to 0 patients (0%) when they were by DET without significant statistical difference. When the transfer was on day 5, the number of ongoing pregnancy rate was 10 patients (25.6%) and by DET 1 patient (2.5%) with significant statistical difference ($p \leq 0.0001$, 95%CI 0.5500-1.086).

CONCLUSION: The ongoing pregnancy rate by SET was higher than DET with significant statistical difference when the transfer was made on day 5.

KEYWORDS: Preimplantation genetic screening; Embryo transfer; *In vitro* fertilization; Intracytoplasmic sperm injection; Pregnancy rate.

ANTECEDENTES

Las anomalías cromosómicas pueden ser el resultado de una alteración numérica cromosómica (NCA) o una alteración estructural de defecto cromosómico y pueden implicar uno o varios cromosomas autosómicos o uno de los cromosomas sexuales. Se estima que esto ocurre en 20-50% de las concepciones humanas.¹ Una alteración numérica cromosómica puede ser causada por la pérdida o ganancia selectiva de un cromosoma individual (monosomía o trisomía, respectivamente), o por la ganancia de uno o más conjuntos completos de cromosomas haploides cariotipo poliploide.^{2,3}

En 1980 Hassold y su grupo informaron que el riesgo de tener una alteración numérica cromosómica después de una pérdida espontánea de embarazo fue de 50%.⁴ Esto representa nada menos que 15-20% de todos los embarazos clínicamente reconocidos. La mayoría de los embriones aneuploides no darán lugar a una gestación a término, haciendo de la aneuploidía la principal causa de aborto, pero algunas de estas aneuploidías son compatibles con la vida, por lo que la aneuploidía es la principal causa de defectos de nacimiento y retraso mental.^{5,6}

La evidencia sugiere que la mayor parte de las aneuploidías se producen por errores durante las divisiones meióticas maternas.⁷⁻⁹

Las aneuploidías se han identificado como factor importante de fracasos del ciclo de la fertilización *in vitro* (FIV), específicamente en el fallo en la implantación y en el aborto espontáneo.¹⁰

Con el advenimiento del diagnóstico genético preimplantatorio (PGS por sus siglas en inglés de *preimplantation genetic screening*), particularmente de la realización de la biopsia del trofooctodermo y técnicas como la hibridación genómica comparativa (CGH) y cuantitativa, la reacción en cadena de la polimerasa (qPCR) basada en el diagnóstico del cribado cromosómico (CCS) han permitido a los pacientes proporcionar información importante acerca del embarazo, lo que a menudo evita la necesidad de embarazo con aneuploidías.^{11,12} Estas técnicas han permitido a los científicos analizar el número de copias en los 23 pares de cromosomas de todo el genoma y seleccionar el embrión(s) euploide(s) antes de transferirlo, mejorando significativamente las tasas de éxito del ciclo de FIV.



Hace poco Werner y su grupo analizaron la citogenética de los abortos en una población infértil y reportaron prevalencia de 76% de anormalidades cromosómicas en pacientes a quienes se les efectuó dilatación y curetaje después del tratamiento con técnicas de reproducción asistida con frecuencia de 63%.^{13,14}

En un estudio de cohorte retrospectivo en el que se analizó a pacientes a quienes se les practicó FIV con PGS, Franasiak y su grupo demostraron que de 9889 aneuploidías identificadas, 4513 fueron monosomías y 4376 fueron trisomías. Esto resultó en una relación trisomía/monosomía a razón de 0.97.¹⁵⁻¹⁷

Recientemente se publicaron resultados maternos en mujeres mayores de 50 años, mientras otros autores también han examinado el efecto del embarazo en la sexta década de la vida en los resultados maternos y fetales.¹⁸⁻²⁰

Es bien conocido que las mujeres embarazadas de avanzada edad materna tienen mayor riesgo de hipertensión y diabetes, complicaciones propias del embarazo.²¹

Debido a que en los últimos años ha aumentado la demanda de gestación en edades avanzadas, junto con el deseo de las pacientes de disminuir el riesgo de transferencia de embriones aneuploides, se ha optado por la estrategia de implementar el PGS en pacientes que reciben FIV-ovodonación, basándonos teóricamente en la evidencia del riesgo elevado que tienen las pacientes por la propia edad avanzada, mismo que podría disminuir de manera importante si se analizan los embriones previamente a la transferencia de los mismos, con el fin de que las pacientes logren mejores tasas de embarazo, así como mejores resultados maternos y perinatales al transferir embriones euploides, por ello, surge el interés de realizar este estudio.

El objetivo de este estudio es comparar la tasa de embarazo en curso en pacientes mayores de 38 años con indicación de prueba de preimplantación genética tras transferencia de embrión único (SET) vs doble (DET).

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio unicéntrico retrospectivo en el que se incluyeron mujeres ≥ 38 años con infertilidad en la clínica IVINSEMER México que fueron remitidas para PGS del 1 de mayo de 2016 al 30 de junio de 2017. Se seleccionaron las pacientes que tras el/los ciclos de FIV-ICSI originaron más de un embrión con biopsia embrionaria en el día 3 o 5 utilizando la técnica PGS por Array-CGH IGENOMIX[®], para transferir el/los embrión(es) euploides en ciclo en fresco o congelado.

Se comparó el número de embriones euploides recuperados y transferidos (SET o DET), tasa de embarazo bioquímico, tasa de embarazo clínico, tasa de embarazo en curso y tasa de gestación múltiple. Para el análisis de variables cuantitativas se usaron pruebas paramétricas (t de Student) y para las variables cualitativas la prueba χ^2 .

RESULTADOS

Se incluyeron 63 pacientes mayores de 38 años con diagnóstico de infertilidad a las que se les realizó FIV-ICSI y PGS en la clínica IVINSEMER México del 1 de junio de 2016 al 31 de mayo de 2017.

La edad promedio de las pacientes fue de 41.5 ± 2.9 años, mínima de 38 y máxima de 55 años.

De las 63 pacientes, a 43 (68.2%) se les hizo transferencia de embrión único y a 20 (31.8%) doble.

Las 63 pacientes incluidas se dividieron en cuatro grupos de la siguiente manera:

Grupo A: FIV + ICSI + PGS en embriones de D3 sometidas a SET: 12 pacientes (25.3%).

Grupo B: FIV + ICSI + PGS en embriones de D3 sometidas a DET: 12 pacientes (19%).

Grupo C: FIV + ICSI + PGS en embriones de D5 sometidas a SET: 27 pacientes (43%).

Grupo D: FIV + ICSI + PGS en embriones de D5 sometidas a DET: 8 pacientes (12.7%).

El número de embriones euploides en el día 3 fue de 70; el promedio de embriones euploides por paciente fue de 2.1 ± 1.37 . En el día 5, el número de embriones euploides fue de 101, el promedio de embriones euploides por paciente fue de 3.1 ± 1.90 .

La transferencia se hizo el día 3 en 33 pacientes (25 [39.7%] de embrión único y 8 [12.7] de embrión doble). La transferencia en el día 5 se hizo en 30 pacientes (22 [34.9%] de embrión único y 8 [12.7] de embrión doble). **Cuadro 1**

El **Cuadro 2** muestra un resumen de los resultados del estudio.

Se realizaron distribuciones de frecuencia de las variables cualitativas y cuantitativas del número de pacientes y la positividad de la prueba de embarazo y estas variables se correlacionaron utilizando la prueba χ^2 para evaluar la signi-

ficación estadística de la posible asociación (**Cuadros 3 a 5**).

DISCUSIÓN

En este estudio, nuestro principal objetivo fue comparar la tasa de embarazo en curso en pacientes mayores de 38 años con indicación de prueba de preimplantación genética tras transferencia de embrión único vs doble. Nuestros resultados muestran que la tasa de embarazo en curso por transferencia de embrión único con embriones en el día 3 fue de tres pacientes (7.7%) en comparación con ninguna paciente cuando se realizó transferencia de embrión único con embriones en D3 sin diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, cuando la transferencia se realizó en el día 5, el número de pacientes embarazadas en curso fue de 10 pacientes (25.6%) y la tasa de embarazo en curso por transferencia de embrión doble fue de una paciente (2.5%) con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.0001$) con IC95% de 0.5500-1.086. Martikainen y colaboradores obtuvieron resultados diferentes en 2001, en su estudio comparativo con distribución al azar la tasa de embarazo en curso fue significativamente mayor cuando se hacía transferencia de embrión doble que en el grupo de transferencia de embrión único (74 vs 38.5%).^{19,22} Sin embargo, este autor no tomó en cuenta el día de la transferencia y en nuestro estudio vemos que hubo diferencia estadísticamente significativa cuando la transferencia se realizó en diferente día.

Asimismo, cuando comparamos el número de embriones euploides obtenidos según el día de toma del PGS, en el día 3 de desarrollo embrionario se obtuvieron 36 embriones (41.8%) para la transferencia de embrión único, en comparación con embrión doble, que fue de 50 embriones (58.1%), con diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.03$). Sin embargo, cuando la transferencia se realiza en el día 5, el número de embriones obtenidos para transferencia de

Cuadro 1. Número de pacientes transferidos y tipo de transferencia: embrión único (SET) o doble (DET)

Día de la transferencia	Número de pacientes transferidas por tipo de transferencia		Total
	SET, núm. (%)	DET, núm. (%)	
Día 3	25 (39.68%)	8 (12.69)	33
Día 5	22 (34.92%)	8 (12.69)	30



Cuadro 2. Comparación de las variables según el día de la transferencia y el valor p

Variables	Embrión único	Embrión doble	Valor de p	IC95% de la diferencia de porcentajes entre ambos grupos
Número de pacientes	43	20	0.44 NS	0.2012-0.5289
Número de embriones euploides en D3	36	50	0.03	-0.3111 a -0.01447
Número de embriones euploides en D5	34	51	0.089 NS	-0.3482 a -0.05184
Número de embarazos clínicos por embriones D3	9	3	0.01	0.1171 a 0.8829
Número de embarazos clínicos por embriones D5	22	5	< 0.0001	0.4133 a 0.8460
Número de embarazos bioquímicos por embriones en D3	2	0	NS	-
Número de embarazos bioquímicos por embriones en D5	2	0	NS	-
Número de embarazos en curso por embriones en D3	3	0	NS	-
Número de embarazos en curso por embriones en D5	10	1	< 0.0001	0.5500 a 1.086
Número de recién nacidos vivos por embriones en D3	4	2	0.2897 NS	-0.3309 a 0.9976
Número de recién nacidos vivos por embriones D5	7	2	0.0167	0.1149 a 0.9962
Número de embarazos múltiples por embriones en D3	0	1	NS	-
Número de embarazos múltiples por embriones en D5	0	3	NS	-

NS: no significativo.

Cuadro 3. Número de pacientes con embarazo y tipo de transferencia

	Método		Total Núm. (%)
	Transferencia de embrión único Núm. (%)	Transferencia de embrión doble Núm. (%)	
Sin embarazo	12 (19)	12 (19)	24 (38)
Con embarazo	31 (49)	8 (13)	39 (62)
Total	43 (68.2)	20 (31.8)	63 (100)

embrión único fue de 34 (40%) y el número de embriones para transferencia de embrión doble fue de 51 (60%), sin diferencia estadísticamente significativa. En un estudio realizado por Khaled y su grupo en 2008 encontraron que no hubo diferencia estadísticamente significativa respec-

to al número de embriones obtenidos, calidad embrionaria y número de embriones euploides transferidos según el día de toma de PGS, aunque hubo más embriones transferidos en forma desvitrificada para el grupo de embrión único vs el grupo de embrión doble.²³⁻²⁶

Cuadro 4. Resultados de la comparación de las variables cualitativas y cuantitativas utilizando la prueba χ^2 de Pearson

	Valor	gl	Sig. asintótica	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
χ^2 de Pearson	.243 ^a	1	.622		
Corrección por continuidad ^b	0.031	1	.860		
Razón de verosimilitudes	.241	1	.624		
Estadístico exacto de Fisher				.754	.425
Asociación lineal por lineal	.239	1	.625		
Número de casos válidos	63				

^a 0 casillas (0.0%) tienen frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es de 5.22.

^b Calculado sólo para una tabla de 2 x 2.

Cuadro 5. Estimación de riesgo según χ^2 de Pearson

	Valor	Intervalo de confianza a 95%	
		Inferior	Superior
Razón de las ventajas para resultado (no embarazo/embarazo)	.736	.217	2.496
Para la cohorte de transferencia de embrión único	.928	.683	1.261
Para la cohorte de transferencia de embrión doble	1.261	.504	3.158
Número de casos válidos	63		

Respecto a la tasa de embarazo clínico por transferencia de embrión único, con embriones en el día 3 hubo 9 pacientes embarazadas (23%) en comparación con 3 (7.7%) en el grupo de transferencia de embrión doble con embriones en D3 con diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.01$, IC95%: 0.11171-0.8829). Asimismo, cuando la transferencia se realizó en el día 5, el número de pacientes con embarazo clínico fue de 22 (25.6%) y la tasa de embarazo clínico por transferencia de embrión doble fue de 5 pacientes (12.8%) con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.0001$, IC95%: 0.4133-0.8460). Al compararlo con el estudio de Morin y su grupo, 129 pacientes desarrollaron ≥ 4 blastocistos euploides para la transferencia dentro de su cohorte. Sin embargo, en su estudio no fue estadísticamente significativa la diferencia de la tasa de embarazo clínico entre los grupos de transferencia de embrión único vs doble (74.5 vs 78.4%, $p = 0.6$).^{24,27}

En relación con la tasa de embarazo bioquímico, se registraron dos pacientes (3.2%) embarazadas cuando la transferencia se realizaba por transferencia de embrión único con embriones euploides en el día 3, mientras que cuando era por transferencia de embrión doble no hubo ninguna paciente embarazada, sin diferencia estadísticamente significativa. Los mismos resultados se obtuvieron cuando la transferencia de embriones euploides se realizó en el día 5 por transferencia de embrión único (dos pacientes embarazadas) y doble (0 pacientes embarazadas), sin diferencia estadísticamente significativa. En el estudio de McLernon y colaboradores, realizado en 2010, la tasa de embarazo bioquímico por transferencia de embrión único fue de 24% (60/245), más alta que cuando fue por transferencia de embrión doble, que fue de 18% (63/355) con razón de momios de 1.52 (1.01 a 2.28); en nuestro estudio no hubo tal diferencia.^{25,28}



En cuanto a la tasa de recién nacido vivo por transferencia de embrión único con embriones euploides en el día 3 se registraron 4 pacientes (6.3%) mientras que con embrión doble fue de 2 pacientes (3.2%), sin encontrar diferencia estadísticamente significativa. Asimismo, cuando la transferencia fue en el día 5, en el grupo de transferencia de embrión único hubo 7 pacientes que culminaron con recién nacido vivo en comparación con embrión doble (2 pacientes), con diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.0167$, IC95%: 0.1149-0.9962), contrario a lo hallado por otros autores, como Thurin y su grupo, quienes encontraron que la tasa de recién nacido vivo después de transferencia de embrión único en fresco fue más baja que cuando se realizaba por transferencia de embrión doble en fresco.²⁴

Después de la FIV, aumenta el riesgo de embarazo múltiple. La tasa de embarazo después de FIV en Europa y en Estados Unidos es de 26.4 y de 35.4%, respectivamente.^{22,23} Asimismo, la tasa de embarazo múltiple cuando las pacientes se sometieron a transferencia de embrión único en el día 3 de desarrollo embrionario fue de ninguna paciente embarazada, en comparación con una paciente del grupo de transferencia de embrión doble (1.5%), sin diferencia estadísticamente significativa. Asimismo, cuando la transferencia de embriones euploides fue en el día 5, en el grupo de transferencia de embrión único no hubo pacientes con embarazo múltiple, en comparación con tres pacientes del grupo de transferencia de embrión doble, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa.

Para la distribución de frecuencia de las variables cualitativas y cuantitativas del número de pacientes y la positividad de la prueba de embarazo se utilizó la prueba χ^2 para evaluar la significación estadística posible de la asociación, con reporte final de .243, sin encontrarse valor significativo. Es muy probable que esto

se deba al tamaño de la muestra. En 2016 González y su grupo compararon el número de embriones transferidos, el número de recién nacidos en casa con respecto a la edad de la paciente y no encontraron significación estadística; sin embargo, en ese estudio se incluyeron pacientes menores de 36 años, lo que difiere de nuestro estudio.²⁹

En esta investigación, a pesar de que sea un estudio retrospectivo, con muestra de pacientes limitada por el tiempo, arrojó datos importantes en relación con las pacientes mayores de 38 años con infertilidad sometidas a técnicas de alta complejidad para lograr un embarazo en curso; se comparó la técnica de transferencia de embrión único vs doble con embriones euploides en diferentes días de desarrollo. Con el análisis de los datos obtenidos se logró esbozar un panorama general del comportamiento de la tasa de embarazo en curso, clínico, bioquímico, múltiple y de recién nacido vivo. Por lo que cabe la posibilidad de que futuros estudios, probablemente prospectivos o experimentales, tomen en cuenta el número de embriones euploides, el día de desarrollo embrionario, así como el tipo de transferencia para lograr un procedimiento óptimo con el fin de mejorar las tasas de embarazo.

Por lo anterior, se encontraron diferencias según el tipo de transferencia (de embrión único vs doble), así como el día de desarrollo en el que se transfirieron los embriones, lo que marca una pauta importante en los distintos resultados que arroja el estudio. A medida que se adquiera mayor experiencia y se logren mejores resultados, se apreciará mejoría progresiva del pronóstico para lograr la meta final, que es un embarazo en curso con recién nacido vivo en casa, sin olvidar que la eficacia del procedimiento depende de la valoración adecuada de cada paciente, la indicación correcta y la realización oportuna de cada procedimiento.

CONCLUSIÓN

La tasa de embarazo en curso por transferencia de embrión único fue superior a la de embrión doble, independientemente del día de la transferencia, con diferencia estadísticamente significativa cuando la transferencia de embriones euploides se realizó en el día 5 de desarrollo. Nuestros resultados sostienen fuertemente la elección de la transferencia de embrión único como método efectivo en mujeres mayores de 38 años, en comparación con la transferencia de embrión doble.

REFERENCIAS

1. McFadden D, Friedman JM. Chromosome abnormalities in human beings. *Mutat Res* 1997;396:129-40. DOI: 10.1016/S0027-5107(97)00179-6
2. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Chapter 5: Principles of clinical cytogenetics. In: *Thompson and Thompson Genetics in Medicine*. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007:65.
3. Schrijver I, Zehnder JL, Cherry AM. Chromosomal translocations, deletions, and inversions. Available at: <http://www.uptodate.com/contents/chromosomal-translocations-deletions-and-inversions>. Accessed September 18, 2014.
4. Hassold T, Chen N, Funkouser J, Jooss T, Manuel B, Matsuura J, et al. A cytogenetic study of 100 spontaneous abortions. *Ann Hum Genet* 1980;44:151-78. DOI: 10.1111/j.1469-1809.1980.tb00955.x
5. Lejeune J, Gautier M, Turpin R. [Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children]. *CR Hebd Seances Acad Sci* 1959;248:1721-2.
6. Jacobs PA, Baikie AG, Court Brown WM, Strong JA. The somatic chromosomes in mongolism. *Lancet* 1959;1:710. DOI: 10.1016/S0140-6736(59)91892-6
7. Lamb NE, Sherman SL, Hassold TJ. Effect of meiotic recombination on the production of aneuploid gametes in humans. *Cytogenet Genome Res* 2005;111:250-5. DOI: 10.1159/000086896
8. Hassold T, Hunt P. Maternal age and chromosomally abnormal pregnancies: what we know and what we wish we knew. *Curr Opin Pediatr* 2009;21:703-8. doi: 10.1097/MOP.0b013e328332c6ab.
9. Nagaoka SI, Hassold TJ, Hunt PA. Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nat Rev Genet* 2012;13:493-504. doi: 10.1038/nrg3245.
10. Pellestor F, Andreo B, Anahory T, Hamamah S. The occurrence of aneuploidy in human: lessons from the cytogenetic studies of human oocytes. *Eur J Med Genet* 2006;49:103-16. DOI: 10.1016/j.ejmg.2005.08.001
11. Gutierrez-Mateo C, Colls P, Sanchez-Garcia J, Escudero T, Prates R, Ketterson K, et al. Validation of microarray comparative genomic hybridization for comprehensive chromosome analysis of embryos. *Fertil Steril* 2011;95:953-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.09.010.
12. Treff NR, Tao X, Ferry KM, Su J, Taylor D, Scott RT Jr. Development and validation of an accurate quantitative real-time polymerase chain reaction based assay for human blastocyst comprehensive chromosomal aneuploidy screening. *Fertil Steril* 2012;97:819-24. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.01.115.
13. Werner M, Reh A, Grifo J, Perle MA. Characteristics of chromosomal abnormalities diagnosed after spontaneous abortions in an infertile population. *J Assist Reprod Genet* 2012;29:817-20. doi: 10.1007/s10815-012-9781-3.
14. Bettio D, Venci A, Levi Setti PE. Chromosomal abnormalities in miscarriages after different assisted reproduction procedures. *Placenta* 2008;29(Suppl B):126-8. doi: 10.1016/j.placenta.2008.08.015.
15. Franasiak J, Forman E, Hong K, Werner M, Upham K, Treff N, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophoctoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril* 2014;101:656-63. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.11.004.
16. Geraedts J, Sermon K. Preimplantation genetic screening 2.0: the theory. *Mol Hum Reprod*. 2016;22:839-44. doi: 10.1093/molehr/gaw033.
17. Ruttanajit T, Chanchamroen S, Cram DS, Sawakwongpra K, Suksalak W, Leng X, et al. Detection and quantitation of chromosomal mosaicism in human blastocysts using copy number variation sequencing. *Prenat Diagn* 2016;36:154-62. doi: 10.1002/pd.4759.
18. Simchen MJ, Yinon E, Moran O, Schiff E, Sivan E. Pregnancy outcome after age 50. *Obstet Gynecol* 2006;108:1084-1088. DOI: 10.1097/01.AOG.0000240139.46018.bd
19. Paulson RJ, Boostanfar R, Saadat P, Mor E, Tourgeman DE, Slater CC, Francis MM, Jain JK. Pregnancy in the sixth decade of life: obstetric outcomes in women of advanced reproductive age. *JAMA* 2002;288:2320-2323. DOI: 10.1097/01.AOG.0000240139.46018.bd
20. Salihi HM, Shumpert MN, Slay M, Kirby RS, Alexander GR. Childbearing beyond maternal age 50 and fetal outcomes in the United States. *Obstet Gynecol* 2003;102:1006-1014. DOI: 10.1016/S0029-7844(03)00739-7
21. Bianco A, Stone J, Lynch L, Lapinski R, Berkowitz G, Berkowitz RL. Pregnancy outcome at age 40 and older. *Obstet Gynecol* 1996;87:917-922 DOI: 10.1016/0029-7844(96)00045-2
22. Martikainen H, Tiitinen A, Tomás C, et al. One vs two embryo transfer after IVF and ICSI: a randomized study. *Hum Reprod* 2001;16:1900-3. DOI: 10.1093/humrep/16.9.1900



23. Pingborg A, Loft A, Schmidt L, Andersen AN. Attitudes of IVF / ICSI twin mothers towards twins and single embryo transfer. *Hum Reprod* 2003;18:621-7. DOI: 10.1093/humrep/deg145
24. Thurin A, Hauken J, et al. Elective single embryo transfer versus double embryo transfer *in vitro* fertilization. *N Engl J Med* 2004;351:2392-402. DOI: 10.1056/NEJ-Moa041032
25. Nyboe-Andersen A, Gianaroli L, Nygren KG. Assisted reproductive technology in Europe and registers by ESRHE. *Hum Rep* 2004;19:490-503. <https://doi.org/10.1093/humrep/deq124>
26. Khaled M, et al. Elective single embryo transfer versus double embryo transfer in assisted reproduction. *Reproductive Biomedicine* 2008;17:82-87. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60297-0](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60297-0)
27. Morin S, Melzer K, et al. A greater number of euploid blastocysts in a given cohort predicts excellent outcomes in single embryo transfer cycles. *J Assist Reprod Genet* 2014;31:667-673. DOI: 10.1007/s10815-014-0217-0
28. McLernon DJ, et al. Clinical effectiveness of elective single vs double embryo transfer: meta-analysis of individual patient data from randomised trials. *BMJ* 201 Dec 21;341:c6945. doi: 10.1136/bmj.c6945.
29. González-Ortega C, Cancino-Villarreal P, Anaya Torres FJ, Pérez-Peña E, Gutiérrez-Gutiérrez AM. Impacto de la eclosión asistida con láser (técnica en cuartos) en pacientes con pobre pronóstico reproductivo. *Ginecol Obstet Mex* 2016;83:670-679.