

# Præimplantationsgenetisk testning for aneuploidi

Viktoria Holmqvist<sup>1</sup>, Laura Kirstine Soenderberg Roos<sup>2</sup>, Kristin Ros Kjartansdottir<sup>2</sup>, Morten Dunø<sup>2</sup>, Morten Rønn Petersen<sup>1</sup>, Christina Hnida<sup>3</sup>, Inge Søkilde Pedersen<sup>4,5</sup>, Anja Ernst<sup>4</sup>, Christian Liebst Frisk Toft<sup>4</sup>, Tue Diemer<sup>6</sup>, Hans Jakob Ingerslev<sup>3</sup>, Anja Pinborg<sup>1</sup> & Kristine Løssl<sup>1</sup>

## STATUSARTIKEL

1) Fertilitetsklinikken, Juliane Marie Centret, Rigshospitalet

2) Klinisk Genetisk Klinik, Rigshospitalet

3) Fertilitetsklinikken, Aalborg

Universitetshospital

4) Molekylær Diagnostik, Aalborg

Universitetshospital

5) Klinisk Institut, Aalborg Universitet

6) Klinisk Genetisk Afdeling, Aalborg

Universitetshospital

Ugeskr Læger  
2019;181:V12180849

Præimplantationsgenetisk testning (PGT), også kaldet ægsortering, er en teknik, hvor man på et tidligt udviklingsstadium tester embryoner forud for oplægning i livmoderen [1]. Der skelnes mellem præimplantationsgenetisk testning for aneuploidi (PGT-A), hvor alle 23 kromosomer undersøges for antalsfejl, præimplantationsgenetisk testning for monogene sygdomme (PGT-M), hvor embryonerne undersøges for en alvorlig, kendt, monogen sygdom og præimplantationsgenetisk testning for strukturelle forandringer (PGT-SR), hvor embryonerne undersøges for en specifik familiær cyto-genetisk variation med mulighed for kombination af metoderne. PGT udføres i forbindelse med in vitro-fertilisering (IVF), hvor kvinden tager gonadotropiner for at modne optimalt 8-15 æg, der aspireres og fertiliseres in vitro. PGT-M og PGT-SR tilbydes i offentligt regi som et alternativ til prænatal diagnostik til kvinder/par, hvor der foreligger en kendt, familiær, monogen sygdom eller cytogenetisk variation, også selvom kvinden/parret er fuldt fertile. Hvis der ikke er tale om en kendt genetisk sygdom eller strukturelle DNA-forandringer, kan IVF med PGT-A kun tilbydes inden for rammerne af videnskabelige protokoller i offentligt regi i Danmark. I denne artikel vil vi søge at give et overblik over den nuværende viden om PGT-A og teknikkenes fordele og ulemper.

## BAGGRUND

En stor andel af præimplanterede embryoner udviser aneuploidi, hvilket danner baggrund for, at PGT-A me-

nes at kunne forbedre resultaterne ved IVF [1]. Andelen af kromosomalt abnorme embryoner stiger med kvindens alder, fra ca. 30% hos kvinder < 30 år til 80-90% hos kvinder > 40 år [2], hvilket formodes at være den væsentligste årsag til den aldersrelaterede faldende chance for at opnå graviditet og den stigende abortrisiko [3]. Hypotesen er, at aneuploide embryoner ikke implanterer eller ender som tidlige spontane aborter, og at PGT-A med selektiv oplægning af euploide embryoner tænkes at øge chancen for graviditet pr. ægoplægning og at mindske risikoen for abort. Formodningen har været, at især kvinder ≥ 38 år kunne have fordel af screening for aneuploidi [4].

De første fødsler efter PGT-A rapporteredes i 1995. På dette tidspunkt blev PGT-A version 1 (v1) udført ved at bioptere 1-2 celler fra embryonet på dag tre i embryoudviklingen (6-10-cellestadiet) efterfulgt af kromosomanalyse primært ved fluorescens in situ-hybridisering (FISH) af udvalgte kromosomer. PGT-A v1 blev anvendt i over et decennium, men i 2011 publicerede *Mastenbroek et al* [1] en metaanalyse med ni randomiserede, kontrollerede studier (RCT), hvor de hverken fandt evidens for højere fødselsrate eller reduceret abortrate med PGT-A v1. Tværtimod fandtes signifikant lavere fødselsrate hos kvinder ≥ 38 år og hos kvinder med »implantationsfejl« (gentagne oplægninger af embryoner af god kvalitet uden opnåelse af graviditet). Den manglende effekt af PGT-A v1 er blevet tilskrevet flere forhold: FISH muliggør kun analyse af et begrænset antal kromosomer [4], og på embryonets udviklingsstadium dag tre er der en naturlig høj forekomst af mosaicisme [5].

I dag anvendes PGT-A version 2 (v2), der muliggør analyse af alle kromosomer på en gang ved *comprehensive chromosome screening* (CCS) [6]. Desuden har bedre dyrkningsmetoder og nedfrysningsteknikker ført til et paradigmeskifte i tidspunktet for embryonbioptering, der nu primært foregår som trofektoderm (TE)-biopsi (4-10 celler) på blastocyststadiet dvs. dag 5-6 efter ægudtagning og fertilisering [6, 7]. Blastocysten består af 100-150 celler, som er uddifferentierede i en indercellemasse, der bliver til fosteret, og trofektodermceller, der bliver til de placentale celler af føtal oprindelse. På blastocyststadiet tåler embryonet bedre

## HOVEDBUDSKABER

- ▶ Præimplantationsgenetisk testning for aneuploidi (PGT-A) har til formål at frasortere kromosomalt aneuploide embryoner før oplægning i livmoderen ved in vitro-fertilisering (IVF).
- ▶ Formålet er at identificere og oplægge euploide embryoner i forventning om at øge chancen for implantation, reducere risikoen for abort og samlet set øge chancen for fødsel af et raskt barn.
- ▶ PGT-A er ikke en del af det offentlige IVF-behandlings-tilbud i Danmark.

bioptering, og det øgede celleantal i biopsien menes at øge analysesikkerheden og dermed muligheden for korrekt at diagnosticere aneuploidi/mosaicisme og reducere antallet af inkonklusive og falsk positive svar [8], men netop dette spørgsmål er omdiskuteret.

Alle embryoner i PGT-programmer nedfryses efter TE-biopsien for at sikre tid til kromosomanalysen. Da graviditetschancen ikke forringes ved oplægning af nedfrosne, optøede blastocyster sammenlignet med ved oplægning med embryoner, som ikke har været nedfrosset [9], vil nedfrysning udelukkende have betydning for ventetiden til ægoplægning for parret. Når der forelægges svar på PGT-A, lægges de euploide blastocyster op i uterus et ad gangen i de efterfølgende cykli.

### MOLEKYLÆRGENETISK METODE

Forskellige metoder kan anvendes til CCS ved PGT-A v2 og har det fælles, at alle kromosomer kan analyseres samtidig [10]. Metoderne er: kvantitativ polymerasekædereaktion [11], *array*-komparativ genomisk hybridisering (*array*-CGH) [12], *single nucleotide polymorphism array* [13] og næste generations-sekventering (NGS) [14]. Den nyeste CCS-metode er NGS, hvor der efter opformering af DNA'et (helgenomamplificering) foretages en parallelsekventering af alle kromosomerne. Mængden af sekvensdata for de enkelte regioner på kromosomerne sammenlignes med et referencegenom, og hermed kan man identificere de områder, evt. hele kromosomer, hvor der er for lidt eller for meget kromosomalt materiale ift. det forventede [14]. I litteraturen beskrives sekvenseringsteknologien som hurtigere og potentielt mere omkostningseffektiv, og den kan være mere sensitiv end f.eks. *array*-CGH, der lige nu er den hyppigst anvendte metode i Europa og USA [6].

### MOSAICISME

Mosaicisme forekommer hyppigt i de tidlige stadier af den embryonale udvikling. Mosaicisme betyder tilstedeværelse af to eller flere cellelinjer med forskellige genotyper [15] og er en potentiel fejlkilde ved PGT-A. Hvis der er mosaicisme i et embryon, kan man risikere, at biopsien ikke repræsenterer hele embryonet. Analysen kan altså vise, at embryonet er aneuploidt, selvom aneuploidien ikke er til stede i den øvrige del af trofektodermen eller i den indre cellemasse. Omvendt kan analysen være normal, selvom der er en aneuploid cellelinje et andet sted i embryonet. Mosaicisme opstår typisk ved en forkert mitotisk deling, så der i dattercellerne ender med at være celler med hhv. trisomi og monosomi. Hvis den mitotiske fejl indtræffer tidligt i udviklingen, i f.eks. to- eller firecellestadiet, vil en større andel af cellerne være euploide, end hvis det sker senere. De euploide cellelinjer i præimplantationsembryoner med mosaicisme fortsætter ikke nød-

vendigvis med at udvikle sig. I mus foregår der en høj grad af selektion til fordel for de normale cellelinjer i den tidlige embryonale udvikling [16]. Dette illustreres også i humane studier, hvor der ses lavere aneuploidirater på dag 5-6 end på dag 3, formentlig pga. en bedre overlevelse af de euploide cellelinjer/embryoner [17]. Embryoner med mosaiktilstand er påvist at kunne implanteres og føre til fødsel af raske børn [18], og fund af mosaicisme kan også være et analyseartefakt f.eks. som følge af fejl i DNA-amplifikation (falsk positiv) [19].

### KLINISK EVIDENS FOR PRÆIMPLANTATIONSGENETISK TESTNING FOR ANEUPLOIDI VERSION 2 SAMT DISKUSSION AF DENNE

I **Tabel 1** resumeres de randomiserede studier, der er publiceret om PGT-A med CCS. Fælles for de første tre studier [20-22] i tabellen er, at antallet af inkluderede patienter er relativt lille, og at patientpopulationerne er udvalgt ud fra en formodet god prognose (ung alder, normal ægreserve og/eller få tidligere mislykkede behandlinger). Resultaterne kan dermed ikke uden videre overføres til andre patientgrupper. Endvidere rapporteres og konkluderes der på resultaterne efter én oplægning af embryon(er). I ingen af studierne har man rapporteret om kumuleret fødselsrate, som er chancen for fødsel efter brug af alle embryonerne fra en ægudtagning, hvilket er det ultimative effektmål [26]. Gevinsten ved en PGT-A skal afvejes mod en behandlingsstrategi, hvor embryonerne successivt oplægges, og graviditet og fødsel er »testen« på embryonet. Frasortering af embryoner på baggrund af PGT-A vil i bedste fald (100% diagnostisk nøjagtighed og ingen skade på embryonerne) ende med den samme kumulerede fødselsrate som uden testen, men reducere antallet af behandlinger og aborter (efter oplægning af sandt euploide embryoner) og minimere tid til fødsel. Imod PGT-A taler, at der er en risiko for, at potentielt delige embryoner frasorteres eller måske kan tage skade af biopsiproceduren. *Popovic et al* [27] fandt mosaicisme i knap 40% af de blastocyster, som blev undersøgt med NGS; endvidere fandtes der uoverensstemmelse imellem fire forskellige biopsier fra hver enkelt blastocyst. Den diagnostiske nøjagtighed blev skønnet til ca. 75%, og i 20,6% af de blastocyster, som havde normal indercellemasse, var der mindst en TE-biopsi, som viste kromosomal afvigelse, som kunne have bortdømt blastocysten.

*Rubio et al* [25] inkluderede kvinder på 38-41 år i et multicenter-RCT og fandt signifikant højere fødselsrate og signifikant lavere abortrate efter synlig intrauterin graviditet i PGT-A-gruppen end i kontrolgruppen efter første ægoplægning. Den kumulerede fødselsrate, som blev opgjort seks måneder efter rekruttering af den

TABEL 1

Oversigt over de randomiserede kontrollerede studier, der er publiceret om præimplantationsgenetisk testning for aneuploidi med *comprehensive chromosome screening*.

Reference	Design	Population (PGT-A/kontrol, n)	Biopsitidspunkt, stadie	CCS-metode	Effekt mål	Resultater
Yang et al, 2015 [20]	Pilot-RCT	< 35 år, tuba- eller mandlig faktor, 1. IVF-behandling (55/48)	Blastocyst	aCGH	Klinisk graviditet, graviditet $\geq$ 20 uger	PGT-A-gruppen har højere klinisk graviditetsrate og højere graviditetsrate $\geq$ 20 uger
Forman et al, 2013 [21]	RCT, non-inferiority-studie	Normal ovariereserve, $\leq$ 1 tidligere mislykket IVF-behandling (89/86)	Blastocyst	qPCR	Levedygtig graviditet $\geq$ 24 uger, flerfoldsgraviditet	Ingen forskel i graviditet $\geq$ 24 uger Lavere risiko for flerfoldsgraviditet ved PGT-A
Scott et al, 2013 [22]	RCT	Normal ovariereserve, $\leq$ 1 tidligere mislykket IVF-behandling (72/83)	Blastocyst	qPCR	Implantationsrate, fødselsrate	PGT-A-gruppen har højere implantationsrate og fødselsrate
Rubio et al, 2017 [25]	RCT	ITT-analyse, 38-41 år, 1. eller 2. ICSI-behandling, $\geq$ 5 metafase II-æg efter 1-2 ægudtagninger (100/105)	Dag 3-embryon	aCGH	Fødselsrate efter 1. oplægning, kumuleret fødselsrate	PGT-A-gruppen har højere fødselsrate efter 1. oplægning Ingen forskel i kumuleret fødselsrate
Munne et al, 2017 [24]	RCT	25-40 år, $\geq$ 2 analyserbare blastocyster og $\geq$ 1 egnet til oplægning (274/314)	Blastocyst	NGS	Levedygtig graviditet $\geq$ 20 uger	Ingen forskel i graviditetsrate $\geq$ 20 uger Signifikant højere graviditetsrate efter PGT-A i subgruppen 35-40 år
Verpoest et al, 2018 [23]	RCT	ITT-analyse: 36-40 år, $\leq$ 3 tidligere IVF-/ICSI-behandlinger (205/191)	Pollegeme	aCGH	Kumuleret fødselsrate efter 1 år	Ingen signifikant forskel i kumuleret fødselsrate Signifikant færre transfereringer og aborter i PGT-A-gruppen

aCGH = array-komparativ genomisk hybridisering; CCS = *comprehensive chromosome screening*; ICSI = intracytoplasmatiske sædcelleinjektion; ITT = *intention-to-treat*; IVF = in vitro-fertilisering; NGS = *next-generation sequencing*; PGT-A = præimplantationsgenetisk testning for aneuploidi; qPCR = kvantitativ polymerasekædereaktion; RCT = randomiseret kontrolleret studie.

sidste patient, var ikke forskellig i de to grupper.

I et multicenter-RCT af Verpoest et al [23] blev der bioperet og analyseret på pollegemer i PGT-A-gruppen. Det formodes, at man vha. pollegemebiopsi kan detektere meiotiske fejl. Studiet viste ingen forskel i kumuleret fødselsrate efter et års opfølgning, men der var signifikant færre ægoplægninger og aborter i PGT-A-gruppen end i kontrolgruppen. I alt 11 kvinder (ca. 5%) i PGT-A-gruppen indgik med både deres første og anden behandlingscyklus, mens ingen i kontrolgruppen indgik med mere end deres første behandlingscyklus. Ved studiets afslutning var der betydeligt flere nedfrosne blastocyster tilbage i kontrolgruppen end i PGT-A-gruppen. Endelig er STAR-studiet publiceret som et abstract [24]. Kvinder i aldersgruppen 25-40 år blev randomiseret 1:1 dag fem eller seks mhp. totalfrys af æggene og efterfølgende oplægning i frysecyklus. Alle inkluderede kvinder blev transfereret, men der mangler oplysninger om antallet, der ikke havde euploide embryoner efter PGT-A og dermed blev ekskluderet fra undersøgelsen. Der var ingen forskel i graviditetsraten  $\geq$  20 uger efter oplægning af første blastocyst. I en subgruppeanalyse blandt kvinder på 35-40 år fandtes signifikant højere graviditetsrate  $\geq$  20 uger i PGT-A-gruppen. Ifølge American Society for Reproductive Medicine og Society for Assisted Reproductive Technology er værdien af PGT-A som screeningstilbud til

alle patienter, som får udført IVF, endnu ikke afklaret, og der manes til forsigtighed [28]. Selvom der i flere studier er påvist højere graviditets- eller fødselsrate efter første oplægning efter PGT-A, har studierne flere begrænsninger f.eks. mht. inklusionskriterierne, manglende rapportering af kumulerede fødselsrater, tid til fødsel og manglende *intention to treat*-analyser.

## PRÆIMPLANTATIONSGENETISK TESTNING FOR ANEUPLOIDI I DANMARK

I Danmark anvendes PGT-A kun i meget begrænset omfang og tilbydes ikke rutinemæssigt i forbindelse med behandling for barnløshed. På offentlige klinikker udføres PGT-A kun i forbindelse med godkendte videnskabelige forsøg. På de to danske centre (Aalborg Universitetshospital og Rigshospitalet), hvor man tilbyder PGT-SR behandling til par med kendt strukturel forandring, er man gået over til at undersøge TE-biopsier med NGS fra hhv. 2016 og 2018. Ved denne undersøgelse får man ikke kun information om den for parret relevante kromosomale afvigelse, men potentielt også information om mulige aneuploidier. Håndteringen af denne ekstra information diskuteres i øjeblikket mhp. en national ensartethed i analyserne. I lande med større kommercielle interesser ved IVF-behandling tilbydes PGT-A i mange tilfælde rutinemæssigt til patienter i IVF-behandling. Her dækker patienterne selv ud-

gifterne til behandlingen, og klinikkerne har dermed et stort økonomisk incitament til at udføre PGT-A.

## KONKLUSION

Foreløbige studier tyder på, at PGT-A til udvalgte patientgrupper kan øge fødselsraten og reducere abortraten efter den første ægoplægning og dermed muligvis afkorte tiden til fødsel, men med den nuværende evidens på området kan det fortsat ikke anbefales at tilbyde PGT-A rutinemæssigt ved IVF-behandling. Derfor bør PGT-A fortsat kun anvendes i kliniske studier. Flere randomiserede studier med veldefinerede patientgrupper, hvor man også undersøger kumulerede fødselsrater pr. behandlingsstart, tid til fødsel og abortrater er helt afgørende for, om PGT-A skal tilbydes, og i bekræftende fald på hvilken indikation. En medicinsk teknologivurdering er berettiget.

## SUMMARY

Viktoría Holmqvist, Laura Kirstine Soenderberg Roos, Kristin Ros Kjartansdóttir, Morten Dunø, Morten Rønn Petersen, Christina Hnida, Inge Søkilde Pedersen, Anja Ernst, Christian Liebst Frisk Toft, Tue Dieimer, Hans Jakob Ingerslev, Anja Pinborg & Kristine Løssl:

Preimplantation genetic testing for aneuploidy  
Ugeskr Læger 2019;181:V12180849

This review summarises the current knowledge on preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A). Selection and transfer of euploid embryos aim to improve live birth rate (LBR) per embryo transfer, but fluorescence in situ hybridisation-based PGT-A and biopsy of cleavage stage embryos in the 2000s was a disappointment, as studies revealed a reduced LBR. Today, PGT-A includes comprehensive chromosome screening primarily of blastocyst biopsies. The benefit of PGT-A is highly debated: some suggest improved treatment outcome, while others claim, that the procedure is not cost-effective.

**KORRESPONDANCE:** Viktoría Holmqvist.  
E-mail: viktoriaholmqvist@hotmail.com

**ANTAGET:** 19. februar 2019

**PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK:** 13. maj 2019

**INTERESSEKONFLIKTER:** ingen. Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

## LITTERATUR

1. Mastenbroek S, Twisk M, van der Veen F et al. Preimplantation genetic screening: a systematic review and meta-analysis of RCTs. *Hum Reprod Update* 2011;17:454-66.
2. Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril* 2014;101:656-663.e1.
3. Andersen AMN, Wohlfahrt J, Christens P et al. Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *BMJ* 2000;320:1708-12.
4. Mastenbroek S, Repping S. Preimplantation genetic screening: back to the future. *Hum Reprod* 2014;29:1846-50.
5. Harper J, Jackson E, Sermon K et al. Adjuncts in the IVF laboratory: where is the evidence for »add-on« interventions? *Hum Reprod* 2017;32:485-91.
6. Sermon K, Capalbo A, Cohen J et al. The why, the how and the when of PGS 2.0: current practices and expert opinions of fertility specialists, molecular biologists, and embryologists. *Mol Hum Reprod* 2016;22:845-57.
7. Dahdouh EM, Balayla J, Garcia-Velasco JA. Impact of blastocyst biopsy and comprehensive chromosome screening technology on preimplantation genetic screening: a systematic review of randomized controlled trials. *Reprod Biomed Online* 2015;30:281-9.
8. Dahdouh EM, Balayla J, Audibert F et al. Technical update: preimplantation genetic diagnosis and screening. *J Obstet Gynaecol Can* 2015;37:451-63.
9. Shi Y, Sun Y, Hao C et al. Transfer of fresh versus frozen embryos in ovulatory women. *N Engl J Med* 2018;378:126-36.
10. Brezina PR, Anchan R, Kearns WG. Preimplantation genetic testing for aneuploidy: what technology should you use and what are the differences? *J Assist Reprod Genet* 2016;33:823-32.
11. Treff NR, Scott RT Jr. Four-hour quantitative real-time polymerase chain reaction-based comprehensive chromosome screening and accumulating evidence of accuracy, safety, predictive value, and clinical efficacy. *Fertil Steril* 2013;99:1049-53.
12. Gutierrez-Mateo C, Colls P, Sanchez-Garcia J et al. Validation of microarray comparative genomic hybridization for comprehensive chromosome analysis of embryos. *Fertil Steril* 2011;95:953-8.
13. LaFramboise T. Single nucleotide polymorphism arrays: a decade of biological, computational and technological advances. *Nucleic Acids Res* 2009;37:4181-93.
14. Deleye L, Dheedene A, de Coninck D et al. Shallow whole genome sequencing is well suited for the detection of chromosomal aberrations in human blastocysts. *Fertil Steril* 2015;104:1276-85.e1.
15. Taylor TH, Gitlin SA, Patrick JL et al. The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans. *Human Reprod Update* 2014;20:571-81.
16. Bolton H, Graham SJ, van der Aa N et al. Mouse model of chromosome mosaicism reveals lineage-specific depletion of aneuploid cells and normal developmental potential. *Nature Commun* 2016;7:11165.
17. Fragouli E, Alfarawati S, Spath K et al. Morphological and cytogenetic assessment of cleavage and blastocyst stage embryos. *Mol Hum Reprod* 2014;20:117-26.
18. Fragouli E, Alfarawati S, Spath K et al. Analysis of implantation and ongoing pregnancy rates following the transfer of mosaic diploid-aneuploid blastocysts. *Hum Genet* 2017;136:805-19.
19. Treff NR, Franasiak JM. Detection of segmental aneuploidy and mosaicism in the human preimplantation embryo: technical considerations and limitations. *Fertil Steril* 2017;107:27-31.
20. Yang Z, Lin J, Zhang J et al. Randomized comparison of next-generation sequencing and array comparative genomic hybridization for preimplantation genetic screening: a pilot study. *BMC Med Genomics* 2015;8:30.
21. Forman EJ, Hong KH, Ferry KM et al. In vitro fertilization with single euploid blastocyst transfer: a randomized controlled trial. *Fertil Steril* 2013;100:100-7.e1.
22. Scott RT Jr, Upham KM, Forman EJ et al. Blastocyst biopsy with comprehensive chromosome screening and fresh embryo transfer significantly increases in vitro fertilization implantation and delivery rates: a randomized controlled trial. *Fertil Steril* 2013;100:697-703.
23. Verpoest W, Staessen C, Bossuyt PM et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy by microarray analysis of polar bodies in advanced maternal age: a randomized clinical trial. *Hum Reprod* 2018;33:1767-76.
24. Treff NR. Global multicenter randomized and controlled trial comparing single embryo transfer with embryo selected by preimplantation genetic screening using next-generation sequencing versus morphologic assessment. <https://txfertility.com/wp-content/uploads/2017/10/Munne-2017-FS-Absract-ASRM-STAR-primary-outcomes.pdf> (20. sep 2018).
25. Rubio C, Bellver J, Rodrigo L et al. In vitro fertilization with preimplantation genetic diagnosis for aneuploidies in advanced maternal age: a randomized, controlled study. *Fertil Steril* 2017;107:1122-9.
26. Gleichner N, Kushnir VA, Barad DH. Preimplantation genetic screening (PGS) still in search of a clinical application: a systematic review. *Reprod Biol Endocrinol* 2014;12:22.
27. Popovic M, Dheedene A, Christodoulou C et al. Chromosomal mosaicism in human blastocysts: the ultimate challenge of preimplantation genetic testing? *Hum Reprod* 2018;33:1342-54.
28. Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology. The use of preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A): a committee opinion. *Fertil Steril* 2018;109:429-36.