

DIAGNÓSTICO PREIMPLANTACIÓN: ACEPTABILIDAD Y CONTROVERSIAS

Dr. Enrique Gadow

Sección Genética. Departamento de Obstetricia y Ginecología.

Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas. CEMIC - www.cemic.edu.ar

El diagnóstico genético preimplantación conocido en la literatura internacional por el acrónimo PGD es, en la actualidad, una alternativa entre las técnicas utilizadas para diagnóstico en el primer o segundo trimestre de gestación, a saber, aspiración de vellosidades coriales y amniocentesis, respectivamente (1,2).

El primer procedimiento exitoso con un recién nacido sano, fue logrado en una pareja con un riesgo aumentado para su descendencia de una enfermedad con un patrón de herencia recesivo ligado al X (3).

En la última década, el desarrollo biotecnológico en reproducción humana, entre el que se encuentra el mayor conocimiento sobre la obtención de blastocistos y la ampliación del ADN, a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), así como la aplicación de técnicas de citogenética molecular hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH), ha ampliado, considerablemente, el espectro de indicaciones para parejas con alto riesgo de fallas reproductivas o transmisión de enfermedades génicas o cromosómicas a la descendencia (4,5).

Estos adelantos, sin embargo, deben ser evaluados en el marco de los siete pilares de calidad de atención médica (6). Entre ellos, deben analizarse la aceptabilidad, accesibilidad, así como también la equidad. Sin desconocer la gran importancia de estos dos últimos factores, analizaremos el primero de ellos. El impacto de estas técnicas en el ámbito científico y en la práctica clínica esta demostrado por el significativo incremento de publicaciones en general y en determinadas revistas científicas vinculadas con la reproducción humana y el diagnóstico prenatal (Tablas 1 y 2)

Aceptabilidad

Numerosos estudios se han llevado a cabo para analizar los aspectos relacionados con la aceptabilidad, por parte de las parejas, de las técnicas de diagnóstico preimplantación, especialmente, tomando como referencia el diagnóstico prenatal. Es de destacar que éstos han sido realizados en países del hemisferio norte (7).

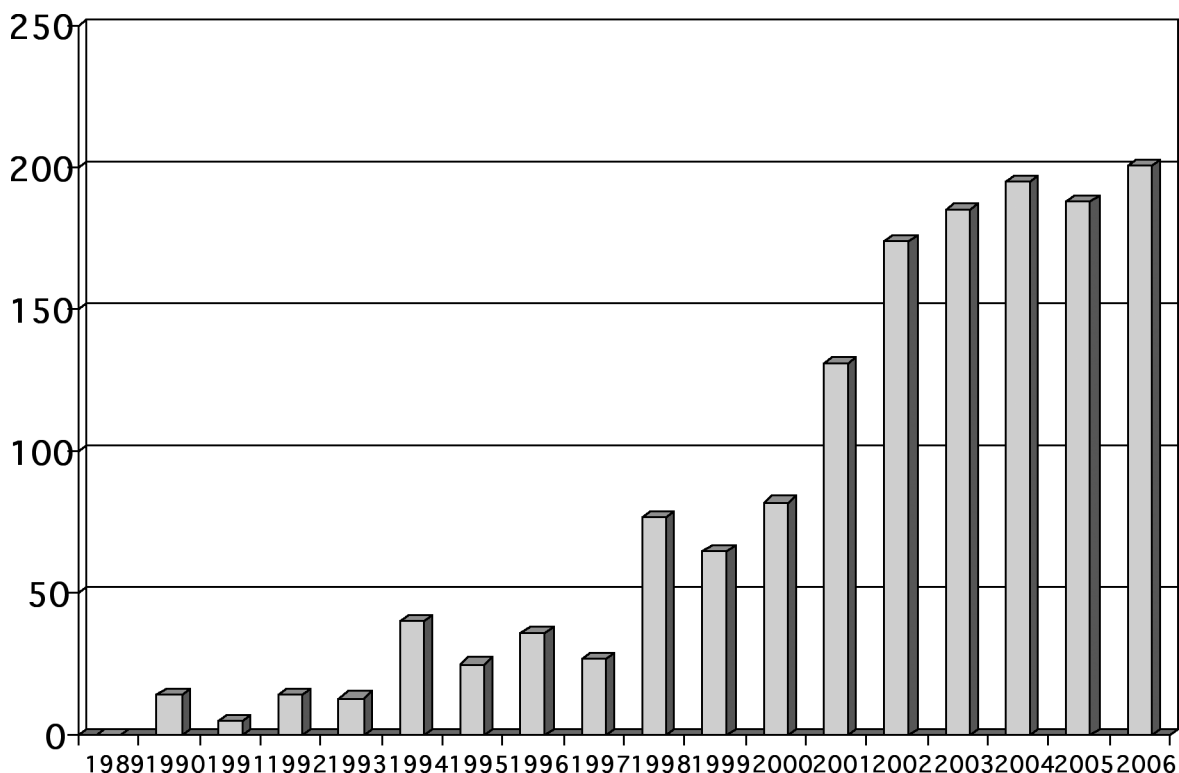


Tabla 1. Número de publicaciones de PGD por año. / Fuente: Pubmed.

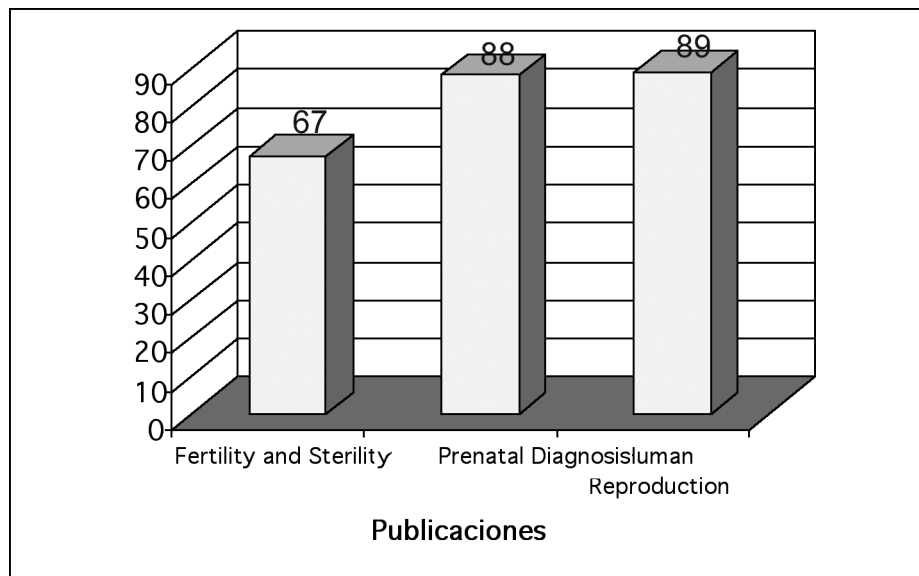


Tabla 2. Publicaciones sobre diagnóstico de Preimplantación, 1996-2006. / Fuente: Pubmed.

En nuestro medio, existe un trabajo reciente sobre el conocimiento y la actitud de las pacientes hacia el diagnóstico prenatal, con relación a los aspectos sociodemográficos y ético-legales (8).

Recientemente se comprobó que, sobre un total de 26 parejas con riesgo de recurrencia de enfermedades génicas altamente invalidantes, 20 parejas (76%) aceptarían realizar diagnóstico preimplantación y no, diagnóstico prenatal.

Solo dos de ellas (8%) no realizarían ningún tipo de estudio (9).

La importancia de este estudio es que fue realizado, en parte, en un centro de Barcelona, con una población de ancestros y cultura similar a la nuestra. Otros trabajos, sin embargo, muestran resultados controvertidos (10,11).

En los inicios del desarrollo de las técnicas de diagnóstico preimplantación, cuando sólo se vislumbraba su potencial, en los EE.UU., se comprobó que, sobre un total de 58 pacientes, el 55% expresaba preferencias por el diagnóstico preimplantación, pese a que el diagnóstico en el primer y segundo trimestre de la gestación empleaba técnicas ya bien establecidas y analizadas con relación a la efectividad y seguridad (12).

En un estudio realizado en Sicilia, en una población con alto riesgo de Beta talasemia, se comprobó que 34 de 50 parejas (68%), que habían realizado diagnóstico prenatal en un embarazo previo y, ante la presencia de un afectado, habían decidido la interrupción del embarazo, volverían a hacer diagnóstico preimplantación en una nueva gestación. En parejas que no habían tenido un afectado previo, un número significativamente menor elegiría diagnóstico preimplantación como primera opción (13). Los resultados de este último trabajo son coherentes con

el conocimiento existente sobre las consecuencias psicológicas a largo plazo, en relación con la interrupción de un embarazo en el primer o segundo trimestre de la gestación, lo cual implica un acto complejo y conflictivo en la vida de una pareja (14).

El conocimiento sobre la gestación de un niño afectado por un trastorno genético o una anomalía del desarrollo tiene un impacto emocional menor, cuanto más precoz es el diagnóstico. Éste sería el principal factor en cuanto a la aceptabilidad del diagnóstico preimplantación.

En nuestro medio, cuando se analizan las causas por las cuales los pacientes deciden realizar un diagnóstico prenatal precoz, se llega a la conclusión de que, en su gran mayoría, los pacientes consideran el estudio genético importante, muy importante o extremadamente importante (97%). Una de las principales motivaciones para realizarlo es la obtención de información precisa y confiable sobre la salud del feto (77%) (8).

Con relación al diagnóstico preimplantación, la confiabilidad en los estudios diagnósticos no tiene, sin embargo, el mismo nivel que los resultados obtenidos, en la actualidad, en estadios más avanzados de la gestación (15). Esto determinaría, posiblemente, una menor aceptabilidad de esta técnica en aquellas parejas que anteponen la precisión del estudio al momento en que éste se realiza. Sin embargo, y de acuerdo con la tendencia actual, es de esperar que los aspectos técnicos mejoren la reproducibilidad y eficacia de las técnicas diagnósticas.

En los comienzos de las técnicas de diagnóstico preimplantación, los estudios que evaluaban las preferencias y actitudes de los pacientes con relación a un método diagnóstico determinaban que, en la mayoría de los casos, los pacientes se inclinaban por

la aspiración o biopsia coriónica, entre otros motivos, por el riesgo potencial de daño embrionario relacionado con la primera de dichas técnicas (7).

En la última década, el significativo avance en el conocimiento de esta técnica ha permitido minimizar el riesgo potencial de analizar más de una célula, en caso de biopsia.

Estudios sobre el proceso de decisión de las parejas que deben evaluar la posibilidad de la fertilización asistida y el diagnóstico preimplantación o el diagnóstico prenatal en estadios más avanzados de la gestación, especialmente aquéllos con riesgo alto para la ocurrencia o recurrencia de anomalías genéticas, revelan que sólo el 11%, sobre un total de 45 pacientes, consideraría "inaceptable" el diagnóstico preimplantación (10).

DIAGNÓSTICO PREIMPLANTACIÓN Y EDAD MATERNA AVANZADA

Desde que se detectó la primera trisomía en humanos, pudo establecerse el efecto edad materna sobre el mecanismo de no-disyunción meiótica (16). Estudios clínico-epidemiológicos, por otra parte, establecieron el impacto de estas anomalías cromosómicas sobre la población (17).

La frecuencia de anomalías cromosómicas en recién nacidos ha sido calculada en 0,6%. Por otro lado, el 7% de las muertes perinatales se asocia con las anomalías cromosómicas. El mejoramiento de las técnicas citogenéticas permitió establecer la alta frecuencia de anomalías cromosómicas en material de abortos espontáneos. Dicha frecuencia es mayor cuanto más precoz es la pérdida del embarazo (18). La frecuencia de anomalías cromosómicas en estadios tempranos de la gestación y su posible asociación con factores ambientales, ha dado lugar a varios estudios tomando como referencia hallazgos en casos de diagnóstico prenatal (19).

Antes de la implementación de las técnicas de diagnóstico preimplantación, se afirmaba que el 15% de los óvulos fecundados se perdían antes de la implantación, debido a aneuploidías y que, de todas las concepciones, solamente el 35% llegaba a término.

En la actualidad, el diagnóstico preimplantación ha permitido establecer con más precisión los fenómenos relacionados con la fertilidad. Así sabemos que la frecuencia real de aneuploidías en cigotas en preimplantación es la principal causa de fallas reproductivas en humanos (20).

El conocimiento del efecto de la edad materna avanzada sobre la frecuencia de aneuploidías, ha determinado que varios grupos hayan tratado de establecer la posibilidad de que el diagnóstico preimplantación pueda mejorar la tasa de embarazos en este

grupo de pacientes (21). Es de destacar, por otra parte, que pacientes que requieren procedimientos de fertilización asistida, tienen una edad promedio significativamente mayor que las embarazadas de la población general. Específicamente en este grupo de pacientes, la utilización de técnicas de hibridación in situ por fluorescencia FISH ha demostrado que aproximadamente la mitad de los embriones preimplantados presentan alguna aneuploidía.

En un total de 3000 ciclos analizados, se postuló que existe un impacto positivo con relación a la tasa de embarazo y la sobrevida perinatal en casos de preselección y transferencia de embriones euploides en madres con edad materna avanzada (4). De lo expuesto, surge que sería beneficioso informar a parejas que recurren a técnicas de fertilización asistida, especialmente cuando se contempla limitar la transferencia de embriones por los riesgos de embarazo múltiple, las posibles ventajas de estas técnicas sobre la evaluación de parámetros morfológicos. Una ventaja adicional sería que, aún en casos de éxito con las técnicas convencionales de fertilización asistida, sería menor la posibilidad de estar gestando un feto con anomalías cromosómicas, que puedan detectarse a través del diagnóstico prenatal.

Recientemente se incorporó el concepto de "screening" de aneuploidías, lo cual sugiere que, además de la detección de los nueve cromosomas generalmente recomendados (13, 14, 15, 16, 18, 21, 22, X e Y), se podría ampliar a seis cromosomas adicionales.

Debemos, sin embargo, ser muy cuidadosos en la aplicación de técnicas que incrementen sensiblemente los costos y, por lo tanto, la accesibilidad, sin una valoración precisa de sus beneficios (22).

El concepto de mayor éxito en la tasa de embarazos a través de la implantación sólo de embriones euploides no contempla otros mecanismos de la implantación regulados, tanto por factores genéticos, como ambientales.

Es indudable la necesidad de realizar posibles estudios randomizados, controlados, para definir el beneficio real de las técnicas de diagnóstico preimplantación en casos de edad materna avanzada. Sin embargo, resulta poco factible implementar dichos estudios, debido a dificultades en el diseño y la aceptabilidad por parte de las parejas. Es conveniente que las parejas conozcan los potenciales beneficios, pero, también, que no es posible establecer, con certeza, las diferencias en relación con los embarazos en los cuales estas técnicas no puedan aplicarse.

En estos momentos, es necesario resistir la demanda de aquellas parejas que nos exigen un nivel de eficacia y eficiencia con relación a estas técnicas, en general producto de un acceso a información distorsionada,

el cual aún no han podido ser claramente establecido. Sin embargo, debemos asumir que, en un futuro no lejano, una vez superadas las limitaciones, reproducibilidad, accesibilidad y equidad, pilares de la calidad médica, las técnicas de diagnóstico preimplantación también podrán ser aplicadas en un número significativo de parejas con fallas reproductivas, con un beneficio real respecto de la tasa de "take home babies".

En un futuro muy cercano se incrementará la aceptabilidad del PGD en parejas con riesgo aumentado para la descendencia de anomalías numéricas o estructurales, así como aquellas familias en riesgo para enfermedades génicas con un alto grado de discapacidad, producto de mutaciones identificadas. Paralelamente se vislumbra un mayor nivel de accesibilidad y efectividad para estas técnicas, tal como ocurrió con los estudios del primer trimestre en la década del ochenta. Es de esperar que prevalezca un sentido de equidad a efectos de que, el posible beneficio de las mismas, alcancen a un mayor número de parejas.

Como hemos descrito el PGD como todas las técnicas diagnósticas permiten aclarar mecanismos etiopatogénicos e implementar estrategias de prevención o recursos terapéuticos. En el pasado llevaba décadas; hoy, para bien de la humanidad, los tiempos se han acortado.

Francois Jacob, investigador y Profesor de Genética en Paris, galardonado con el Premio Nobel en 1985, afirmaba que es propio de nuestra naturaleza mirar incesantemente el futuro, sin embargo el sistema está dispuesto de manera tal que nuestras previsiones serán inciertas. Con esta salvedad podríamos vislumbrar la posibilidad de, así como ciertas mutaciones pueden ser detectadas a nivel preimplantación, también podría ser factible la transferencia de genes "reparadores" en este estadio del desarrollo embrionario. Esto último completaría la secuencia diagnóstica y terapéutica a la que todos aspiramos.

Diagnóstico preimplantación y aborto recurrente

El aborto recurrente, si entendemos como tal la pérdida de dos embarazos en el primer trimestre de la gestación, afecta al 4% de las parejas. La pérdida de tres embarazos se presenta en el 1 % de las parejas siendo una de las consultas más problemáticas para el especialista (23). Esta situación ha sido señalada como una experiencia emocionalmente devastadora para las parejas. Distintas series han demostrado una tasa de anomalías cromosómicas en el 50 al 80% de los abortos del primer trimestre. El estudio citogenético del material proveniente de embarazos detenidos espontáneamente durante el primer trimestre de la gestación, puede brindar una etiología definitiva de la pérdida del embarazo evitando estudios innecesarios

y, mediante un adecuado asesoramiento genético, disminuyendo el nivel de incertidumbre y ansiedad en las parejas. En una serie reciente en 7 de cada 10 pacientes pudo obtenerse información del cariotipo del embarazo detenido y en 4 de cada diez se encontró alguna anomalía. Ello permite realizar un asesoramiento más preciso en cuanto a etiología y futuro reproductivo de las parejas (24).

El diagnóstico genético preimplantación PGD ha permitido confirmar hipótesis previas a la técnica, ya que ha demostrado, en diferentes estudios, que las parejas con antecedente de aborto recurrente dan lugar a embriones con un alto porcentaje de anomalías cromosómicas cuando realizan procedimientos de fertilización in vitro. De esta manera, se ha podido confirmar que las anomalías cromosómicas constituyen la principal causa de letalidad embrionaria, y se manifiestan en fallas de implantación o en abortos espontáneos, en estadios tempranos de la gestación.

Se asume que una técnica que detecta embriones con alteraciones cromosómicas, que dan lugar a fallas en la implantación o a pérdidas precoces, y selecciona embriones euploides normales, debería incrementar la tasa de implantación, la tasa de embarazo y disminuir la tasa de abortos espontáneos. Así, se convertiría en una opción válida para parejas que presentan anomalías cromosómicas estructurales o aborto recurrente sin causa aparente. Sin embargo, la posibilidad de mejorar la fertilidad a través de la detección de aneuploidías por PGD es, aún, controvertido. Uno de los principales problemas para poder evaluar la utilidad de esta técnica, es que la mayoría de las publicaciones presentan un diseño metodológico que hace difícil analizar la efectividad del PGD en estos casos (25). Los trabajos que sostienen que el PGD favorece los resultados reproductivos en los casos de aborto recurrente, muestran incrementos en la tasa de implantación y una disminución en la tasa de aborto. En una serie de 36 pacientes con una tasa de pérdidas embriofetales del 82% y una recurrencia esperada del 35%, se observó, luego del PGD, una tasa de aborto del 9%. También se demostró que el efecto beneficioso es mayor en mujeres de edad avanzada (26).

Aquellos grupos que sugieren que el PGD no beneficia a las parejas con aborto recurrente, consideran que no se ha podido demostrar un incremento en la tasa de embarazo con un diseño metodológico correcto (25), y que cualquier tratamiento, para ser considerado válido, debe igualar o superar la frecuencia de embarazos a término, en general, cercana al 70%, que se produce, de forma espontánea, en estas parejas (27).

Otra situación es la que se presenta en casos de detectarse una translocación balanceada, es decir un intercambio de material genético entre dos cromosomas.

somas sin pérdida ni ganancia de material cromosómico, en algunos de los miembros de una pareja con aborto recurrente.

La frecuencia de anomalías estructurales balanceadas en la población general se estima en 1 de cada 500 individuos. Según los antecedentes reproductivos entre el 5% y el 10% de las parejas con abortos espontáneos a repetición, uno de los integrantes presenta una translocación balanceada. Esta anomalía estructural cromosómica se asocia a mayor tasa de abortos, o trastornos en la fertilidad, así como a un riesgo mayor de tener un recién nacido con malformaciones congénitas (28).

Estos pacientes, sin embargo, pueden tener una descendencia normal. Estos niños no afectados pueden presentar cromosomas normales o la anomalía estructural balanceada heredada del progenitor.

La detección de parejas portadoras de una translocación balanceada se ha incrementado a través del diagnóstico prenatal (29).

Es en estas parejas en las que se ha incrementado la aceptabilidad del PGD, como una alternativa para evitar la recurrencia de eventos reproductivos con un impacto emocional difícil de sobrellevar. Es altamente estimulante para la pareja así como para los especialistas el recurrir a procedimientos que permitan la implantación de embriones con material cromosómico balanceado o no involucrado en la translocación y por lo tanto viable. El inconveniente radica en la complejidad y costo que implica el contar con sondas, en algunos casos teloméricas, para todos los cromosomas potencialmente involucrados en las translocaciones.

Es importante considerar que algunas de las publicaciones que no coinciden con las ventajas del PGD presentan falencias en la técnica. Entre otras diferencias, analizan 2 células, utilizan técnicas de fijación de las blastómeras que afectan la interpretación de las señales del FISH o utilizan un escaso número de sondas (30).

Se ha demostrado que biopsiar dos blastómeras puede afectar el desarrollo embrionario, y que evaluar un bajo número de cromosomas genera un alto índice de falsos negativos (31). Existen centros que sólo evalúan los cromosomas 13, 18, 21, X e Y. En una comunicación preliminar, donde se evaluaron los cromosomas 13, 16, 18, 21, 22, X e Y, el 16% de los embriones presentó alteraciones sólo de los cromosomas 16 y 22, que no se evalúan cuando se realiza una sola ronda de FISH. Es de destacar que aneuploidías de los cromosomas 16 y 22 son detectadas, frecuentemente, en pacientes con aborto recurrente (32, 33).

El PGD, por otra parte, ha permitido conocer eventos etiopatogénicos del aborto recurrente. En una

serie de PGD por aborto recurrente, se observó una mejor sobrevida de los embriones anormales en parejas con aborto recurrente. Esta observación podría explicar por qué estos embriones tendrían mayor probabilidad de implantarse, en comparación con embriones anormales de parejas con pobre pronóstico reproductivo, pero sin antecedentes de aborto recurrente (34).

En esta situación como en la mayoría de los casos en los que el PGD tiene una ventaja potencial es importante conformar un equipo profesional interdisciplinario compuesto, entre otros, por especialistas en reproducción humana, biólogos, citogenetistas moleculares, genetistas para realizar un correcto asesoramiento genético y también poder recurrir, cuando es necesario, a un apoyo emocional por psicólogos capacitados en el seguimiento de estas parejas.

Diagnóstico preimplantación y fallas recurrentes de FIV

La falla recurrente de la fertilización in vitro (FIV) es uno de los mayores desafíos en el campo de la reproducción asistida. Al igual que en las parejas con aborto recurrente, las parejas con falla recurrente de FIV presentan un incremento en el porcentaje de embriones con anomalías cromosómicas numéricas; estas aneuploidías serían responsables de la falla implantatoria. Hasta la introducción del PGD, el criterio morfológico era el único existente para determinar cuáles eran los embriones con mayor probabilidad de implantación. Posteriormente, se demostró que, tanto los embriones de buena calidad, como los de una calidad inferior pueden presentar anomalías cromosómicas, y se postuló que la selección de embriones euploides mejoraría el éxito de la reproducción asistida.

Al igual que en el aborto recurrente, también existen controversias con relación a la utilización del PGD para mejorar los resultados de los tratamientos. Quienes lo consideran beneficiosa, sostienen que el PGD mejora la tasa de implantación, disminuye la tasa de embarazo múltiple y la tasa de aborto (35, 36, 37, 38). Por otra parte, no existen evidencias que demuestren que el PGD incrementa la tasa de nacido vivo, no existen trabajos bien controlados, debe evaluarse el costo de la técnica, y debe considerarse la existencia de problemas en la interpretación del mosaicismo, los errores diagnósticos y la complejidad de la técnica (39).

El PGD tendría, también, valor pronóstico. Las pacientes que no presentan ningún embrión euploide en la cohorte de embriones obtenidos por FIV tienden a comportarse de la misma manera en ciclos de PGD subsiguientes. Esto permitiría un mejor asesoramiento con relación al futuro reproductivo (20).

Es de esperar que en un futuro no lejano, se introduzcan avances en la tecnología que permitan

evaluar la totalidad de los cromosomas en un tiempo que haga posible realizar la transferencia embrionaria, sin necesidad de criopreservar los embriones.

A pesar de que el análisis con PGD confirma una alta incidencia de aneuploidías en pacientes con edad materna avanzada, aborto recurrente y falla recurrente de FIV, su uso no ha podido demostrar de forma fehaciente, un incremento en la tasa de embarazo (40, 41, 42). Son necesarios estudios controlados por grupos experimentados, antes de que el PGD pueda ser recomendado, de forma rutinaria, en estos casos.

Debería reemplazarse la tasa de implantación por la de nacidos vivos. Será imprescindible identificar cuales serán los grupos más beneficiados.

Existen varias organizaciones científicas y grupos de expertos abocados a lograr un consenso sobre la eficacia, efectividad y legitimidad de estas técnicas, así como a difundir los trabajos de los diferentes grupos incluyendo el análisis de los aspectos psicosociales. Entre otros mencionaremos al "Internacional Working Group on PGD" creado en el año 1991, luego de la publicación de Handyside y el Consortium en PGD de la European Society for Human Reproduction and Embriology, "ESHRE" en el año 1997. Finalmente la Publicación Oficial de la Internacional Society in Prenatal Diagnosis, "ISPD" creó una sección dedicada exclusivamente a publicar trabajos sobre PGD en el año 2000.

Agradecimientos: Al Dr. Tetsuji Matayoshi. Especialista en Genética. Premio Konex en ciencia y tecnología, disciplina genética y citogenética década 1993-2003, con quien hemos iniciado muchos proyectos científicos y asistenciales. Al equipo multidisciplinario que nos acompaña y estimula en el área de incumbencia de esta actualización.

Bibliografía

1. Simpson JL. Changing indications for preimplantation genetic diagnosis (PGD). *Mol Cell Endocrinol* 2001;183 Suppl 1:S69-75
2. Gadow E, Matayoshi T. Diagnóstico Preimplantación. Editorial. Reproducción 2004; Año XVII, Nro.1. Pag. 45-9
3. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RM. Pregnancies from biopsied human preimplantation human embryos sexed by Y-specified DNA amplification. *Nature* 1990;344:768-70
4. Kuliev A, Verlinsky Y. The role of preimplantation genetic diagnosis in women of advanced reproductive age. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2003;15: 233-8
5. Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, Munne S. Preimplantation diagnosis for aneuploidies in patients undergoing in vitro fertilization with a poor progno-

sis: identification of the categories for which it should be proposed. *Fertil Steril* 1999;72:837-44

6. Donabedian A. The seven pillars of quality. *Arch Pathol Lab Med* 1990;114(11):1115-8

7. Miedzybrodzka Z, Templeton A, Dean J, Haites N, Millison J, Smith N. Preimplantation diagnosis of chorionic villus biopsy? Women's attitudes and preferences. *Hum Reprod* 1993;8(12):2192-6

8. Gadow E, Petracchi F, Igarzabal L, Gadow A, Quadrelli R, Krupitzki H. Awareness and attitude toward prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities in patients with no access to legal termination of pregnancy. *Prenat Diagn* 2006;26:885-91

9. Lavery SA, Aurell R, Turner C, Castello C, Veiga A, Barri PN, Winston RM. Preimplantation genetic diagnosis: patient's experiences and attitudes. *Hum Reprod* 2002;17(9):2464-7

10. Snowdon C, Green JM. Preimplantation diagnosis and other reproductive options: attitudes of male and female carriers of recessive disorders. *Hum Reprod* 1997;12:341-50

11. Alsulaiman A, Hewison J. Attitudes to prenatal and preimplantation diagnosis in Saudi parents at genetic risk. *Prenat Diagn* 2006;26:1010-4

12. Pergament E. Preimplantation diagnosis: a patient perspective. *Prenat Diagn* 1991;11(8):493-500

13. Chamayou S, Guglielmino A, Giambona A, Siciliano S, Di Stefano G, Scibilia G, Humeau C, Maggio A, Di Leo S. 1998. Attitude of potential users in Sicily towards preimplantation genetic diagnosis for beta-thalassaemia and aneuploidies. *Hum Reprod* 1998 Jul;13(7):1936-44

14. Korenromp MJ, Page-Christiaens GC, van den Bout J, Mulder EJ, Hunfeld JA, Bilardo CM, Offermans JP, Visser GH. Psychological consequences of termination of pregnancy for fetal anomaly: similarities and differences between partners. *Prenat Diagn* 2005 Dec;25(13):1226-33

15. Britt DW, Risinger ST, Miller V, Mans MK, Krivchenia EL, Evans MI. Determinants of parenteral decisions after the prenatal diagnosis of Down syndrome: bringing in context. *Am J Med Genet* 2000;93:410-6

16. Lejeune J, Gautier M, Turpin RCR. Etudes des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *Acad Sci (Paris)* 1959 ;248:1721-2

17. Gadow E. 1984. Tesis de doctorado. Edad materna y variables asociadas como factor de riesgo genético en poblaciones sudamericanas. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires.

18. Boué J, Boué A, Lazar P. Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous human abortions. *Teratology* 1975;12:11-26

19. Gadow E, Petracchi F, Poletta FA, Castilla EE. De novo chromosomal abnormalities and month of conception. Data from the southern hemisphere. Letter to the Editor. *Prenat Diagn* 2006;26(12):1184-6
20. Ferraretti AP, Magli MC, Kocow L, Gianaroli L. Prognostic role of preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy in assisted reproductive technology outcome. *Hum Reprod* 2004 Mar;19(3):694-9
21. Munne S, Sandalinas M, Escudero T, Velilla E, Walmsley R, Sadowy S, Cohen J, Sable D. Improved implantation after preimplantation after preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Reprod Biomed Online* 2003;7:91-7
22. Heng BC. Advanced maternal age as an indication for preimplantation genetic diagnosis (PGD)-the need for more judicious application in clinically assisted reproduction. *Prenat Diagn* 2006;26:1051-3
23. Petracchi F. Aborto recurrente. Newsletter *Genética* 2005; www.cemic.edu.ar, nº 11
24. Colaci D, Petracchi F, Igarzabal L, Matayoshi T, Gadow E. Estudio citogenético de 992 muestras de abortos espontáneos del primer trimestre de la gestación. Reunión Asociación Latinoamericana De Reproducción Humana. Abstract. *Medicina*. 2007. En prensa
25. Platteau P, Staessen C, Michiels A, Van Steirteghem A, Liebaers I, Devroey P. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in patients with unexplained recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 2005 Feb;83(2):393-7; quiz 525-6
26. Munne S, Chen S, Fischer J, Colls P, Zheng X, Stevens J, Escudero T, Oter M, Schoolcraft B, Simpson JL, Cohen J. Preimplantation genetic diagnosis reduces pregnancy loss in women aged 35 years and older with a history of recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 2005 Aug;84(2):331-5
27. Clifford K, Rai R, Regan L. Future pregnancy outcome in unexplained recurrent first trimester miscarriage. *Hum Reprod* 1997;12:387-9
28. Gadow E, Lippold S, Otaño L, Serafín E, Scarpati R, Matayoshi T. Chromosome rearrangements among couples with pregnancy losses and other adverse reproductive outcomes. *Am J Med Genet* 1991;41:279-81
29. Igarzabal L, Petracchi F, Poletta FA, Lippold S, Otaño L, Aiello H, Scarpati R, Figueroa A, Sakurai M, Gadow E, Matayoshi T. Prenatal diagnosis of chromosome structural rearrangements as an ascertainment for parental balanced translocation in 9400 cvs (1995-2005). Abstract. XX Conference International Society of Prenatal Diagnosis. 2006;Kyoto, Japón
30. Cohen J, Wells D, Munné S. Removal of 2 cells from cleavage stage embryos is likely to reduce the efficacy of chromosomal tests that are used to enhance implantation rates *Fertil Steril* 2007;87:496-503
31. Cohen y Munné. 2005. Two-cell biopsy and PGD pregnancy outcome. *Hum Reprod* 20:2363-4.
32. Staessen C, Michiels A, Devroey P, Liebaers I, Van Steirteghem A. Is it the morphologically best embryo that will implant? *Hum Reprod* 2004;19:145
33. Shahine LK, Cedars MI. Preimplantation genetic diagnosis does not increase pregnancy rates in patients at risk for aneuploidy. *Fertil Steril* 2006;85:51-6
34. Kocow L, Bisioli C, Ogawa M, Inza R, Matayoshi T, Gadow E. Recurrent miscarriage: embryos with chromosomal abnormalities "do better" than abnormal embryos from other groups. European Society for Human Reproduction and Embryology (Abstract). 2007. En prensa
35. Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, Florentino A, Garrisi J, Munne S. PGD increases the implantation rate in human IVF by avoiding the transfer of chromosomally abnormal embryos. *Fertil Steril* 1997;68:1128-31
36. Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, Munne S. Preimplantation diagnosis for aneuploidies in patients undergoing in vitro fertilization with a poor prognosis: identification of the categories for which it should be proposed. *Fertil Steril* 1999;72:837-44
37. Munné S, Magli C, Cohen J, Morton P, Sadowy S, Gianaroli L. Positive outcome after preimplantation diagnosis of aneuploidy. *Hum Reprod* 1999;14:2191-9
38. Verlinsky Y, Kuliev A. Preimplantation diagnosis for aneuploidies in assisted reproduction. *Minerva Ginecol* 2004;56:197-203
39. Hill DL. Ten years of PGD-AS: review of a multicenter report. *Fertil Steril* 2004;82:300-1
40. Staessen C. Indications for PGS. *Human Reprod* 2006;21, Supp 1, O-195, pp. i77
41. Repping S, Geraedts J, Scriven P, Harton G, Vesela K, Kearns W, Viville S, Sermon K. Central data collection on PGD and screening. *Reprod Biomed Online* 2006;12:389
42. Baruch S, Adamson GD, Cohen J, Gibbons WE, Hughes MR, Kuliev A, Munne S, Rebar RW, Simpson JL, Verlinsky Y, Hudson KL. Genetic testing of embryos: a critical need for data. *Reprod Biomed Online* 2006;11:667-70