

The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation

Marcos Meseguer, Javier Herrero, Alberto Tejera, Karen Marie Hilligsoe, Niels Birger Ramsing, José Remohí

Human Reproduction, 2011;26(10):2658–2671.

El uso de la cinética morfológica como predictor de implantación embrionaria

Comentado por el Dr Marcos Horton

Pregna, medicina reproductiva.

Reproducción 2011;26:154-156

Se trata de un estudio piloto para evaluar la eficacia de un nuevo método de evaluación embrionaria basado en el monitoreo continuo por video incorporado en la incubadora en 285 parejas en su primer ciclo de ICSI con ovocitos propios y donados.

La clasificación morfológica embrionaria ha mejorado paulatinamente y en los últimos años se han agregado parámetros adicionales a la clasificación tradicional, como el clivaje temprano. Inicialmente descrito por Edwards en 1984, y luego confirmado por otros autores, la observación de la primera división celular ha demostrado tener una correlación positiva con la tasa de implantación y embarazo. Sin embargo, muchos de los trabajos incluyeron la transferencia de más de un embrión, lo cual dificulta la interpretación de los resultados, pero en 2004 Van Moonfort demostró el valor del clivaje temprano en un estudio en el que solamente evaluó los resultados cuando transfirió exclusivamente embriones con clivaje temprano.

Debido a que el *timing* preciso del clivaje embrionario no se puede obtener mediante la observación embrionaria a tiempos determinados, se han desarrollado métodos de observación continua mediante la captura secuencial de imágenes

con monitoreo por video. Esto permite una evaluación más completa de la dinámica embrionaria, y el valor del método ha sido demostrado recientemente por Lemmen en 2008 y Wong en 2010.

Los autores presentan los resultados del monitoreo morfocinético de 247 embriones transferidos, hasta ahora el estudio con mayor número de embriones analizados por este método, con el objetivo de desarrollar una herramienta útil en la clasificación embrionaria que incremente las tasas de embarazo.

Se analizaron embriones provenientes de 285 ciclos de ICSI, primeros intentos de tratamiento con ovocitos propios (N=188) o donados (N=97). A partir de 2.903 ovocitos recuperados se obtuvieron 2.120 embriones, de los cuales solamente se analizaron aquellos 247 embriones que generaron una implantación total (1/1 o 2/2) ó directamente no produjeron embarazo (beta hCG negativa).

Todas las pacientes recibieron estimulación ovárica mediante gonadotrofinas en esquema con agonistas de GnRH. Los embriones fueron incubados en estufas de trigas con un equipo incorporado de monitoreo continuo por video, cuyo sistema de imagen utiliza luz roja de baja intensidad (635 nm) que se emite durante un período de 30 mseg para tomar imágenes que se graban en una cámara (*Embryoscope*, *Unisense Fertlitech*, Dinamarca). La exposición embrionaria total a la luz durante los 3 días de cultivo fue de 57 seg, incluso menor que la calculada para evaluación convencional al microscopio (167 seg).

Las imágenes fueron analizadas mediante el *software Embryoviewer* de *Unisense Fertlitech*, evaluando tiempos específicos en los cuales se observó el fin de una división celular (t2, t3, t4, t5), los tiempos entre una división y otra (cc2, cc3, etc, siendo $cc2=t3-t2$). Se evaluaron hasta 72 em-

Correspondencia: Marcos Horton
E-mail: mhorton@pregna.com.ar

briones en forma simultánea, mediante imágenes tomadas cada 15 minutos en 5 planos diferentes durante al menos 64 horas de evolución.

La selección embrionaria fue hecha basada en parámetros morfológicos convencionales, a saber: ausencia de multinucleación, presencia de dos a cinco células en el día 2, seis a diez células en el día 3, fragmentación <15% y simetría blastomérica. Los embriones fueron divididos en 5 categorías morfológicas según parámetros morfológicos y cinéticos convencionales (grado I con la mejor calidad a grado V con la peor). Se realizó la transferencia de dos embriones, aunque en algunos casos se transfirió un solo embrión, y ocasionalmente, tres embriones según la calidad embrionaria y los deseos de la pareja.

Se transfirieron un total de 522 embriones, de los cuales 201 implantaron exitosamente (saco y embrión con latidos), por lo cual la tasa de implantación fue del 38,5%; la tasa de embarazo global (beta positiva) fue del 55,1%; y la tasa de embarazo clínico evolutivo por transferencia fue de 49,8%.

Los autores hallaron una estrecha correlación entre el acortamiento de los tiempos de clivaje temprano y la capacidad de implantación de los embriones. También observaron que muchos embriones que no implantaron mostraron un aceleramiento en las divisiones más tardías (de 4 a 8 células), así como una distribución más estrecha de los tiempos hasta la división a 5 células para los embriones con buena implantación. En general, los embriones con buena implantación mostraban una distribución normal a todos los tiempos estudiados, y una menor varianza; aquellos sin implantación mostraron distribuciones no paramétricas, y desvíos estándar más amplios en cada tiempo.

Uno de los tiempos estudiados con mejor valor predictivo fue el paso de 3 células a 4 células (denominado S2), que en los embriones que no implantaron fue del doble que en aquellos que implantaron (1 hs vs 0.5 hs; $p=0.004$).

Se estableció una categorización por cuartiles, de los tiempos analizados para cada estadio temporal, y se observó una estrecha correlación entre los 2 cuartiles medios con las mejores tasas de implantación. El poder de discriminación para seleccionar embriones con mejor tasa de implan-

tación fue sucesivamente mejor a lo largo de las divisiones celulares, y fue especialmente alto en el estadio de 5 células.

Para el segundo ciclo celular cc2 (t_4-t_2), se vio que los embriones en los dos primeros cuartiles mostraban las mejores tasas de implantación.

Mediante análisis por regresión logística los autores concluyen que las variables más predictivas de implantación en la línea de tiempo fueron las siguientes:

- El clivaje a 5 células (t_5) (48,8 a 56,6 hs post-ICSI).
- El tiempo transcurrido entre la división de 3 a 4 células (s_2) \leq a 0,76 hs.
- Duración del ciclo celular 2 (cc2) (tiempo entre 2 y 3 células) \leq 11,9 hs.
- Los parámetros que más predijeron la falta de implantación fueron:
 - Multinucleación en el estadio de 4 células.
 - Desigualdad blastomérica en estadio de 2 células.
 - Clivaje abrupto de 1 a 3 o más células.

Los autores diseñaron una categorización embrionaria jerárquica en 6 diferentes grupos, de A a F, con el objetivo de eliminar de la cohorte, en primera instancia, a aquellos embriones claramente no viables (F: altamente anormales, detenidos o necróticos), y luego aquellos que no implantaron (E: blastómeras asimétricas en estadio de 2 células, división abrupta de 1 a 3 o más células, o multinucleación en el estadio de 4 células). Los niveles subsecuentes del modelo jerárquico se basaron en las variables binarias (dentro de rango y fuera de rango) de los tiempos en t_5 , s_2 y cc2.

Asimismo, los autores compararon los parámetros morfocinéticos con la morfología clásica, y vieron una alta correlación entre los embriones categoría I y el grupo A, aunque la cinética logró identificar más embriones de alto potencial de implantación que la morfología convencional.

Los autores concluyen que el monitoreo continuo de la cinética morfológica embrionaria por imágenes de video permite establecer el timing exacto de la división embrionaria y proponen un modelo multivariado de clasificación embrionaria basado en estos hallazgos para realizar futuros estudios prospectivos randomizados para evaluar su eficacia en la práctica clínica para mejorar las tasas de implantación.

El atractivo del presente estudio es que se ha

trabajado sobre un alto número de embriones, se han estudiado específicamente aquellos embriones en ambos extremos del potencial de implantación (implantación total o fallida), y se han distribuido los mismos en cuartiles, correlacionándolos con la tasa de implantación. Otros estudios previos habían alcanzado resultados similares, pero no evaluaron embriones transferidos, sino embriones que dejaron a cultivo prolongado o se habían transferido embriones heterogéneos con distinta calidad morfológica. En este caso fueron todos embriones que fueron efectivamente transferidos,

y también los autores pudieron confirmar datos de estudios previos que demostraban que el destino de un embrión está claramente marcado por las primeras divisiones celulares, en especial durante las primeras 48 horas, hasta el estadio de 5 células. También pudieron establecer que los parámetros morfológicos convencionales de mal pronóstico se correlacionaban con parámetros morfocinéticos malos y de esta manera pudieron construir un modelo de clasificación que realmente puede ayudar en la selección embrionaria.