

La causa principal de aborto espontáneo recurrente idiopático es aneuploidía embrionaria

Idiopathic recurrent miscarriage is caused mostly by aneuploid embryos

Brooke Hodes-Wertz, M.D.¹, Jamie Grifo, M.D., Ph.D.¹, Shahin Ghadir, M.D.², Brian Kaplan, M.D.³, Carl A. Laskin, M.D.⁴, Michael Glassner, M.D.⁵ y Santiago Munné, Ph.D.⁶

¹ NYU fertility Center, New York, New York;

² ART Reproductive Center, Beverly Hills, California;

³ Fertility Center of Illinois, Highland Park, Illinois;

⁴ Lifequest Centre for Reproductive Medicine, Bryn Mawr, Pennsylvania;

⁵ Main Line Fertility and Reproductive Medicine, Bryn Mawr, Pennsylvania

⁶ Reprogenetics, Livingston, New Jersey

RESUMEN

Objetivo: Determinar si el diagnóstico genético preimplantacional (DGP) completo con hibridación genómica comparada con arrays (aCGH en sus siglas en inglés, array Comparative Genomic Hybridization) en biopsias de embriones del día 3 o en estadio de blastocito ofrece beneficios para pacientes con aborto espontáneo recurrente (RPL, por sus siglas en inglés, Recurrent Pregnancy Loss) idiopática comparado con las tasas de pérdida previstas.

Diseño: Resumen de series de casos.

Ámbito: Múltiples centros de fertilidad.

Pacientes: Un total de 287 ciclos de parejas presentando RPL idiopático (definido como dos o más pérdidas).

Intervención: El DGP se hizo con biopsia de embriones del día 3 (n=193) o biopsia de blastocitos (n=94), seguido de análisis con aCGH.

Resultados principales medidos: Tasas de aborto espontáneo y de euploidía.

Resultados: Se analizaron 2.282 embriones, el 35% euploides y el 60% aneuploides. Se realizaron 181 ciclos de transferencia de embriones; 100 (55%) resultaron en embarazo con una tasa de implantación del 45% (136 sacos/299 embriones colocados); el 94% de los embarazos fueron continuos (más allá del segundo trimestre) o acabaron en parto. La tasa de aborto espontáneo fue sólo del 6,9% (7/102), comparado con la tasa prevista del 33,5% en una población con RPL como controles y del 23,7% en una

Aceptado 22-Mayo 2012

Correspondencia: JBrooke Hodes-Wertz, M.D., NYU Fertility Center, 660 First Ave., 5th floor, New York, NY 10016 (e-mail: hodesb01@med.nyu.edu).

SOLICITUD REIMPRESIÓN: Secretaría general: Luis A. Quintero. Apdo. Correos 87. 46110 Godella (Valencia) España. Email: contacto@editorialmedica.com

población infértil como controles.

Conclusiones: Los resultados actuales obtenidos con DGP realizado con aCGH indican un descenso significativo en la tasa de aborto espontáneo en pacientes con RPL junto con altas tasas de embarazo. Esto sugiere que la causa principal de RPL son las anomalías cromosómicas embrionarias.

(*Fertil Steril*® 2012; : - . © 2012 por la American Society for Reproductive Medicine.)

(Traducción Rev Iberoam Fert Rep Hum, 2012; N° 3 - 29).

Palabras clave: *Pérdida de embarazo recurrente, diagnóstico genético preimplantacional, aneuploidía*

La pérdida de embarazo recurrente (RPL), definido como dos o más abortos espontáneos (1), causa desánimo incalculable tanto entre pacientes como médicos. La RPL afecta a entre el 2-5% de las parejas (2) y puede deberse a muchos factores, como anomalías genéticas, anatómicas, endocrinas e inmunológicas (1, 3). No obstante, >50% de las parejas que padecen RPL muestran causas desconocidas o idiopáticas (4).

Una causa posible de la RPL idiopática es que la pareja produce más embriones aneuploides de lo normal y que sean éstos los que provocan los abortos espontáneos. Marquard et al. encontró que el análisis cromosómico podría explicar el 80% de los casos de RPL idiopática en mujeres > 35 años (5) y muchos otros autores han observado una tasa más elevada de aneuploidía en pacientes con RPL (4, 6-14). Por lo tanto, la hipótesis de trabajo que justifica el uso del diagnóstico genético preimplantacional (DGP) para la indicación de RPL es que este análisis identificaría los embriones euploides a ser seleccionados para transferencia, lo cual reduciría la tasa de aborto espontáneo en parejas con RPL. De hecho, todos los estudios que han utilizado DGP para esta indicación y que han evaluado la tasa de pérdida del embarazo han observado un descenso en la tasa de aborto espontáneo (15-18).

Estudios tempranos, no obstante, se basaron en la evaluación de embriones en estadio de división con hibridación fluorescente in situ (FISH por sus siglas en inglés, Fluorescence in situ Hybridization) y típicamente sólo evaluaron 7-12 cromosomas. En un meta-análisis (19), se analizaron cuatro estudios observacionales (18, 20-22) donde se hizo la biopsia de 1-2 células de embriones en estadio de división el día 3 en pacientes fértiles con RPL comparando los resultados con los de pacientes con RPL que habían concebido de manera natural. En los cuatro estudios se realizó evaluación con FISH (analizando 3-9 cromosomas). La tasa de aborto espontáneo (TAE) varió entre el 0-10% (media 9%) en pacientes con RPL sometidas a DGP, comparado con el 14-52% (media 28%) en el grupo con concepción natural (P=0,0013).

Con frecuencia es difícil encontrar un grupo de control idóneo en estudios de RPL. Hay que decidir si comparar la pareja con RPL con otras parejas, fértiles e infértiles, sometidas a DGP o únicamente con parejas con un historial de RPL (21). Para obviar este problema, Garrisi et al. (17) y Munné et al. (18) compararon la tasa de pérdida de embarazo con la tasa esperada según Brigham et al. (23) y encontraron que el DGP con FISH reducía las tasas de aborto espontáneo de forma significativa, desde la tasa esperada del 36% al 13% (14). Pacientes a las que se les ofrecieron DGP pero que lo rechazaron presentaron una tasa de aborto espontáneo del 44%. Estos datos también ofrecen una manera de comparar pacientes con RPL que utilizan DGP con controles adecuados. El efecto beneficioso de DGP en la indicación de la RPL se observó en pacientes con RPL tanto fértiles como infértiles en tratamiento con la FIV (17). Sin embargo, estos estudios utilizaron la FISH, evaluaron un número limitado de cromosomas y se basaron en biopsias de embriones del día 3, una práctica que datos recientes indican podía tener un efecto negativo sobre el potencial de implantación del embrión tras la biopsia, mientras que la biopsia en estadio de blastocito no parece tener este efecto deletéreo (24).

Datos recientes demuestran que la aCGH proporciona un análisis más exacto, basado en los 24 cromosomas completos que permite detectar aneuploidías que de otra manera permanecerían sin identificar (24-27). Además, es posible que con la biopsia del blastocito, que permite evaluar más de una célula, se reduce la probabilidad de diagnóstico equivocado. Esto es posible porque en este estadio se pueden analizar mayor número de células y porque parece que el mosaicismo es menos prevalente en blastocitos que en embriones en estadio de división. Cuando el mosaicismo está presente en blastocitos, parece que se distribuye tanto en la masa de células interiores como en trofoectodermo (25, 26). El cultivo de blastocitos es una práctica que se está haciendo más extensa y, cuando se utiliza conjuntamente con DGP, produce tasas de embarazo más elevadas (27-30).

Si la tecnología precoz del DGP basado en la FISH ya demostraba una reducción significativa de abortos espontáneos en pacientes con RPL, es posible que avances actuales como la biopsia de blastocitos combinada con la aCGH posibiliten reducciones mayores en el riesgo de aborto espontáneo a la vez que aumentos en las tasas de embarazos, para hacer posibles transferencias de un único embrión. El objetivo del trabajo actual ha sido determinar posibles efectos beneficiosos del DGP con la aCGH en pacientes con RPL comparado con las pérdidas de embarazo esperadas en pacientes con RPL y con una población de controles infértiles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes

Se incluyeron en el estudio pacientes con cariotipo normal, sin anomalías uterinas ni trastornos endocrinos y con un historial de dos o más abortos espontáneos idiopáticos a partir de ≤ 20 semanas de gestación. Se excluyó a toda portadora de translocaciones. Las pacientes incluyeron 287 ciclos en parejas tanto fértiles como infértiles. Las parejas recibían tratamientos con tecnologías de la reproducción asistida (TRAs) en distintos centros (predominantemente en NYU Fertility Center, Nueva York, EEUU; ART Reproductive Center, Beverly Hills, California, EEUU; Fertility Centers of Illinois, Highland Park, Illinois, EEUU; Lifequest Center for Reproductive Medicine, Toronto, Ontario, Canadá y Main Line Fertility and Reproductive Medicine, Bryn Mawr, Pennsylvania, EEUU). El DGP se realizó con biopsia de embriones del día 3 ($n=193$) o del día 5 ($n=94$) seguido de análisis con aCGH en Reprogenetics, Livingston, Nueva Jersey. Todas las biopsias del día 3 fueron transferidas el día 5.

Adicionalmente, la tasa observada de aborto espontáneo después del DGP en cada sujeto se comparó con la tasa esperada calculada a raíz del historial de cada uno según 1) los parámetros de predicción identificados en el estudio de Brigham et al. (edad, número de pérdida previas) (23) y utilizados en estudios similares anteriores de RPL (17, 18); y 2) con la tasa esperada de aborto espontáneo en una población infértil que se utilizó como control tal y como se informó en los EEUU a la Society of Assisted Reproduction Technology (SART) (Sociedad de Tecnología de la Reproducción Asistida) en función de la edad materna y el centro clínico (excluyendo a cinco pacientes de Lifequest Centre for Reproductive Medicine, Toronto, Ontario).

Las variables en los grupos del estudio se compararon con análisis chi cuadrado y la prueba t exacta de Fisher según el caso. Los resultados específicos medidos incluyeron la

tasas de euploidía, implantación (TI), embarazos clínicos y embarazos en curso terminados en parto vivo. El porcentaje de embriones euploides se calculó utilizando el número de embriones euploides dividido por el número total de embriones a los que se realizó biopsia. La TI se calculó como el número de sacos gestacionales intrauterinos visualizados con ecografía por número total de embriones transferidos. El embarazo clínico se definió como la presencia de saco(s) gestacional(es) intrauterino(s) con actividad cardíaca fetal documentada por ecografía. Un embarazo en curso se definió como uno que había superado el segundo trimestre y un aborto espontáneo se consideró como una pérdida después de < 20 semanas.

Procedimiento DGP

Se utilizaron diferentes métodos de biopsia de embriones el día 3, según el centro de fertilidad. En general, todos los centros utilizaron o bien ácido o bien láser para romper la zona pelúcida con técnicas previamente descritas (31, 32). Para la biopsia de blastocitos, todos los centros hicieron eclosionar el embrión el día 3 o 5 de desarrollo y aislaron un trozo de trofoectodermo extruido el día 5 que cortaron con láser (varios modelos y fabricantes). Las células objeto de biopsia se colocaron en tubos Eppendorf, se congelaron en hielo seco y se transportaron el mismo día o durante esa misma noche a Reprogenetics para el DGP. Este análisis se realizó con el método descrito por Gutierrez-Mateo et al. sin modificaciones (25). Con la biopsia de trofoectodermo, se hizo el muestreo de varias células, mientras que con biopsias en estadio de división sólo es posible analizar una, o al máximo dos células (33).

Todas las pacientes dieron su consentimiento informado por escrito según el protocolo del comité de ética correspondiente (Institutional Review Board [IRB]). Se determinó que, tratándose de un análisis retrospectivo con datos des-identificados, este estudio no necesitaba aprobación del IRB.

RESULTADOS

Se analizaron un total de 2.282 embriones (1.710 con biopsia el día 3, 572 en estadio de blastocito) de 44 centros y 287 ciclos. La edad materna media en el momento de la biopsia era de $36,7$ años $\pm 4,2$ (rango 21-45) en pacientes con una media de $3,3 \pm 1,2$ (rango 2-7) pérdidas anteriores. La comparación entre las biopsias a 3 días y las a día 5 reveló que no existían diferencias estadísticas en cuanto a la edad materna ni el número de pérdidas previas. Además, la comparación entre sujetos < 35 y ≥ 35 años de edad indicó que tampoco había diferencias en cuanto al número de pérdidas anteriores ni el día de la biopsia.

TABLA 1

Anomalías cromosómicas en mujeres con pérdidas recurrentes del embarazo.

Días de biopsia	Edad materna, años	No. de ciclos	No. medio de embriones sometidos a biopsia (a)	Embriones euploides (a)
Día 3	36.5 ±4.2	193	8.8 ±4.9	31.2% (534/1,710)
Día 5	36.9 ±4.0	94	6.1 ±3.6	47.0% (269/572)
Total	36.7 ±4.2	287	8.0 ±4.7	35.2% (803/2,282)

(a) P < 0,001 comparando día 3 con 5.

Hodes-Wertz. Idiopathic recurrent miscarriage and aneuploidy (Aborto espontáneo recurrente idiopático y aneuploidía). Fertil Steril 2012.

TABLA 2

Resultados de embarazos por día de biopsia

Día de biopsia;	Edad materna años	No. de ciclos con transferencia y datos sobre embarazo	Embriones euploides en ciclos de transferencias (a)	Tasas de implantación	Tasas de embarazos clínicos (a)
Día 3	36.2±3.9	115	33.2% (356/1072)	43.1% (87/202)	50.4% (58/115)
Día 5	36.4 ±4.2	66	49.4% (229/464)	50.5% (49/97)	63.6% (42/66)
Total	36.2 ±4.0	181	38.1% (585/1536)	45.5% (136/299)	55.2% (100/181)

(a) P < 0,001 comparando día 3 con 5.

Hodes-Wertz. Idiopathic recurrent miscarriage and aneuploidy (Aborto espontáneo recurrente idiopático y aneuploidía). Fertil Steril 2012.

Resultados de aneuploidía

De los 2.282 embriones, el 35,2% (n=803) resultaron ser euploides, el 60,8% (n=1.388) aneuploides y el 4,0% (n=9) no analizables (tabla 1). Se realizó la biopsia de una media de $8,9 \pm 4,7$ (rango 1-35) embriones encontrando que $2,8 \pm 2,9$ (rango 0-21) eran normales. Una proporción significativamente mayor de embriones euploides se encontraron con las biopsias del día 5 comparado con las del día 3 (47,0% vs. 31,2%; P < 0,0001; ratio de riesgo 1,51, intervalo de confianza [95% IC] del 95% d 1,35-1,68; tabla 1). Cabe señalar que en 52 de los ciclos (18,1%) no se encontraron embriones euploides para su transferencia. De estos ciclos, 34 se realizaron después de biopsia el día 3. La probabilidad de no tener embriones aneuploides aumentaba con la edad, desde el 5% (4/80) en mujeres < 35 años hasta el 23% (48/207) en mujeres ≥ 35 años de edad (P < 0,001).

Transferencias y resultados de embarazos

De los 287 ciclos de biopsias, 181 resultaron en transferencias (en una paciente se realizaron dos transferencias de una cohorte de biopsia). En 52 ciclos no se encontraron embriones normales para transferencia, en 4 ciclos no se había realizado la transferencia en el momento de recopilar

los datos del estudio y en 51 ciclos (17%) los datos sobre la transferencia y el resultado del embarazo no estuvieron disponibles. Reprogenetics no tiene acceso al registro de embarazos de los centros que utilizan sus servicios, sino que sólo recopila la información de aquellos que les mandan la información. Los datos de los ciclos que se perdieron en el seguimiento correspondían a pacientes significativamente menores ($35,4 \pm 4,5$; P = 0,002), quienes tuvieron más embriones a los que se hizo biopsia (9,7 vs. 7,6; P = 0,004) y más embriones normales (3,9 vs. 2,6; P = 0,003) que en la muestra total, aunque no hubo diferencia en el número de pérdidas anteriores. No obstante, los ciclos perdidos en el seguimiento se incluyeron en este estudio para calcular la tasas arriba mencionadas de aneuploidía.

Los ciclos para los que se obtuvo información para el seguimiento eran similares a los de la muestra total. La edad media en el momento de la biopsia era de $36,9 \pm 4,1$ años y las pacientes tenían un historial de $3,3 \pm 1,2$ pérdidas anteriores. En los 181 ciclos de transferencias, se hizo la transferencia de una media de $1,65 \pm 0,65$ (rango 1-4) embriones. La tasa global de embarazos en los que se produjo implantación era del 56,4% (n=102). La tasa global

TABLA 3

Tasa de pérdida de embarazo comparada con la tasa de pérdida esperada por día de biopsia

Día de biopsia	Nº de ciclos de embarazo con implantación	Tasa esperada de abortos en pacientes RPL	Tasa esperada de abortos según datos SART	Tasa de abortos después de PGS
Día 3	59	32.9%	22.9%	8.5% (5/59)
Día 5	43	34.6%	24.0%	4.7% (2/43)
Total	102	33.5%	23.7%	6.9% (7/102)

Hodes-Wertz. Idiopathic recurrent miscarriage and aneuploidy (Aborto espontáneo recurrente idiopático y aneuploidía). Fertil Steril 2012.

TABLA 4

Tasa de pérdida de embarazo comparada con la tasa esperada según edad.

Edad materna años	Nº de ciclos de embarazo	Tasa esperada en paciente con RPL;	Tasa esperada según datos SART	Tasa de pérdida después de DGP
<35	30	26.3%	14.4%	3.3% (1/30)
≥35	70	36.7%	27.1%	8.6% (6/70)
Total	102	33.5%	23.7%	6.9% (7/102)

Hodes-Wertz. Idiopathic recurrent miscarriage and aneuploidy (Aborto espontáneo recurrente idiopático y aneuploidía). Fertil Steril 2012.

de implantaciones era del 45,5% (136/299) por embrión transferido. Se encontró ritmo cardíaco fetal en 133 de los 136 sacos detectados para una tasa global de embarazos clínicos del 55,2% (100/181 transferencias). En el momento de redactar este trabajo, la tasa combinada de embarazos en curso y partos vivos era del 92,1% (94/102).

Se realizó la transferencia el día 5 de un número significativamente mayor de embriones con biopsia del día 3 (media $1,76 \pm 0,64$) que con biopsia en estadio de blastocito (media $1,47 \pm 0,61$; $P = 0,004$). No se observaron diferencias significativas en el número medio de sacos gestacionales o actividad cardíaca fetal entre los dos grupos. Se produjeron tasas mayores de embarazos con implantación (65% [43/66] vs. 51% [59/115]) con biopsia el día 3 ($P = 0,04$) y de embarazos clínicos en el grupo con biopsia en estadio de blastocito (tabla 2). No se detectó diferencia significativa entre la tasa de embarazos con implantación por transferencia, implantación o embarazos clínicos entre los 5 grupos de edades según la clasificación de la SART (< 35, 35-37, 38-40, 41-42 y > 42 años). Tampoco se detectó diferencia significativa cuando se compararon pacientes < 35 con las ≥ 35 en el momento de la biopsia.

Tasas de aborto espontáneo

Se produjeron 7 pérdidas en mujeres con embarazos con

implantación, por lo que la tasa global de aborto espontáneo era del 6,9% (7/102 embarazos). Tres de estos siete embarazos correspondían a embarazos gemelares con la detección de dos ritmos cardíacos que se perdieron. También hubieron dos embarazos gemelares que se perdieron en los que sólo se detectó un polo fetal sin ritmo cardíaco. Dos embarazos simples se perdieron, uno sin ritmo cardíaco fetal y uno que se perdió después de documentarlo. Estas 7 pacientes tenían la edad media de 37,0 años en el momento de la recuperación de los embriones y todas tenían un historial de dos pérdidas anteriores, con la excepción de una que habían tenido tres. Sólo se analizaron los productos de la concepción en una de las pérdidas (gemelar). Éstas reportaron una trisomía 6 y un mosaico 45XO/46XX. Un nuevo análisis de ADN amplificado de la biopsia embrionaria con aCGH reveló el mismo diagnóstico euploide que con el DGP, lo que apunta hacia el mosaicismo como la causa de diagnóstico erróneo.

Se calculó la tasa esperada de pérdidas en las pacientes con pérdidas recurrentes en primer lugar según las tasas esperadas de Brigham et. al (basadas en la edad materna y pérdidas anteriores) (17, 18, 23) y una segunda vez según el método de la base de datos de la SART (basada en la edad y la localización de la clínica). Asimismo se detectó

un aumento que no era significativo en la tasa de pérdida de embarazo entre las biopsias del día 3 (8,5%, 5/59 embarazos clínicos) y del día 5 (4,7%, 2/27 embarazos clínicos). Sin embargo, la tasa de pérdidas era mucho más bajo que la esperada según Brigham et. al (33,5%) y la SART (23,7%) tanto para biopsias del día 3 como las del día 5 (tabla 3). También hubo diferencia, pero no significativa, en la tasa de pérdida de embarazo cuando se compararon pacientes \geq 35 años (8,5%, 6/70 embarazos clínicos) y $<$ 35 años (3,3% 1/30 embarazos clínicos) y en ambos grupos la tasa de pérdida fue inferior a la esperada tanto según Brigham et. al y SART (tabla 4).

DISCUSIÓN

Los resultados tempranos obtenidos con DGP basado en la FISH (15-18) indicaban que la tasa de abortos espontáneos en pacientes con RPL idiopática se había reducido significativamente desde el 26% hasta el 10% en pacientes $<$ 35 años, y desde el 39% hasta el 13% en pacientes mayores. No obstante, no se ha realizado más que un estudio aleatorizado con controles en esta población, que sorprendentemente no incluye datos sobre abortos espontáneos (21). Los resultados del DGP que se realiza hoy en día con la tecnología aCGH indican que se ha obtenido una disminución mayor de la tasa de abortos espontáneos en pacientes con RPL idiopática (desde el 5-7%). Esto se debe seguramente a una tasa inferior de errores en el diagnóstico con la nueva tecnología comparado con cuando se utilizaba la FISH, así como al hecho de poder analizar mayor número de cromosomas. En un estudio anterior, nuestro grupo comunicó una tasa de errores con FISH del 5% (34) comparado con el 2% con aCGH (25), técnica de análisis que detectó un 15% más de anomalías cromosómicas que la FISH con 12 sondas (35). Además la realización de la biopsia de trofoectodermo el día 5 permite examinar más células, lo cual disminuye aún más la tasa de errores asociados con mosaicismo (33).

La realización de la biopsia de trofoectodermo el día 5 ofrece claras ventajas sobre la biopsia el día 3 en cuanto a la tasa de embarazo, incluso con la transferencia de menor número de embriones. Los embriones que habían sobrevivido hasta el día 5 y eran susceptibles de biopsia tenía una probabilidad significativamente mayor de ser euploides comparados con todos los embriones del día 3. La biopsia de trofoectodermo en conjunto con el análisis con aCGH ofrecen la ventaja añadida de diagnóstico más fiable y más exacto ya que permite examinar mayor cantidad de ADN y mayor número de cromosomas (33). Además, estudios preliminares sugieren que a diferencia de la biopsia de embriones el día 3, la biopsia de blastocitos no ejerce ningún efecto nocivo sobre la implantación embrionaria (24, 36).

Cuando se combina con el cribado completo de los cromosomas, tal y como se puede hacer con la aCGH, esta técnica puede aumentar de forma significativa la tasa de embarazo en comparación con grupos de controles (15-18). Las tasas de abortos espontáneos y de implantación en el grupo sometido a biopsia de embriones el día 5 eran mejores comparadas con los resultados del grupo sometido a biopsia el día 3, aunque la diferencia no fuera significativa. Es posible que con un tamaño muestral superior, estas diferencias lleguen a ser significativas. Cabe señalar que si el 18% de las pacientes sin embriones euploides según el DGP no se hubieran sometido al procedimiento, hubieran recibido la transferencia de un embrión aneuploide, lo cual hubiera desembocado o bien en un ciclo de FIV fallido con una tasa de embarazo significativamente inferior (43% [100/233]; $P = 0,006$) o, lo que es peor, en otra pérdida de embarazo. Con la implantación de estos embriones, la tasa de pérdidas hubiera ascendido posiblemente hasta el 38%. Este estudio descriptivo ayuda a esclarecer lo que se viene llamando RPL "sin etiología conocida" y demuestra claramente que en la mayoría de los casos la pérdida del embarazo se debe a la aneuploidía.

Este estudio presenta varias limitaciones. Se trata de un estudio descriptivo con algunas desventajas inherentes. Una de ellas es la ausencia de un grupo de control, lo cual imposibilita hacer asociaciones estadísticas. Es de esperar, no obstante, que el planteamiento de nuestra hipótesis haga posible realizar estudios de investigación más sofisticados. Sigue siendo difícil determinar la composición del grupo de control más idóneo para pacientes con RPL. La situación se complica más si se toma en cuenta que se les ofrece DGP a la mayor parte de las pacientes con RPL en tratamiento con FIV, por lo que no se ha realizado ningún ensayo aleatorizado de control en pacientes con RPL. Algunos incluso considerarían no ético realizar un ensayo de esas características a la luz de los datos disponibles actualmente. Un estudio no aleatorizado sugeriría unas tasas más bajas de aborto espontáneo con el uso del DGP en esta población. Sin un grupo de control adecuado, es imposible comparar directamente la tasa de aneuploidía.

Otra limitación es la pérdida de datos para el seguimiento, y esto implica un sesgo de selección. Sin embargo, las pacientes para las que sí había datos sobre transferencias tenían características basales similares a las de la muestra en su conjunto, mientras las pacientes no incluidas en el seguimiento eran más jóvenes. Es posible que la inclusión de éstas últimas hubiera mejorado nuestros resultados. Los hallazgos de este estudio se pueden extrapolar a una población más amplia de pacientes con RPL ya que provienen de centros de todo el país (EEUU). No obstante, este mismo

hecho implica que existe una gran variabilidad en protocolos de tratamientos y métodos de laboratorio que puede, a su vez, influir en los resultados y en las tasas de reproducción. La tasa general de abortos espontáneos en este estudio era reducida, lo cual dificulta comparaciones de métodos y comparaciones por edades.

Los resultados de este estudio confirman que la RPL idiopática se debe en la mayoría de los casos a anomalías cromosómicas con una tasa de abortos espontáneos residual del 6,9%. Estas pérdidas residuales demuestran que existen factores aparte de la aneuploidía, mosaicismo o anomalías genéticas no detectadas con la resolución de esta tecnología que pueden causar abortos espontáneos. Es posible que las nuevas tecnologías de aCGH y biopsia de blastocitos finalmente ofrezcan a pacientes con RPL no sólo una explicación sino también una cura.

Agradecimientos: Los autores quisieran agradecer al personal de embriología, enfermería y medicina de los centre de fertilidad que han prestado atención a las pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2008;90:S60.
2. Stephenson M, Kutteh W. Evaluation and management of recurrent early pregnancy loss. *Clin Obstet Gynecol* 2007;50:132–45.
3. Jauniaux E, Farquharson RG, Christiansen OB, Exalto N. Evidence-based guidelines for the investigation and medical treatment of recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2006;21:2216–22.
4. Stephenson MD. Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples. *Fertil Steril* 1996;66:24–9.
5. Marquard K, Westphal L, Milki A, Lathi R. Etiology of recurrent pregnancy loss in women over the age of 35. *Fertil Steril* 2010;94:1473–7.
6. Daniely M, Aviram-Goldring A, Barkai G, Goldman B. Detection of chromosomal aberration in fetuses arising from recurrent spontaneous abortion by comparative genomic hybridization. *Hum Reprod* 1998;13:805–9.
7. Fritz B, Hallermann C, Olert J, Fuchs B, Bruns M, Aslan M, et al. Cytogenetic analyses of culture failures by comparative genomic hybridisation (CGH)— Re-evaluation of chromosome aberration rates in early spontaneous abortions. *Eur J Hum Genet* 2001;9:539–47.
8. Pellicer A, Rubio C, Vidal F, Minguez Y, Gimenez C, Egozcue J, et al. In vitro fertilization plus preimplantation genetic diagnosis in patients with recurrent miscarriage: an analysis of chromosome abnormalities in human preimplantation embryos. *Fertil Steril* 1999;71:1033–9.
9. Simon C, Rubio C, Vidal F, Gimenez C, Moreno C, Parrilla JJ, et al. Increased chromosome abnormalities in human preimplantation embryos after in-vitro Fertilization in patients with recurrent miscarriage. *Reprod Fertil Dev* 1998; 10:87–92.
10. Vidal F, Gimenez C, Rubio C, Simon C, Pellicer A, Santalo J, et al. FISH preimplantation diagnosis of chromosome aneuploidy in recurrent pregnancy wastage. *J Assist Reprod Genet* 1998;15:310–3.
11. Sullivan AE, Silver RM, LaCoursiere DY, Porter TF, Branch DW. Recurrent fetal aneuploidy and recurrent miscarriage. *Obstet Gynecol* 2004;104:784–8.
12. Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP. Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. *Hum Reprod* 2002;17:446–51.
13. Ogasawara M, Aoki K, Okada S, Suzumori K. Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril* 2000;73:300–4.
14. Carp H, Toder V, Aviram A, Daniely M, Mashiach S, Barkai G. Karyotype of the abortus in recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2001;75:678–82.
15. Werlin L, Rodi I, DeCherney A, Marelllo E, Hill D, Munn S. Preimplantation genetic diagnosis as both a therapeutic and diagnostic tool in assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2003;80:467–8.
16. Rubio C, Simon C, Vidal F, Rodrigo L, Pehlivan T, Remohi J, et al. Chromosomal abnormalities and embryo development in recurrent miscarriage couples. *Hum Reprod* 2003;18:182–8.
17. Garrisi JG, Colls P, Ferry KM, Zheng X, Garrisi MG, Munn S. Effect of infertility, maternal age, and number of previous miscarriages on the outcome of preimplantation genetic diagnosis for idiopathic recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2009;92:288–95.
18. Munn S, Chen S, Fischer J, Colls P, Zheng X, Stevens J, et al. Preimplantation genetic diagnosis reduces pregnancy loss in women aged 35 years and older with a history of recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 2005;84:331–5.
19. Musters AM, Repping S, Korevaar JC, Mastenbroek S, Limpens J, van der Veen F, et al. Pregnancy outcome after preimplantation genetic screening or natural conception in couples with unexplained recurrent miscarriage: systematic review of the best available evidence. *Fertil Steril* 2011;95: 2153–7, 2157.e1–3.
20. Wilding M, Forman R, Hogewind G, di Matteo L, Zullo F, Capiello F, et al. Preimplantation genetic diagnosis for the treatment of failed in vitro fertilization embryo transfer and habitual abortion. *Fertil Steril* 2004;81: 1302–7.
21. 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;83:393–7; quiz 525–6.
22. Mantzouratou A, Mania A, Fragouli E, Xanthopoulou L, Tashkandi S, Fordham K, et al. Variable aneuploidy mechanisms in embryos from couples with poor reproductive histories undergoing preimplantation genetic screening. *Human Reproduction* 2007;22:1844–53.
23. Brigham SA, Conlon C, Farquharson RG. A longitudinal study of pregnancy outcome following idiopathic recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 1999;14: 2868–71.
24. Treff NR, Ferry KM, Zhao T, Su J, Forman EJ, Scott RT Jr. Cleavage stage embryo biopsy significantly impairs embryonic reproductive

-
- potential while blastocyst biopsy does not: a novel paired analysis of cotransferred biopsied and nonbiopsied sibling embryos. *Fertil Steril* 2011;96:S2.
25. 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.
 26. Capalbo A, Wright G, Themaat L, Elliott T, Rienzi L, Nagy ZP. Fish reanalysis of inner cell mass and trophectoderm samples of previously array-CGH screened blastocysts reveals high accuracy of diagnosis and no sign of mosaicism or preferential allocation. *Fertil Steril* 2011;96:S22.
 27. Capalbo A, Wright G, Elliott T, Slayden S, Mitchell-Leef D, Nagy ZP. Efficiency of preimplantation genetic screening (PGS) using array-CGH compared to matched control IVF patient populations with and without day-3 PGS fish. *Fertil Steril* 2011;96:S59.
 28. Fragouli E, Alfarawati S, Daphnis DD, Goodall NN, Mania A, Griffiths T, et al. Cytogenetic analysis of human blastocysts with the use of FISH, CGH and aCGH: scientific data and technical evaluation. *Hum Reprod* 2011;26: 480–90.
 29. Grifo JA, Flisser E, Adler A, McCaffrey C, Krey LC, Licciardi F, et al. Programmatic implementation of blastocyst transfer in a university-based in vitro fertilization clinic: maximizing pregnancy rates and minimizing triplet rates. *Fertil Steril* 2007;88:294–300.
 30. Rodrigo LMP, Cervero A, Mateu E, Mercader A, Vidal C, Giles J, et al. Successful clinical application of array CGH for 24 chromosome aneuploidy screening on day 3 preimplantation embryos: high efficiency and reliability. *Hum Reprod* 2011;26(Suppl 1):i289.
 31. Grifo J, Talebian S, Keegan D, Krey L, Adler A, Berkeley A. Ten-year experience with preimplantation genetic diagnosis (PGD) at the New York University School of Medicine Fertility Center. *Fertil Steril* 2007;88: 978–81.
 32. Evsikov S, Verlinsky Y. Mosaicism in the inner cell mass of human blastocysts. *Hum Reprod* 1998;13:3151–5.
 33. Schoolcraft WB, Fragouli E, Stevens J, Munne S, Katz-Jaffe MG, Wells D. Clinical application of comprehensive chromosomal screening at the blastocyst stage. *Fertil Steril* 2010;94:1700–6.
 34. Colls P, Escudero T, Cekleniak N, Sadowy S, Cohen J, Munn#e S. Increased efficiency of preimplantation genetic diagnosis for infertility using “no result rescue.” *Fertil Steril* 2007;88:53–61.
 35. Munn#e S, Fragouli E, Colls P, Katz-Jaffe M, Schoolcraft W, Wells D. Improved detection of aneuploid blastocysts using a new 12-chromosome FISH test. *Reproductive biomedicine online* 2010;20:92–7.
 36. Capalbo A, Rienzi L, Buccheri M, Maggiulli R, Sapienza F, Romano S, et al. The worldwide frozen embryo reservoir: methodologies to achieve optimal results. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1221:32–9.6