

Andrología

Valor del estudio de la meiosis en biopsia testicular y del diagnóstico genético preimplantacional (DGP) en las pacientes abortadoras habituales sin causa aparente

Importance of the meiosis study in testicular biopsy and preimplantational genetic diagnosis (PGD) in frequent miscarriager patients without apparent reasons

Brassesco M¹, Fabian E¹, Gómez M^{1,5}, López G¹, Brassesco A¹, Del Río F¹, Egozcue S², Sandalinas M³, Vellilla E⁴

¹Centro de Infertilidad y Reproducción Humana (CIRH). Clínica Corachan. Barcelona, ²Egozcue Genetics. ³Reprogenetics. ⁴Centro Médico Embrionario (CME). ⁵Hospital Gineco-obstétrico Universitario Ramón González Coro (Cuba).

Resumen

Dada la importancia que juegan los factores genéticos en el aborto a repetición, nos propusimos evaluar la utilidad del estudio de la meiosis en biopsia testicular y la aplicación de FIV/ICSI con diagnóstico genético preimplantacional en las parejas abortadoras.

Se realizó un estudio prospectivo comparativo en el que se incluyeron 67 parejas con 2 o más abortos. A todas las parejas se les realizó historia clínica y estudios y una vez excluidas otras posibles causas de abortos, a los hombres se les practicó biopsia testicular con estudio de meiosis. Así quedaron clasificadas en tres grupos: grupo 1, pacientes con meiosis en biopsias testicular normal, grupo 2 aquellos con la meiosis anormal, y grupo 3 en los que existía mosaicismo en la meiosis. Posteriormente estos grupos de pacientes se sometieron a FIV/ICSI con protocolo largo y DGP. Se midieron variables como ovocitos capturados, porcentajes de fecundación, embriones logrados día +3, porcentajes de embriones normales y anormales por DGP, anomalías más frecuentes encontradas, ciclos transferidos, porcentajes de embarazos y partos. Resultados: de las 67 parejas estudiadas el 97 por ciento presentó alguna alteración de la meiosis, encontrando un 68,6% con meiosis anormal y un 28,4% con mosaicismos. A las mujeres se les realizaron 89 ciclos de estimulación y los porcentajes de ovocitos capturados, al igual que los porcentajes de fecundación fueron similares, no así la cantidad de embriones en día +3 que fue algo superior en los pacientes con mosaicismos. De estos embriones el mayor porcentaje de embriones normales lo encontramos en el grupo de pacientes sin alteraciones de la meiosis, donde se pudo transferir en un mayor porcentaje de ciclos, sin logros de embarazos. En los grupos con alteración de la meiosis los porcentajes de transferencias y embarazos no se diferenciaron, mostrando mayores beneficios en cuanto a partos el grupo 3 de pacientes. Conclusiones. Las al-

Correspondencia: Dr. D. Manuel Gómez
CIRH
Plaza Eguilaz 14 bajos
08017 Barcelona
cirh@cirh.es

teraciones de la meiosis en biopsia testicular son altamente frecuentes en la parejas abortadas que no presenta causa aparente, generando estas un elevado número de embriones anormales. El uso del DGP en estos pacientes, permite hacer la correcta selección de embriones a transferir logrando embarazos y partos en algunas de estas pacientes y en otras pudiendo sugerir el uso de donantes de gametos como medio para lograr la fertilidad y evitando de esta manera gastos en recursos y daños psicológicos a los que se encuentran expuestas.

Por tanto y en base a los resultados del estudio, se sugiere un esquema, como metodología a aplicar ante una pareja abortadora sin causa aparente, lo cual nos permite evaluar directamente el papel del espermatozoa en la calidad embrionaria e indirectamente el papel del ovocito en la misma.

Palabras clave: Biopsia testicular. Meiosis, DGP. Aborto.

Summary

Given the importance of the genetic factors in recurrent miscarriage, we were determined to evaluate the usefulness of the meiotic study in testicular biopsy and the application of IVF/ICSI with Preimplantational Genetic Diagnosis in miscarriage couples.

It was carried out a comparative prospective study in which were included 67 couples who had suffered from 2 or more abortions.

It was done a clinical history and a study in every couple. Once have excluded other possible causes of abortion, was practiced a testicular biopsy with meiotic study to every male. The results of the meiotic study allowed to classify the couples into three groups: Group 1, patients with normal meiosis on testicular biopsy, Group 2, those patients with abnormal meiosis and Group 3, those who present a mosaicism in meiosis. Subsequently, these groups of patients were underwent IVF/ICSI using long protocol and PGD. Were measured variables like number of retrieved oocytes, percentage of fertilization, obtained embryos in day 3, percentage of PGD normal and abnormal embryos, most frequent chromosome abnormalities founded, cycles with embryo transfer, pregnancy percentage and labour.

Outcome: from 67 studied couples, 97 percent showed some meiotic abnormalities, 68.6% of which had abnormal meiosis and 28.4% showed mosaicism. Those were practiced 89 cycles of stimulation to women. Percentage of retrieved oocytes and fertility rates were similar between couples from different groups. Although number of embryos in day 3, was a little better in patients who presented mosaicism. The highest percentage of normal embryos is found in the group of patients without meiotic alterations, group in which were practiced higher percentage of embryo transfers, though without pregnancy results. In couples who presented meiotic abnormalities, embryo transfer percentage and pregnancy rates were not different, although most of labours were in group 3.

Conclusions: Alterations in meiosis in testicular biopsy are highly frequent in miscarriager couples who do not present any other apparent reason, generating a high number of abnormal embryos. Using PGD in these patients makes possible to select correct embryos before transfer, obtaining pregnancies and labours in some of these patients. In other patients could be used to suggest the use of donors (sperm and/or oocyte) as a solution to achieve fertility and avoiding expenses and psychological damages.

As a result, we suggest a scheme as a methodology to apply in a miscarriager couple without apparent reason, which allows to evaluate directly the role of the spermatozoa and evaluate indirectly the role of the oocyte in the embryo quality.

Key words: Testicular biopsy. Meiosis. PGD. Miscarriage.

INTRODUCCIÓN

Desde hace varios años los estudios en la paciente abortadora se han centrado en la evaluación genética de los embriones, sabiéndose con certeza que la cali-

dad morfológica y genética de éstos juegan un papel primordial en la implantación y mantenimiento del embarazo. Estos hechos han sido comprobados con el advenimiento de las técnicas de reproducción asistidas en los años 70, las cuáles no sólo impulsaron la

solución a diversos problemas de infertilidad, sino que han permitido ampliar los conocimientos acerca de la constitución genética de gametos y embriones preimplantados.

Los estudios en este sentido han ido evolucionando. En un principio se estudiaba aisladamente a los miembros de la pareja desde el punto de vista cromosómico (cariotipo) y estudios a nivel de gametos masculinos (FISH de espermatozoides o estudio de meiosis en biopsia testicular). Actualmente también se estudian los embriones (diagnóstico genético preimplantacional) que serán transferidos en la mujer. Esto no sólo permite seleccionar embriones en el sentido de evitar abortos en aquellas pacientes con fallo de implantación (1-5), sino que conociendo que un gran porcentaje de embriones con anomalías cromosómicas, alcanzan el estadio de blastocisto (6) y pueden ser transferidos e incluso dar fetos viables con malformaciones genéticas también nos permitiría seleccionar embriones sanos para evitar la aparición de estas enfermedades.

Los análisis en el eyaculado y en la biopsia testicular de hombres infértiles con cariotipo normal en sangre periférica han reportado una incidencia de anomalías en la meiosis entre un 6 y 37,9% de los pacientes, las cuáles son más frecuentes en aquellos pacientes con mayor daño espermático. (7-12), por lo que es de suponer que estos pacientes con alteraciones de la meiosis, en el apareamiento de gametos generen embriones con aberraciones tanto autosómicas como de cromosomas sexuales superiores a la población general y como consecuencia un índice de abortos también superior (7, 10, 13).

Debido a la dificultad del estudio del gameto femenino, nos propusimos evaluar el papel del estudio de la meiosis en biopsia testicular y el DGP como factores pronósticos de fertilidad en pacientes abortadoras habituales.

OBJETIVOS

Evaluar la utilidad de realizar estudio de la meiosis en biopsia testicular y el diagnóstico genético preimplantacional (DGP) a pacientes abortadoras habituales.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio prospectivo, comparativo en el cual se incluyeron 67 parejas con dos o más abortos que consultaron en el CIRH entre los años 2005 y

2007. A todas las parejas se les realizó historia clínica completa, con ecografía, determinaciones hormonales de FSH; LH; PRL Y TSH el día 3 del ciclo menstrual a las mujeres, cariotipo a ambos miembros de la pareja y a todos los esposos se les realizó biopsia testicular con estudio de la meiosis.

De acuerdo a los resultados de la meiosis en biopsia testicular los pacientes fueron divididos en tres grupos, grupo 1 aquellos pacientes con meiosis en biopsia testicular normal, grupo 2 pacientes con estudio de meiosis anormal y grupo 3 aquellos pacientes que presentaban alguna línea celular normal y anormal (mosaicismo). Todas las pacientes fueron sometidas a FIV/ICSI con estimulación ovárica en protocolo largo con agonistas. Posterior a la menstruación se suministraron gonadotropinas recombinantes en dosis calculada individual para cada paciente y en casos necesarios se adicionó HMG al tratamiento. Las pacientes fueron seguidas ecográficamente hasta que tuvieron al menos 3 folículos en 18 Mm. Este día se suspendió la estimulación y se aplicó HCG 7500 Uds IM. La punción folicular para captura ovocitaria se realizó 35 horas y media post administración de HCG bajo sedación con Propofol. A los embriones obtenidos el día + tres post punción se realizó extracción de célula para DGP, donde se estudiaron aneuploidías de 9 a 12 cromosomas y se transfirieron el día +5 post punción los embriones que resultaron normales en un número no mayor de 3 embriones por transferencia. Se realizó posteriormente β HCG cuantitativa 10 días posttransferencia y se realizó ecografía transvaginal 3 semanas después a aquellas pacientes con β HCG elevada.

Criterios de inclusión

- Pacientes con 2 o más abortos que quisieran participar de estudio.
- Pacientes menores de 40 años.
- Pacientes con FSH menor de 10 UI/L.
- Pacientes que reuniendo los requisitos anteriores tuvieran ambos miembros de la pareja cariotipos normales.

Criterios de exclusión

- Pacientes en que los resultados de los estudios de meiosis en biopsia testicular no fueron concluyentes para incluirlos en uno de los grupos.
- Pacientes con determinaciones positivas de anticuerpos cardiolipinas, lupus etc.

- Pacientes con cifras de TSH mayores de 3 μ U/ml.

- Pacientes en los que haya tenido que cancelarse ciclo por mala respuesta ovárica a la estimulación.

- Pacientes en la que se detecte algún patrón endometrial o uterino anormal por ecografía.

La biopsia testicular fue realizada de forma ambulatoria y la muestra fue analizada en Egozcue Genetics, considerándose meiosis anormal cuando en profase I encontramos anomalías de apareamiento y separación de XY; en meiosis I, presencia de univalentes, desinapsis de bivalentes parcial o generalizada, disminución de quiasmas, separación precoz de los cromosomas XY, hiperploidías y en la meiosis II cuando se encontraron formas diploides o poliploides. Considerándose mosaïcismo cuando coexistían más de una línea celular y meiosis normal cuando no existía ninguna alteración. Los casos con diagnóstico dudoso fueron eliminados del estudio.

Para la realización del DGP la extracción de la célula embrionaria se realizó en día + 3 post captura en el laboratorio de CIRH y la muestra fue enviada a Reprogenetics o CME, donde se realizó estudio por FISH para descartar aneuploidías de 9 a 12 cromosomas, considerándose embriones normales aquellos que no presentaban ninguna alteración en los cromosomas estudiados.

Se tomó como diagnóstico de embarazo la β HCG mayor de 10 mUI/ml el día 10 postransferencia y la presencia de saco gestacional y latido fetal mediante ecografía transvaginal 3 semanas después de la realización de la β HCG.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con el sistema operativo SPSS 11,0 de Windows. Se realizó el test de correlación de Pearson para establecer correlación entre variables a un nivel de significación del 0,05, y se aplicó media y desviación estándar para la comparación de variables cuantitativas.

RESULTADOS

En el estudio se incluyeron un total de 67 parejas que acudieron al CIRH entre los años 2005 y 2007 y que presentaban 2 o más abortos. A las mismas se les realizó biopsia testicular con estudio de meiosis y posteriormente se sometieron a procedimiento de FIV/ICSI y a los embriones obtenidos se les realizó DGP.

Los pacientes según resultados de la meiosis fueron divididos en tres grupos, un grupo de 2 pacientes (3%) que presentaban biopsia testicular normal (Grupo 1), un segundo grupo de 46 pacientes (68,6%) con biopsia testicular anormal (Grupo 2) y un tercer grupo de 19 (28,4%) pacientes que presentaban mosaïcismos en la biopsia testicular (Grupo 3) (Tabla 1).

En cada grupo hubo pacientes que se sometieron a más de un ciclo de FIV/ICSI con DGP, por lo que se estudiaron un total de 89 ciclos, 5 pertenecientes al grupo 1 (5,6%), 56 al grupo 2 (62,9%) y 28 al grupo 3 (31,5%) (Tabla 1).

Tabla 1

Distribución de la muestra según resultado del estudio de meiosis en biopsia testicular en parejas abortodotas habituales

	No de pacientes N (%)	No de ciclos N (%)
Meiosis normales (Grupo 1)	2 (3)	5 (5,6)
Meiosis anormal (Grupo 2)	46 (68,6)	56 (62,9)
Mosaïcismo (Grupo 3)	19 (28,4)	28 (31,5)
Total	67	89

Las medias de edades de los diferentes grupos no fueron significativamente diferentes, siendo ésta de 32,5 años con una DE de 4,2 en el grupo 1, de 36 años con DE de 5,1 en el segundo grupo estudiado y de 35,6 años con DE 4,8 en las parejas que encontramos mosaïcismos en la meiosis testicular (Tabla 2).

Tabla 2

Promedio de edades en los grupos estudiados

	Edad materna X (DE)
Meiosis normal	32,5 (5,1)
Meiosis anormal	36 (4,2)
Mosaïcismos	35,6 (4,8)

Las cantidades de ovocitos capturados fueron de 52 en el grupo de pacientes con meiosis normal, de 757 en aquellas parejas con meiosis testicular anormal y 307 en las parejas con mosaïcismos, obtenién-

dose promedios similares de ovocitos capturados en los tres grupos de acuerdo a la cantidad de ciclos, 10,4; 12,9 y 11 respectivamente (Tabla 3).

De los ovocitos capturados el porcentaje de fecundación se comportó muy similar en los tres grupos (65,4%; 69,7% y 64,8%), al igual que el de embriones logrados el día + 3 postpunción (50%; 52,6%; 63,5%), aunque el grupo de pacientes con mosaicismos mostró un discreto incremento (Tabla 3).

Al realizarse el diagnóstico genético preimplanta-

Tabla 3

Relación de ovocitos capturados, y porcentaje de fecundación por grupos

	Ovocitos Capturados N (X)	Ovocitos Fecundados N (%)	Embriones logrados N (%)
Meiosis normal	52 (10,4)	34 (65,4)	26 (50)
Meiosis anormal	757 (12,9)	507 (69,7)	383 (52,6)
Mosaicismo	307 (11)	199 (64,8)	195 (63,5)

(X) Promedio de ovocitos capturados por ciclo.

cional a los embriones obtenidos en los grupos estudiados, el mayor porcentaje de embriones patológicos los encontramos en los grupos de pacientes con meiosis alterada, mostrando el mayor porcentaje (75,9%) el grupo de pacientes con mosaicismo (Grupo 3) y 70,8% en los pacientes con meiosis anormal (Grupo 2). Observamos que en las pacientes abortadoras (Todos los Grupos) en un 72% de los embriones estudiados por DGP existen anomalías cromosómicas (Tabla 4).

Tabla 4

Calidad de embriones obtenidos por grupos

	Cantidad de Embriones	Embriones patológicos N (%)	Embriones normales N (%)
Meiosis normal	26	17 (65,4)	9 (34,6)
Meiosis anormal	383	271 (70,8)	112 (29,2)
Mosaicismos	195	148 (75,9)	47 (24,1)
Total	604	436 (72,2)	168 (27,8)

La cantidad de ciclos en los que encontramos embriones normales fue superior en las parejas con estudio de meiosis en la biopsia testicular normal que en

los otros dos grupos, donde se comporto de forma similar (76,7% en el grupo 2 y 75% en el grupo 3) (Tabla 5).

Tabla 5

Cantidad de pacientes en relación a calidad embrionaria

	Total de Ciclos Estudiados	Ciclos con algún embrión normal N (%)	Ciclos sin embriones normales N (%)	Ciclos transferidos N (%)
Meiosis normal	5	4 (80)	1 (20)	4 (80)
Meiosis anormal	56	43 (76,7)	13 (23,3)	35 (62,5)
Mosaicismo	28	21 (75)	7 (25)	20 (71,4)
Total	89	68 (76,4%)	21 (23,6%)	59 (66,2%)

Las anomalías embrionarias más frecuentemente encontradas fueron similares en los grupos, siendo las monosomías las alteraciones más frecuentes, seguidas de las trisomías, sin embargo los cromosomas más afectados difieren del grupo con meiosis normal de los otros dos grupos (Grupos 2 y 3). Aunque las alteraciones del cromosoma 16 son frecuentes en todos los grupos, en los pacientes del grupo 1 se encontró una mayor afectación de los cromosomas 22 y 14 y en los pacientes con meiosis alterada (grupos 2 y 3) de los cromosomas 15 y 21 (Tabla 6).

Tabla 6

Anomalías embrionarias más frecuentes por grupos

	Anomalías más frecuentes
Meiosis normal	1. Monosomía 22, 16, 14 2. Trisomía 15, 22 3. Cromosomopatías múltiples
Meiosis anormal 3	1. Monosomías 15, 16, 21 2. Trisomías 16, 21 3. Cromosomopatías múltiples
Mosaicismos 1 3.	1. Monosomías 16, 21, 15 2. Trisomías 16, XXY, XYY, 21 3. Cromosomopatías múltiples

El estudio de DGP nos permitió en aquellos ciclos con algún embrión normal (4 ciclos en el grupo 1, 43

en el grupo 2, y 21 en el grupo 3) hacer la transferencia en 4 ciclos (80%) del grupo 1, 35 (62,5%) ciclos del grupo de pacientes con meiosis anormal y 20 ciclos (71,4%) del grupo 3, encontrándonos en el grupo 2 que en 8 ciclos, embriones con DGP normal biopsiados el día +3 no evolucionaron al día +5 (Tabla 5).

Obtuvimos como resultado, un 0% de embarazos en el grupo de pacientes con meiosis normales (Grupo 1) y un 49% en el total de pacientes con meiosis alteradas, distribuyéndose en un 51,4 % en aquellos pacientes con meiosis anormal (Grupo 2) y un 45% en los que presentaban algún mosaicismo en la meiosis (Grupo 3) (Tabla 7).

Tabla 7

Resultados obtenidos en embarazos por ciclos transferidos

Grupos	Total de ciclos	Ciclos transferidos	Embarazos N (%)X
Meiosis normal	5	4	0
Meiosis anormal	56	35	18 (51,4)
Mosaicismo	28	20	9 (45)
Total de Meiosis alteradas		55	27 (49)

(%)^x Porcentajes según ciclos transferidos.

En el grupo de pacientes con meiosis testicular anormal de los 18 embarazos logrados, (el 51,4% de los ciclos transferidos) tuvimos 8 partos (47% de las pacientes que tenían fecha de parto antes de terminar el estudio, según fecha de embarazo), actualmente 1 embarazo en curso con más de 30 semanas y 9 abortos (50%) y en el grupo de pacientes con mosaicismos que lograron embarazo (9) se lograron 4 partos (66% de 6 pacientes que presentan posible fecha de parto antes de culminado el estudio), actualmente 2 embarazos de más de 30 semanas en curso y 1 con menos de 30 semanas y 2 abortos (22,2%) (Tabla 8).

DISCUSIÓN

En nuestro estudio no se encontraron diferencias significativas en cuanto a edades maternas, por lo que el factor de influencia de ésta, tanto a nivel de producción de ovocitos, como calidad de los mismos y predisposición estadística al aborto fue homogéneo para los grupos estudiados.

Tabla 8

Partos y abortos según embarazos logrados

Grupos	Embarazos N	Partos N (%)*	Abortos N (%)
Meiosis normal	0	0	0
Meiosis anormal	18	8 (47) (1 embarazo en curso)	9 (50%)
Mosaicismo	9	4 (66,6) (3 embarazo en curso)	2 (22,2%)

(%)* Porcentajes según pacientes con fecha de parto antes de culminado el estudio.

Lo más significativo de nuestro estudio es la alta frecuencia con que se presentan alteraciones de la meiosis testicular en las parejas abortadas habituales, encontrándonos sólo que un 3% de las parejas no presenta algún grado de alteración de la misma. Los porcentajes encontrados por nosotros se muestran por encima de los reportados en trabajos anteriores, que aunque no hayan sido realizados en pacientes abortadas específicamente, fueron realizados en hombres infértiles con algún grado de daño espermático (8, 14, 15).

Como podemos evaluar en el estudio, las alteraciones en la meiosis de gametos pueden ser precursoras de embriones cromosómicamente anormales, así las alteraciones en la meiosis espermática generan los mayores porcentajes de embriones anormales, encontrándonos en nuestro estudio unas tasas de embriones anormales de un 72%, algo superiores a las publicadas por Vidal y col. en el año 1998 (16) y muy similares a las reportadas por otro estudio del mismo grupo unos años más tarde (6), lo que conlleva a que cerca de un 35% de las pacientes no lleguen a someterse a la transferencia embrionaria evitando, además de los gastos en recursos, el daño psicológico que implican los ciclos de FIV fallidos ó los abortos en estas pacientes y pudiendo sugerir el uso de donantes de gametos según el caso.

En nuestro estudio las anomalías más frecuentemente encontradas son las monosomías, lo que difiere de lo expresado por Alemañ (17) en su publicación donde plantea como más frecuente las trisomías, sin embargo los cromosomas más frecuentemente afectados (16, 22, 15, 21) si son similares a los de este trabajo y a los publicados por Rubio en el 2003 (6).

También podemos señalar que en el grupo de pacientes con meiosis anormal, un porcentaje de em-

briones, a pesar de ser normales por DGP, no evolucionaron del día +3 en que se realizó la extracción celular al embrión, al día de la transferencia, lo cual lo podemos atribuir a embriones con algún grado de daño genético no expresado en los cromosomas estudiados en el DGP.

Cabe destacar en nuestro estudio que, a pesar de que la muestra analizada es pequeña en el grupo de pacientes con meiosis normal, no se logró embarazo en estos pacientes, a pesar de tener mayores porcentajes de embriones aparentemente normales, por lo que teóricamente podemos plantear 2 causas fundamentales: o bien trastornos endometriales no diagnosticables con los medios de diagnóstico disponibles en la actualidad, o bien alteraciones genéticas del embrión en cromosomas no estudiados en el DGP aplicado, ya sean provenientes de alteraciones del ovocito o alteraciones de novo en el proceso de fecundación.

Las tasas de embarazos del 49% logradas en los pacientes con alteraciones de la meiosis (grupo 2 y 3) fueron similares a las reportadas por ASEBIR (45%) en el 2005 (18), aunque es de notar que el porcentaje de abortos es mucho mayor en el grupo de pacientes con meiosis anormal que en los pacientes con mosaicismos,

lo que sugiere una mayor frecuencia de anomalías cromosómicas en aquellos cromosomas no estudiados por la técnica de DGPI aplicada en este estudio.

CONCLUSIONES

Las alteraciones de la meiosis en biopsia testicular son altamente frecuentes en las parejas abortadoras que no presentan causa aparente, generando éstas un elevado número de embriones anormales. El uso del DGP en estos pacientes, permite hacer la correcta selección de embriones a transferir logrando embarazos y partos en algunas de estas pacientes y en otras pudiendo sugerir el uso de donantes de gametos como medio para lograr la fertilidad y evitando de esta manera gastos en recursos y reduciendo los daños psicológicos a los que se encuentran expuestas.

Por tanto, y en base a los resultados del estudio, se sugiere el esquema 1, como metodología a aplicar ante una pareja abortadora sin causa aparente, lo cual nos permite evaluar directamente el papel del espermatozoide en la calidad embrionaria e indirectamente el papel del ovocito en la misma.

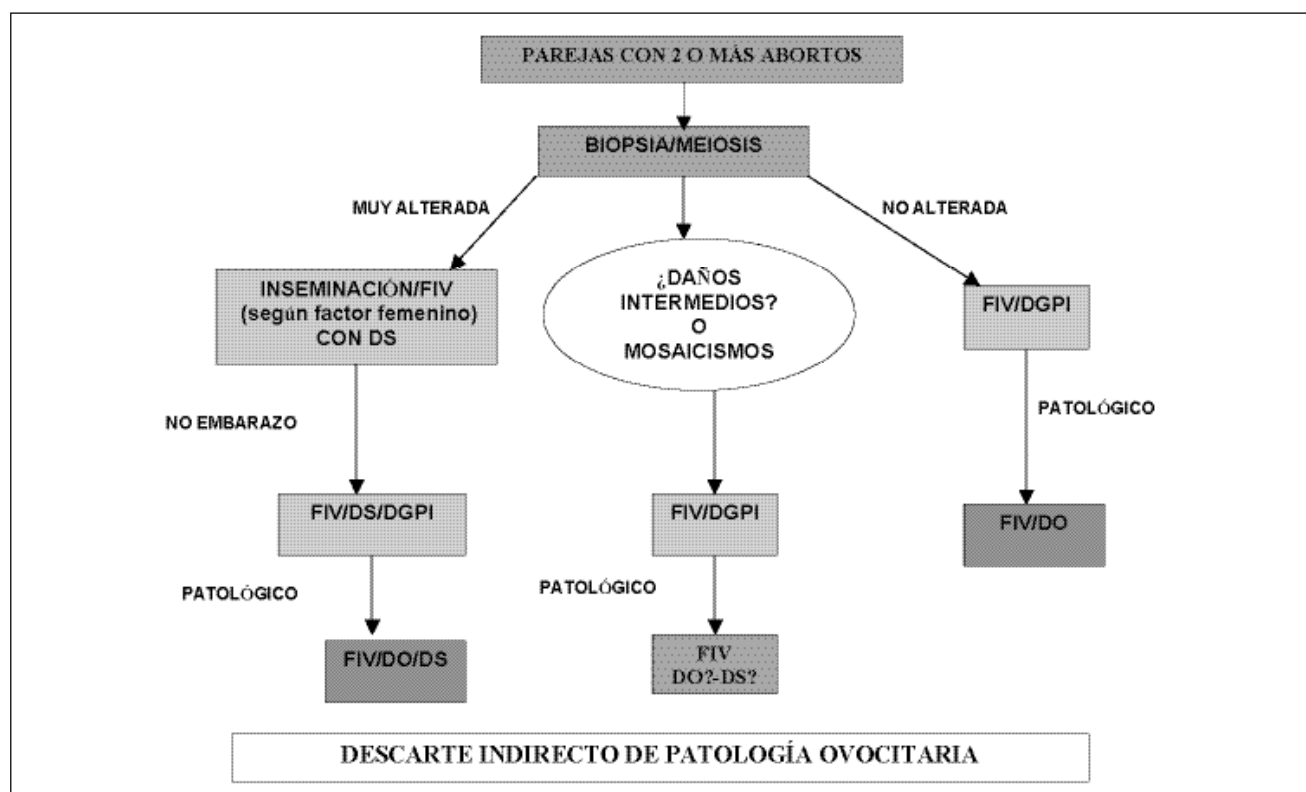


Gráfico 1

Conducta propuesta ante una pareja abortadora sin causa aparente

BIBLIOGRAFÍA

1. **Sánchez-Aparicio P, Riciarelli E.:** Fallos de implantación. *Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana*, 2007; 24(3): 157-160.
2. **Soini S, Ibarreña D, Anastasiadou V, et al.:** The interface between medically assisted reproduction and genetics: technical, social, ethical and legal issues. *ESHRE Monographs* Oct 2006.
3. **Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, et al.:** Preimplantation genetic diagnosis increase the implantation rate in human in vitro fertilization by avoiding the transfer of chromosomally abnormal embryos. *Fert Steril*, 1997; 68: 1128-1131.
4. **Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, et al.:** Preimplantation genetic diagnosis for anuploidies in patients undergoing in vitro fertilization with a poor prognosis: identification of the categories for which it should be proposed. *Fert Steril*, 1999; 72: 837-844.
5. **Findikli N, Kahraman S, Saglam Y, et al.:** Embryo aneuploidy for repeated implantation failure and unexplained recurrent miscarriage. *Reprod Biomed Online*, 2006; 13(1): 38-46.
6. **Rubio C, Simon C, Vidal F, et al.:** Chromosomal abnormalities and embryo development in recurrent miscarriage couples. *Hum Reprod*, 2003; 18(1): 182-188.
7. **Rubio C, Simón C, Blanco J, et al.:** Implications of sperm chromosome abnormalities in recurrent miscarriage. *J Assist Reprod Genet*, 1999; 16: 231-236.
8. **Egozcue J, Templado C, Vidal F, et al.:** Meiotic studies in a series of 1100 infertile and sterile males. *Hum Genet*, 1983; 65: 185-188.
9. **Vendrell JM, García F, Veiga A, Calderón G, et al.:** Meiotic abnormalities and spermatogenic parameters in severe oligoasthenozoospermia. *Hum Reprod*, 1999; 14(2): 375-378.
10. **Egozcue S, Blanco J, Vendrell JM, García F.:** Human Male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion. *Human Reproduction Update*, 2000; 6(1): 93-105.
11. **Egozcue J, Sarrate Z, Codina-Pascual M, Egozcue S, et al.:** Meiotic abnormalities in infertile males. *Cytogenetic and Genome Research*, 2005; 111: 337-342.
12. **Rodrigo L, Rubio C, Mateu E, Simón C et al.:** Analysis of chromosomal abnormalities in testicular and epididymal spermatozoa from azoospermic ICSI patients by fluorescence in situ hybridization. *Hum Rep*, 2004; 19: 118-123.
13. **Giorlandino C, Calugi G, Iaconianni L, et al.:** Spermatozoa with chromosomal abnormalities may result in a higher rate of recurrent abortion. *Fert Steril*, 1998; 70: 576-577.
14. **Guichaoua MR, Perrin J, Metzler-Guillemain C, Saias-Magnan J, et al.:** Meiotic anomalies in infertile men with severe spermatogenic defects. *Hum Reprod*, 2005; 20(7): 1897-1902.
15. **Navarro J, Templado C, Benet J et al.:** Sperm chromosome studies in an infertile man with partial, complete asynapsis of meiotic bivalents. *Hum Reprod*, 1990; 5: 227-229.
16. **Vidal F, Giménez C, Rubio C, et al.:** FISH preimplantation diagnosis of chromosome aneuploidy in recurrent pregnancy wastage. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 15, 309-312.
17. **Alemañ M, López L, Cañadas MC.:** Diagnóstico genético preimplantacional. ¿Cuándo está indicado?. *Revista Iberoamericana de fertilidad y reproducción humana*, 2007; 24(3): 177-182.
18. **Según datos del Grupo de interés de DGP (ASE-BIR) hasta 2005.**