

Alteraciones citogenéticas en pacientes con diagnóstico de infertilidad en Lima, Perú

Cytogenetic abnormalities in patients with infertility diagnosis in Lima, Peru

Jeel Moya-Salazar^{1,2*}, Rafael Vega-Vera¹, Víctor Rojas-Zumaran¹ y Hans Contreras-Pulache³

¹Departamento de Ayuda al Diagnóstico, Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé; ²Escuela de Postgrado, Universidad Privada Norbert Wiener; ³South American Center for Education and Research in Public Health, Universidad Privada Norbert Wiener. Lima, Perú

Resumen

Introducción: La infertilidad es una enfermedad multicausal y el componente genético representa uno de sus principales eventos. Si bien la distribución de la infertilidad puede variar entre poblaciones, las parejas de los países con bajos y medianos ingresos pueden verse más afectadas por la infertilidad, con una proporción de alteraciones citogenéticas aún no esclarecidas. **Objetivo:** Evaluar la frecuencia de alteraciones citogenéticas y su correlación con el número de abortos en pacientes peruanas con diagnóstico de infertilidad. **Método:** Se realizó un estudio de corte transversal en 400 pacientes de 18 a 60 años, de ambos sexos, con diagnóstico de infertilidad. Se registraron las características clínicas disponibles durante el examen genético y el análisis citogenético convencional fue con bandeado GTG en muestras de sangre periférica. El análisis de correlación se realizó con la prueba de Spearman. **Resultados:** Del total, 389 pacientes cumplieron los criterios de inclusión, y de estos, 169 (43,44%) tuvieron reportes de abortos (promedio: 2,25, rango: 1-7). Hallamos una correlación significativa entre el número de abortos y las alteraciones citogenéticas ($p < 0,000$). Reportamos 25/289 (6,43%) alteraciones cromosómicas, de las que 11/25 (44%) fueron heterocromatinas constitutivas y 6/25 (24%) fueron translocaciones recíprocas. Las alteraciones citogenéticas más frecuentes fueron 16qh+ y 9qh+ (ambas con un 16%), y afectaron a 17 (68%) varones. **Conclusiones:** Existe una moderada frecuencia de alteraciones citogenéticas en pacientes peruanos con diagnóstico de infertilidad, y las alteraciones más frecuentes fueron heterocromatina constitutivas. Además, evidenciamos una correlación significativa entre el número de abortos y las alteraciones citogenéticas.

Palabras clave: Infertilidad. Análisis citogenético. Heterocromatina. Aborto. Citogenética. Perú.

Abstract

Introduction: Infertility is a multicausal disease and the genetic component represents one of its main events. Although the distribution of infertility may vary between populations, couples in low-and-middle-income countries may be more affected by infertility with a proportion of cytogenetic alterations still unclear. **Objective:** To evaluate the frequency of cytogenetic alterations and their correlation with the number of abortions in Peruvian patients with a diagnosis of infertility. **Method:** A cross-sectional study was carried out in 400 patients between 18 and 60 years-old, of both genders with a diagnosis of infertility. The clinical characteristics available during the genetic examination were recorded and the conventional cytogenetic analysis was with GTG banding in peripheral blood samples. The correlation analysis was performed with the Spearman test. **Results:** Of the total 389 patients who met the inclusion criteria, of these 169 (43.44%) patients had reports of abortions (mean: 2.25, range: 1-7). We found a significant correlation between the number of abortions and cytogenetic alterations ($p < 0.000$). We report 25/289 (6.43%) chromosomal alterations, where 11/25 (44%) were constitutive heterochromatin, and

Correspondencia:

*Jeel Moya-Salazar

E-mail: jeel.moya@uwiener.edu.pe

0048-766X / © 2022 Sociedad Chilena de Obstetricia y Ginecología. Publicado por Permanyer. Éste es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fecha de recepción: 20-03-2021

Fecha de aceptación: 14-03-2022

DOI: 10.24875/RECHOG.M22000046

Disponible en internet: 09-06-2022

Rev Chil Obstet Ginecol. 2022;87(2):104-110

www.rechog.com

6/25 (24%) were reciprocal translocations. The most frequent cytogenetic alterations were 16qh + and 9qh + (both 16%), and affected 17 (68%) men. **Conclusions:** There is a moderate frequency of cytogenetic alterations in Peruvian patients diagnosed with infertility, where the most frequent alterations were constitutive heterochromatin. Furthermore, we evidenced a significant correlation between the number of abortions and cytogenetic alterations.

Keywords: Infertility. Cytogenetic analysis. Heterochromatin. Abortion. Cytogenetics. Peru.

Introducción

La infertilidad es una enfermedad reproductiva definida como el fracaso del desarrollo y amparo del embarazo después aproximadamente 12 meses de relaciones sexuales regulares sin protección¹. Hoy en día, la infertilidad genera un caos social, marital y psicológico por las profundas significancias culturales que conlleva el generar descendencia y la importancia que se atribuye a este fenómeno, que afecta a 48 millones de parejas en todo el mundo^{2,3}.

Pese a que durante los últimos años no se han evidenciado cambios en las tendencias de infertilidad en el mundo, en torno a un 15% de parejas (cerca de 80 millones de afectados) son infértiles en los Estados Unidos de América^{4,5}. Las estimaciones globales de la tasa de infertilidad son difíciles de realizar, debido a que algunas regiones no tienen datos disponibles o presentan limitaciones para su determinación⁶. Sin embargo, los países con bajos y medianos ingresos se ven muy afectados por la infertilidad, ya que una de cada cuatro parejas la sufre^{5,7}. En Latinoamérica y el Caribe, aunque no existen cifras exactas, a los problemas de infertilidad que afrontan las parejas se suma la baja tasa de fertilidad experimentada desde hace tres décadas⁸.

Se conoce que el factor masculino representa el 50% de los casos de infertilidad, pero hasta un 20% se atribuyen a causas mixtas⁹. La infertilidad femenina puede ser por diferentes causas (cervicovaginales, inmunitarias o psicosexuales), mientras que la infertilidad masculina está ligada hasta en un 15% a trastornos genéticos, seguidos en frecuencia del varicocele¹⁰⁻¹³. Los trastornos genéticos, como las alteraciones cromosómicas, las mutaciones y los cambios epigenéticos, están contribuyendo a la etiología de los supuestos casos «idiopáticos» de infertilidad.

El estudio citogenético es parte del diagnóstico de este problema de salud de la pareja. Permite establecer un vínculo entre las alteraciones genéticas (estructurales o conformacionales) y el tratamiento y el pronóstico de la infertilidad de las parejas que optan cada vez más por terapias alternativas de concepción asistida y otras técnicas reproductivas¹⁴.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la frecuencia de alteraciones citogenéticas y su correlación con el número de abortos en pacientes con diagnóstico de infertilidad del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé (HONADOMANI SB) en Lima, Perú.

Método

Con la finalidad de evaluar la frecuencia de alteraciones citogenéticas en pacientes con diagnóstico de infertilidad se realizó una investigación de corte transversal que contó con la aprobación del Comité de Ética e Investigación de la Oficina de Apoyo a la Docencia e Investigación del HONADOMANI SB (N.º 16913-16).

Población y criterios de selección

Se incluyeron todos los pacientes admitidos de enero a diciembre de 2015 derivados por consulta de fertilidad para el estudio citogenético, en el Área de Citogenética y Biología Molecular, Servicio de Anatomía Patológica del Departamento de Ayuda al Diagnóstico del HONADOMANI SB, que previamente otorgaron el consentimiento para participar en el estudio.

Los criterios de inclusión fueron: pacientes de entre 18 y 60 años, de ambos sexos, con diagnóstico presuntivo de infertilidad, remitidos a la institución (de consultorios externos o derivados de otros hospitales con ficha de referencia y diagnóstico presuntivo) para estudio citogenético convencional de acuerdo con el Procedimiento Operacional Estandarizado de la institución.

La recolección de sangre periférica se hizo con jeringa de 10 ml y adicionando heparina sódica, y las muestras se procesaron frescas (≤ 3 horas).

Análisis citogenético

Los cultivos de linfocitos de sangre periférica se realizaron en medio PB-MAX™ Karyotyping (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, U.S.A.) o en medio de cultivo KREAvital Lymphocyte Karyotyping (Kreatech Bio., Amsterdam, Netherlands), distribuidos en tubos Falcom™ de 10 ml (BD, Le Pont de Claix, France),

dependiendo de la disponibilidad de la institución¹⁵. Todos los cultivos se incubaron a 37 ± 1 °C por 72 horas, con controles de crecimiento de cultivo cada 12 horas. El método de cosecha fue convencional, iniciando con la colchinización (Colcemid 0,1 µg/ml) y hasta la fijación con la solución de Carnoy comercial.

Para todos los preparados cromosómicos se utilizó el bandedo GTG con coloración de Giemsa (modificado de Leishman's) y se analizaron manualmente en microscopio de luz para seleccionar los campos con cariotipos y luego ser armados en el autoanalizador Leica X210 System (Leica, Wetzlar, Germany). Se utilizó el sistema ISCN versión 2013 para el reporte de resultados en ≤ 15 días. Se excluyeron los cultivos incompletos, contaminados o con notoria alteración del pH del medio. Durante la lectura se derivó a los pacientes sin presencia de metafases abiertas o en poca cantidad (≤ 5 metafases en todos los preparados) para una nueva evaluación¹⁶.

Recolección de datos y análisis estadístico

De un total de 400 evaluaciones se excluyeron 11 pacientes (ocho por no presentar resultados completos y tres porque no evidenciaron crecimiento durante el cultivo cromosómico). La recolección de datos (características clínicas, edad, número de hijos, abortos y alteraciones citogenéticas) se realizó por presentación tabular desde el libro de reporte de casos y desde el sistema de almacenamiento de datos de Leica Geosystem (Wetzlar, Germany) para Windows (Redmond, U.S.A.), respetando las consideraciones bioéticas establecidas previamente. El análisis se dividió en tres etapas: 1) selección de pacientes con alteraciones citogenéticas, con reporte de abortos y pacientes sin hijos; 2) codificación y tabulación en la matriz de datos; y 3) análisis. Se realizó el análisis de normalidad de muestras con la prueba de Kolmogórov-Smirnov; luego se utilizaron la correlación de Spearman y la prueba t de Student para muestras relacionadas para la evaluación de correlaciones y diferencias entre variables, respectivamente, considerando un nivel de significación de 0,05 ($\alpha = 0,05$) y un intervalo de confianza del 95%. Todos los análisis de datos se realizaron en el analizador estadístico IBM SPSS (Armonk, U.S.A.) v21.0 para Windows.

Resultados

Se incluyeron 389 pacientes con resultado citogenético viable (231 mujeres, 59,38%) y con un

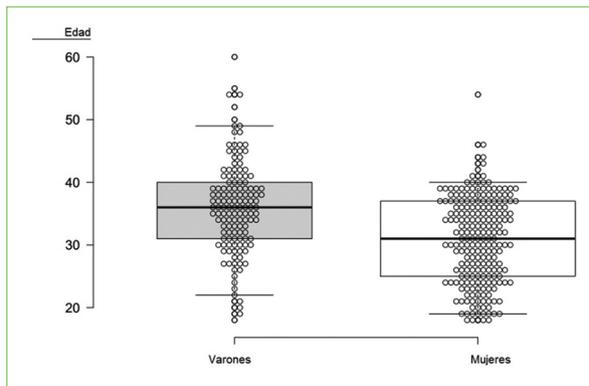


Figura 1. Edades de los pacientes con diagnóstico de infertilidad incluidos en la evaluación citogenética (varones, media 36 ± 5 años; mujeres, media 31 ± 5 años).

Tabla 1. Características demográficas de los pacientes incluidos en el estudio (n = 389)

Características	n	%
Sexo	158	40,62
Varón	231	59,38
Mujer		
Grupo de edad (años)	181	46,53
<30	144	37,02
31-40	64	16,45
41-60		
Hijos	66	16,97
Sí	165	42,42
No		
Abortos	169	43,44
Sí	220	56,56
No		
Estado civil	50	12,85
Pareja	289	74,29
Unitario		
Procedencia	210	53,98
Lima	179	46,02
Provincias		

promedio de edad de $32,9 \pm 14,2$ años (rango: 18-60 años). El promedio de edad de las mujeres fue de $29,7 \pm 8,7$ años (Fig. 1). La proporción de pacientes con hijos fue del 16,97% (66 pacientes) y el promedio del número de hijos fue de $2,3 \pm 1$ (≤ 5 hijos). El 43,44% (169 pacientes) tuvieron reportes de abortos (promedio: 2,25; rango: 1-7). Las características clínicas y demográficas se muestran en la tabla 1.

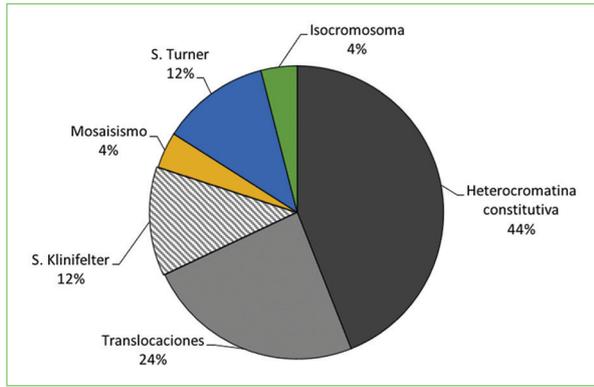


Figura 2. Proporción de pacientes con diagnóstico de infertilidad y alteraciones citogenéticas (n = 25).

Del total, 25 (6,43%) presentaron alteraciones cromosómicas: 11 (44%) pacientes con heterocromatinas constitutivas, 6 (24%) pacientes con translocaciones recíprocas y 8 (32%) pacientes con otro tipo de alteraciones cromosómicas (Fig. 2). Los cromosomas más involucrados en las alteraciones en nuestro estudio fueron el 9 (16%) y el 7 (12%). Las alteraciones citogenéticas más frecuentes fueron 16qh+ y 9qh+, ambas con un 16%.

El promedio de edad de los pacientes con alteraciones citogenéticas fue de $33,2 \pm 2$ años (rango: 18-56), y fueron 17 varones (68%) y 8 mujeres (32%). Nueve (36%) pacientes con alteración cromosómica presentaron ≥ 1 aborto; de estos, 7 (28%) casos estuvieron ligados a heterocromatina constitutiva de los cromosomas 9, 16 y 1 (Tabla 2). Solo uno de los pacientes [45,XX,t(13;14)(q10;q10)] con hijos presentó cuatro abortos posteriores. Ninguno de los pacientes con alteraciones sexuales reportó abortos previos ni hijos, y todos tenían ≤ 35 años (Fig. 3).

No se encontró diferencia significativa en cuanto a la edad de los pacientes sanos y con alteraciones citogenéticas ($p = 0,323$). Se determinó una correlación significativa entre el número de abortos y las alteraciones citogenéticas ($\rho = 0,655$; $p < 0,0001$).

Discusión

Este estudio fue desarrollado con pacientes urbícolas en Lima, Perú, y demuestra por primera vez que las alteraciones citogenéticas representan un importante porcentaje de las causas de infertilidad en varones y mujeres, relacionándose con las tasas de abortos previos.

Tabla 2. Epitome de resultados de alteraciones cromosómicas en pacientes con diagnóstico de infertilidad (n = 25)

Cariotipo	Edad	Hijos	Abortos
47, XXY	33		
46, XX, i (X)(q10;q10)	37		
46, XX, t (7;17)(p12;q13)	29	1	
46, XY,16qh+**	39		2
45, X0	18		
46, XX, t (7;17)(p12;q13)	29		
46, XX, t (7;17)(p12;q13)	56		
46, XX,9qh+	22		
46, XX,1qh+	35	1	
46, XY, t (14;21)*	43	1	
46, XX,16qh+	39		
47, XXY	35		
45, X0	19		
46, XX,16qh+	35		
46, XY,9qh+**	33		3
45, X0	35		
46, XY,9qh-**	38		2
46, XX,16qh+	28		1
46, XX,1qh+	24		3
46, XX,1qh+	37		1
mos46, XY/46, XY, inv (9)(p11q13)**	31		2
47, XXY	34		
45, XX, t (13;14)(q10;q10)	39	1	4
45, XX, t (13;14)(q10;q10)	33		
46, XX,9qh+	30		2

*Pareja con tres abortos (46, XX).

**Proporción de abortos reportado en sus cónyuges.

La edad tiene un papel importante en la tasa de abortos espontáneos y, por consiguiente, en la fertilidad y la concepción del embarazo. En nuestro estudio, los pacientes edad fértil tuvieron un promedio de edad de 32,9 años, en concordancia con la tasa de natalidad en los países industrializados¹⁷. Hoy en día, en esta era posmoderna en la que prima la autorrealización femenina antes que la concepción de hijos y el establecimiento familiar (aproximadamente ≥ 35 años), surgen

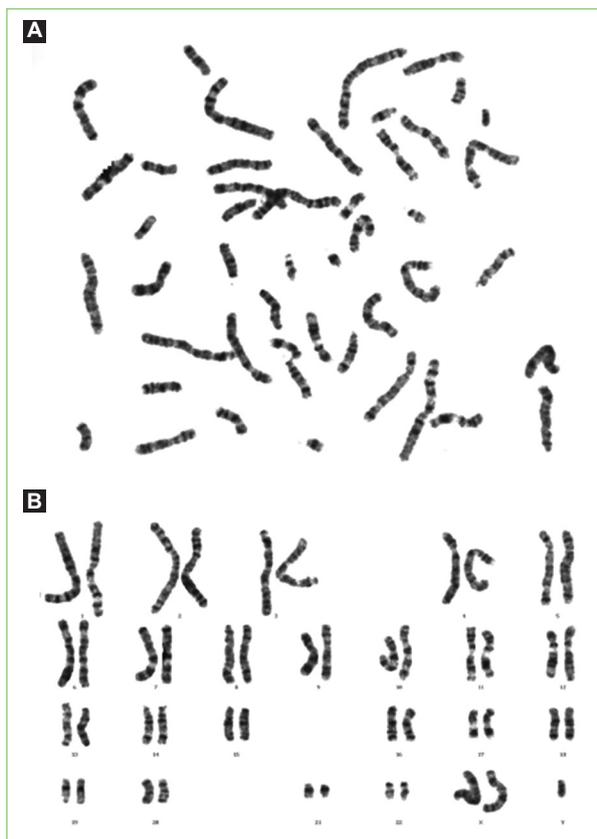


Figura 3. Paciente con diagnóstico presuntivo de infertilidad con cariotipo 47,XXY. **A:** metafase celular con bandeado GTG. **B:** cariotipo.

problemas en la vida sexual marital dado el riesgo de hijos con síndromes genéticos, complicaciones durante el embarazo, la progresiva disminución de la tasa fecundativa y el carácter infértil que ocasiona conflictos de gran extensión. Se ha reportado que los embarazos en mujeres ≥ 35 años tienen un alto riesgo de finalizar en abortos durante el primer trimestre (sobre todo si la edad del padre es ≥ 40 años); estos abortos están vinculados en el 99% de los casos con alteraciones citogenéticas¹⁸⁻²⁰. La edad de embarazo se relaciona también con las alteraciones citogenéticas para el recién nacido y los problemas que pueda desarrollar²¹. Si bien nuestros resultados no han demostrado un vínculo entre la edad de los progenitores y las alteraciones citogenéticas, es importante que se realicen estudios de asociación y de riesgo para comprender mejor este fenómeno.

Los trastornos genéticos, como las alteraciones citogenéticas, son causas habituales de abortos en las diferentes fases del embarazo. Con relación a los abortos espontáneos, se ha reportado que entre el 2,2% y

el 4% de las parejas han tenido dos o más episodios, con un papel clave de las alteraciones citogenéticas en este hecho^{22,23}. Los resultados de Teles et al.¹⁹, Rolnik et al.²³, Zhang et al.²⁴, Nagaishi et al.²⁵, Stephenson et al.²⁶ y Be et al.²⁷ mostraron que el 48%, el 55,4%, el 61%, el 56,5%, el 46% y el 63,7% de las mujeres embarazadas con anomalías cromosómicas presentaron abortos espontáneos, respectivamente. Si bien observamos que 169 pacientes (43,4%) presentaron abortos previos, solo un 6,4% tenían alteraciones citogenéticas, lo que difiere considerablemente de los estudios señalados, sobre todo por las diferencias en las muestras clínicas evaluadas (cultivos de tejido frente a cultivos de sangre periférica) y por la diferencia en la proporción de alteraciones citogenéticas *de novo* en los embriones, y en sus restos coriónicos y tisulares. Sin duda, deben considerarse otras posibles causas de infertilidad en estos pacientes, en especial en los que no tienen reportes previos de abortos (220 pacientes, 56,6%).

Los casos de alteraciones citogenéticas relacionadas con abortos espontáneos, principalmente en el primer trimestre de gestación, y con infertilidad fluctúan en un rango del 40% al 76%²⁸. Sin embargo, nosotros reportamos una proporción de un 6,4% de pacientes con diagnóstico de infertilidad que presentaron al menos una alteración cromosómica (Tabla 1). La baja tasa de pacientes con resultados de alteraciones citogenéticas en cultivos de tejidos puede deberse a fallas en el análisis (toma de muestra, cultivo, lectura e informe de cariotipo), representando el error preclínico $> 40\%$ de los errores dependiendo de la técnica usada^{29,30}. Por el contrario, para el cultivo de linfocitos de sangre periférica podemos referir que se eliminaron los pacientes sin crecimiento celular en el cultivo, se excluyeron las muestras con poca tasa de metafases abiertas para lectura y se consideraron como muestras adecuadas las que tuvieron ≥ 15 metafases completas, por lo que inferimos que la baja proporción de pacientes con alteraciones citogenéticas rige estrictamente la etiopatogenia de la enfermedad.

No reportamos pacientes con diagnóstico de infertilidad con trisomías libres o mixtas, como usualmente se ha descrito^{12,24,25}. Hallamos una baja tasa de pacientes con alteraciones numéricas (24%), afectando principalmente a los cromosomas sexuales (Fig. 2), que no concuerda con otros estudios previos^{19,23-25}. Nuestra proporción de pacientes con translocaciones recíprocas (24%) coincide solo con un estudio desarrollado en India (24,7%) comparando nuestros hallazgos con las alteraciones citogenéticas reportadas a partir de tejidos de pacientes²⁵.

También estudios anteriores¹⁹⁻²⁷ han señalado la importante relación del cromosoma 16 con los abortos espontáneos y el grado de infertilidad de las parejas, en especial si presenta una alteración numérica. Nuestros hallazgos mostraron un 16% de alteraciones en el cromosoma 16 a nivel de la heterocromatina constitutiva. Desde el punto de vista clínico, y desde el laboratorio de citogenética convencional, las variantes heterocromáticas no son consideradas como alteraciones cromosómicas que impliquen un seguimiento, tratamiento o consejería genética del paciente. En este estudio, estos rearrreglos estructurales fueron determinados en 11 pacientes con diagnóstico de infertilidad (44%), principalmente los cromosomas 9 y 16; además, cabe señalar que estas alteraciones estructurales estuvieron presentes en el 28% de los pacientes con al menos un aborto (Tabla 1).

Tales alteraciones podrían establecer un nexo entre la significación clínica y estos heteromorfismos cromáticos, ya que podría tener implicancias epigenéticas que modifiquen la expresión de genes³¹. Consideramos que los procesos moleculares epigenéticos ligados a la distribución y la compactación cromática tienen un gran impacto en los procesos reproductivos fallidos como parte de la genética patológica de esta enfermedad³². Son necesarios futuros estudios que comparen la frecuencia de alteraciones cromáticas y los cromosomas implicados en individuos con y sin infertilidad.

Todas estas variables indicadas tienen una repercusión social y económica para cada comunidad en el mundo entero. La nueva corriente y las opciones de concepción asistida, así como los sistemas que estos procedimientos inmiscuyen, están generando impacto en los sistemas organizativos en todos los estratos³³. Recomendamos utilizar el análisis citogenético en pacientes con diagnóstico de infertilidad³⁴.

Las principales limitaciones de este estudio fueron: 1) no se pudo tener acceso al historial clínico completo de cada paciente para la evaluación de otros factores de riesgos asociados; 2) no se realizaron pruebas de citogenética y biología molecular para complementar el diagnóstico convencional, como actualmente se recomienda¹⁶; y 3) todos los resultados citogenéticos con mosaicismos (autosómicos y sexuales) no se confirmaron con cultivo de fibroblastos citogenético u otras pruebas confirmatorias. Pese a estas limitaciones, este estudio es muy importante dado el limitado reporte de pacientes con diagnóstico de infertilidad y alteraciones citogenéticas en el Perú y en la región.

Conclusiones

Existe una moderada frecuencia de alteraciones citogenéticas en pacientes peruanos con diagnóstico de infertilidad, entre los que las alteraciones de la heterocromatina constitutiva de los cromosomas 9 y 16 fueron las más frecuentes, seguidas de translocaciones libres y alteraciones sexuales numéricas. Además, se halló una correlación significativa entre el número de abortos y las alteraciones citogenéticas, por lo que es recomendable el estudio genético en la población infértil.

Las técnicas basadas en biología molecular podrán esclarecer en el futuro los procesos relacionados con la infertilidad humana, sobre todo en lo que respecta a aquellos que rigen la heterocromatina, las variantes inmunitarias, los componentes genéticos hereditarios y el microambiente implantacional, entre otros. Continuar con la detección de estas alteraciones cromosómicas permitirá tener una visión global en el entendimiento de los procesos fisiológicos y para el manejo genético de los pacientes con diagnóstico de infertilidad, en vías de mejorar su salud sexual reproductiva.

Agradecimientos

Agradecemos a María Jesús Moya-Salazar el soporte en la tabulación y la codificación de los datos; a Ronald Torres-Martínez el soporte estadístico y metodológico de la investigación; y a todo el equipo del Departamento de Patología del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé por las facilidades brindadas.

Financiamiento

Autofinanciado por los autores.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Bibliografía

- World Health Organization. Trends in maternal mortality: 1990 to 2010. Geneva: World Health Organization, United Nations Children's Fund, United Nations Population Fund, The World Bank; 2012.
- Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med* 2012;9:e1001356.
- Calero JL, Magallanes M, Reckemmer A, García M. Infertilidad o paternidad frustrada. Significados de este fenómeno desde la perspectiva masculina peruana. *Rev Cub Sal Públ.* 2003;29(Supl 1):48.
- González Campillo GA, Carreño Meléndez J, Sánchez Bravo Cu, Morales Carmona FA. Estudio comparativo del autoconcepto en mujeres con esterilidad primaria y pérdida gestacional recurrente. *Psicología y Salud.* 2009;19:295-302.
- Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med*. 2015;9:e1001356.
- Thoma ME, McLain AC, Louis JF, King RB, Trumble AC, Sundaram R, et al. Prevalence of infertility in the United States as estimated by the current duration approach and a traditional constructed approach. *Fertil Steril.* 2013;99:1324-31.
- World Health Organization. Infecundity, infertility, and childlessness in developing countries. Demographic and Health Surveys (DHS) Comparative reports No. 9. Geneva: WHO; 2004.
- Cabella W, Nathan M. Challenges posed by low fertility in Latin America and the Caribbean. Geneva: WHO UNFPA; 2018.
- Víte VJA, Ortiz NDA, Hernández MI, Tovar RJM. Análisis epidemiológico de la infertilidad en una población mexicana. *Ginecol Obstet Mex.* 2005;73:360-4.
- Stouffs K, Seneca S, Lissens W. Genetic causes of male infertility. *Ann Endocrinol.* 2014;75:109-11.
- Llaguno CAA. Factores socioepidemiológicos y clínicos presentes en mujeres atendidas en consulta de infertilidad. *Rev Cub Obst Ginecol.* 2015;41(4).
- Neto FT, Bach PV, Najari BB, Li PS, Goldstein M. Genetics of male infertility. *Curr Urol Rep.* 2016;17:70.
- Paiva SV, Miranda-Furtado CL, de Oliveira-Gennaro FG, dos Reis RM. Genetics and epigenetics of varicocele pathophysiology: an overview. *J Assist Reprod Genet.* 2017;34:839-47.
- Rumbold AR, Moore VM, Whitrow MJ, Oswald TK, Moran LJ, Fernández RC, et al. The impact of specific fertility treatments on cognitive development in childhood and adolescence: a systematic review. *Human Rep.* 2017;32:1489-507.
- Czepulkowski B. Analyzing chromosomes. Oxford: Bios Scientific Publishers; 2001.
- Hastings R, Howell R, Bricarelli FD, Kristoffersson U, Cavani S. European Cytogeneticists Association. General guidelines and quality assurance for cytogenetics. *European Cytogeneticists Association Newsletter. E.C.A. Permanent Working Group for Cytogenetics and Society;* 2012.
- Martin JA, Hamilton BE, Osterman MJK, Curtin SC, Mathews TJ. Births: final data for 2013. *National Vital Statistics Reports.* 2015;64(1).
- De La Rochebrochard E, Thonneau P. Paternal age and maternal age are risk factors for miscarriage; results of a multicentre European study. *Hum Reprod.* 2002;17:1649-56.
- Teles TM, Paula CM, Ramos MG, Costa HB, Andrade CR, Coxir SA, et al. Frequency of chromosomal abnormalities in products of conception. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2017;39:110-4.
- Morton NE, Chiu D, Holland C, Jacobs PA, Pettay D. Chromosome anomalies as predictors of recurrence risk for spontaneous abortion. *Am J Med Genet.* 1987;28:353-60.
- Eiben B, Bartels I, Bahr-Porsch S, Borgmann S, Gatz G, Gellert G, et al. Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct-preparation method of chorionic villi and its implications for studying genetic causes of pregnancy wastage. *Am J Hum Genet.* 1990;47:656-63.
- Gardo S, Bajnoczky K. Chromosome analysis in spontaneous abortion using direct preparation of chorionic villi. *Orv Hetil.* 1991;132:2727-9.
- Rolnik DL, de Carvalho MHB, Pereira MAP, Rocha PAP, Gonçalves LJB, Kiyomi KN, et al. Cytogenetic analysis of miscarriage material. *Rev Assoc Med Bras.* 2010;56:681-3.
- Zhang YX, Zhang YP, Gu Y, Guan FJ, Li SL, Xie JS, et al. Genetic analysis of first-trimester miscarriages with a combination of cytogenetic karyotyping, microsatellite genotyping and arrayCGH. *Clin Genet.* 2009;75:133-40.
- Nagaishi M, Yamamoto T, Iinuma K, Shimomura K, Berend SA, Knops J. Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan. *J Obstet Gynaecol Res.* 2004;30:237-41.
- Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP. Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. *Hum Reprod.* 2002 Feb;17(2):446-51. doi: 10.1093/humrep/17.2.446.
- Be C, Velásquez P, Youlton R. Spontaneous abortion: cytogenetic study of 609 cases. *Rev Med Chil.* 1997;125:317-22.
- Hardy K, Hardy PJ. 1st trimester miscarriage: four decades of study. *Transl Pediatr.* 2015;4:189-200.
- Pflueger SM. Cytogenetics of spontaneous abortion. En: Gersen SL, Keagle MB, editores. *The principles of clinical cytogenetics.* New Jersey: Humana Press; 1999. p. 317-43.
- Shah MS, Cinnioglu C, Maisenbacher M, Comstock I, Kort J, Lathi RB. Comparison of cytogenetics and molecular karyotyping for chromosome testing of miscarriage specimens. *Fertil Steril.* 2017;107:1028-33.
- Kosyakova N, Grigorian A, Liehr A, Manvelyan M, Simonyan I, Mkrtchyan H, et al. Heteromorphic variants of chromosome 9. *Mol Cytogenet.* 2013;6:14.
- Mierla D, Stoian V. Chromosomal polymorphisms involved in reproductive failure in the Romanian population. *Balkan J Med Genet.* 2012;15:23-8.
- Díaz BZ, García JD. Culture on motherhood and fatherhood and its impact on the concept of infertility. *Rev Cub Salud Pública.* 2010;36(3).
- Sheth FJ, Liehr T, Kumari P, Akinde R, Sheth HJ, Sheth JJ. Chromosomal abnormalities in couples with repeated fetal loss: an Indian retrospective study. *Indian J Hum Genet.* 2013;19:415-22.