

VU Research Portal

Non-invasive embryo assessment in IVF

Vergouw, C.G.

2014

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Vergouw, C. G. (2014). *Non-invasive embryo assessment in IVF*. [, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

SAMENVATTING

Dit proefschrift richt zich op niet-invasieve embryo beoordeling in IVF. **Hoofdstuk 1** beschrijft de achtergrond, het doel en de inhoud van dit proefschrift. In dit hoofdstuk wordt de huidige routine aanpak van embryo beoordeling en selectie, de morfologie, toegelicht. We gaan in op een aantal tekortkomingen van de huidige manier van embryo beoordeling en selectie en beschrijven de daaruit voortkomende behoefte aan nieuwe middelen die nauwkeuriger zijn in het voorspellen van het reproductieve potentieel van een embryo dan morfologie.

Daarnaast presenteren we achtergrond informatie van een nieuwe, niet invasieve methode om de kwaliteit van embryo's te beoordelen. Deze nieuwe methode maakt gebruik van near-infrared (NIR) spectroscopie om bestanddelen van embryo-kweekmedium te analyseren. De introductie en validatie van deze nieuwe beoordeling- en selectietechnologie is het belangrijkste onderwerp van dit proefschrift.

In **hoofdstuk 2** presenteren we een 'proof of principle' studie waarin we retrospectief onderzochten of de bepaling van het metabole profiel van een embryo met NIR spectroscopie gecorreleerd was aan de kans op een doorgaande zwangerschap.

We includeerden 333 patiënten die een IVF/ICSI behandeling ondergingen waarbij er één embryo in de baarmoeder geplaatst werd (single embryo transfer [SET]). De embryo's werden met behulp van routine morfologische criteria geselecteerd voor plaatsing in de baarmoeder op dag 2 of dag 3 van het kweekproces. De overgebleven kweekmedium druppels waarin de embryo's die periode gelegen hadden, werden geanalyseerd met NIR spectroscopie. De verkregen unieke metabole spectrum profielen werden gekwantificeerd met algoritmen en vertaald in zogenaamde levensvatbaarheid scores ('viability scores').

De 'viability scores' van embryo's die niet tot een doorgaande zwangerschap leidden waren significant lager dan de 'viability scores' van embryo's die dat wel deden. Een multivariate logistische regressie analyse liet zien dat de leeftijd van de vrouw, het percentage fragmentatie van een embryo en de 'viability score' significant geassocieerd waren met zwangerschapsuitkomsten. De Pearson correlatie coëfficiënt tussen de 'viability score' en morfologische parameters van het embryo (respectievelijk het aantal blastomeren en het percentage fragmentatie) was bijna 0, wat suggereert dat er geen relatie is tussen morfologische embryo parameters en de 'viability score'. We concludeerden dat de bepaling van het metabole profiel van embryo's met NIR spectroscopie extra informatie kan geven over het implantatiepotentieel van embryo's.

In **hoofdstuk 3** verdiepen we ons verder in de relatie tussen de ‘viability scores’, de morfologische beoordeling van dag 2 en dag 3 SET embryo’s en de implantatiekansen van deze embryo’s. Hiervoor gebruikten we de gegevens van de eerste ‘proof of principle’ studie, beschreven in **hoofdstuk 2**, en vulden deze aan met data van de Kato Ladies Clinic uit Japan. Met behulp van een receiver operating characteristic (ROC) curve werd een afkap waarde berekend voor de ‘viability score’. Nagegaan werd of embryo’s die een ‘viability score’ hadden boven de afkapwaarde van 0,3 een andere zwangerschapskans hadden dan embryo’s met een score daaronder. De groepen van 304 dag 3 embryo’s en 181 dag 2 embryo’s werden tevens opgedeeld in vier morfologische klassen: A t/m D, waarbij A de morfologisch beste embryo’s waren en D de morfologisch slechtste embryo’s. Binnen elke morfologische groep was te zien dat embryo’s met een ‘viability score’ boven de afkapwaarde waarde van 0,3 een hoger zwangerschapspercentage hadden dan die met een score daaronder. De ‘viability scores’ bleken voor zowel dag 2 als dag 3 embryo's onafhankelijk van morfologie te zijn.

Hoofdstuk 4 beschrijft de resultaten van een retrospectieve studie waarin we het kweekmedium van 127 ingevroren en weer ontdooide embryo’s (cryo-embryo’s) na SET analyseerden met NIR spectroscopie. De ‘viability scores’ werden berekend met behulp van een voorspellend algoritme dat met data van verse dag 5 embryo’s was gemaakt. We vergeleken de waarden van de verkregen ‘viability scores’ bij het al of niet krijgen van een levend geboren kind. Een multivariate logistische regressie analyse toonde voor en na correctie voor de variabelen embryo morfologie, hervatting van de mitose, electieve of niet- electieve SET, percentage overleving, IVF of ICSI behandeling in de verse cyclus, stimulatie protocol in verse cyclus, duur van de subfertiliteit, indicatie van de subfertiliteit en leeftijd van de patiënt op dag van eicelpunctie, een odds ratio (OR) tussen 1,44 en 1,71 op basis van een 0,1 verschil in ‘viability scores’. Dit betekent dat een stap toename van 0,1 in de ‘viability score’ werd geassocieerd met een 1,44-1,71 maal hogere odds voor levend geboren kind.

Concluderend vonden we dat de ‘viability scores’ positief gerelateerd zijn aan zwangerschapsresultaten: hoe hoger de ‘viability score’, hoe hoger het percentage levend geboren kinderen. Daarnaast bleek dat een algoritme wat gegenereerd is op basis van data van verse embryo's kan worden gebruikt om de ‘viability score’ van cryo embryo’s te berekenen.

De positieve uitkomsten vanuit de retrospectieve studies, deed ons afvragen of we het in kweekmedium bepaalde metabole profiel van een embryo met NIR spectroscopie

konden gebruiken om het embryo met de hoogste implantatiekans te selecteren voor transfer. Hiervoor zijn we een gerandomiseerde gecontroleerde studie (RCT) gestart waarin 417 koppels die IVF ondergingen met een SET werden opgenomen (**hoofdstuk 5**). In deze dubbelblinde RCT hebben we getoetst of de ‘viability score’ naast de morfologie leidt tot de keuze van een embryo met een hogere implantatiekans vergeleken met een embryo geselecteerd op basis van uitsluitend morfologie. Patiënten die mee wilden doen en minimaal twee morfologisch gelijkwaardige embryo’s hadden voor de transfer, werden gerandomiseerd in één van de twee studiegroepen. In de controle groep werd het embryo volgens de conventionele methode geselecteerd (uitsluitend morfologie) en in de interventie groep werd van alle morfologisch beste embryo’s een ‘viability score’ gegenereerd en het embryo met de hoogste ‘viability score’ werd gebruikt voor transfer.

Zowel in de ‘intention-to-treat’ analyse als de ‘per protocol’ analyse waren de percentages doorgaande zwangerschappen en levend geboren kinderen niet significant verschillend tussen de controle- en interventiegroepen. In de interventiegroep bleek 75,4% van de embryo’s die getransfereerd werden niet morfologisch het beste embryo te zijn. Echter, het percentage levend geboren kinderen was niet significant verschillend tussen deze groep van embryo’s met de hoogste viability score en niet de beste morfologie en de controle groep. Dit suggereert dat er binnen een groep embryo’s van goede morfologie meerdere embryo’s kunnen zijn die zich kunnen ontwikkelen tot een levend geboren kind. Dit benadrukt de noodzaak tot SET wanneer meerdere goede kwaliteit embryo’s beschikbaar zijn.

In **hoofdstuk 6** presenteren we de resultaten van een meta-analyse met individuele patiënten data (IPD-MA) van gerandomiseerde studies die het effect van embryo selectie door morfologie met embryoselectie door morfologie en het gebruik van NIR spectroscopie van kweekmedium met de ViaMetrics-E™ (de ‘viability score’) met elkaar vergeleken hebben. Door de IPD-MA waren we in staat de power te vergroten en het effect van de interventie betrouwbaarder te analyseren.

Hoofdstuk 6 toont aan dat er op dit moment geen bewijs is dat NIR spectroscopie van kweekmedium in haar huidige vorm gebruikt kan worden in de dagelijkse praktijk om het aantal levend geboren kinderen te verhogen.

In **hoofdstuk 7** beschrijven we een retrospectieve analyse van multilevel afbeeldingen van 659 dag 3 SET embryo’s. Het doel van deze studie was om objectieve variabelen te vinden die de kwaliteit van een embryo kunnen bepalen en deze te relateren aan de

implantatiekansen van embryo's. Door de blastomeren van het embryo te meten op de multilevel foto's, konden we drie objectieve variabelen introduceren die belangrijke bekende morfologische parameters van embryo kwaliteit konden meten in plaats van schatten.

De blastomeer volume index (BVI) geeft de verhouding tussen het totale volume van alle blastomeren van een embryo en het gemiddelde cytoplasmatische volume van een eikel op dag 0 weer (de kwantificering van fragmentatie). De blastomeer symmetrie index (BSI) kwantificeert de verhouding tussen het volume van de grootste en kleinste blastomeer in een embryo. De gemiddelde ovaliteit (mean ovality-MO) bepaalt hoe rond of ovaal de blastomeren van een embryo zijn.

De gemiddelde BVI was significant hoger voor embryo's die implanteerden vergeleken met embryo's die niet implanteerden. De gemiddelde BSI was geassocieerd met implantatie bij embryo's met ongelijke delingen. Er was geen verschil in de MO tussen de groep embryo's die wel of niet implanteerden. Logistische regressie analyses toonden aan dat de associatie van de BVI en BSI met implantatie beïnvloed werd door andere parameters en daardoor dus niet gebruikt konden worden om de kwaliteit van een embryo te bepalen.

Hoofdstuk 8 beschrijft de evaluatie van geboortegewichten van pasgeboren (eenling) baby's die als embryo gekweekt waren in verschillende soorten commercieel verkrijgbare kweekmedia. De embryo's waren afkomstig van een verse dag 3 SET cyclus of cryo (ingevroren en ontdooide embryo's) dag 5 SET cyclus. Doordat we in ons laboratorium van de ene op de andere dag van type kweekmedium wisselden, waren we in staat om de geboortegewichten van de baby's te vergelijken die als embryo in human tubal fluid (HTF) gekweekt zijn of in Sage®, Quinn 's advantage protein plus medium.

Analyses van 358 eenlingen geboren na een verse SET en 159 eenlingen geboren na een cryo SET toonden geen significant verschil aan tussen de HTF en Sage® groepen voor het gemiddelde geboortegewicht en het gemiddelde geboortegewicht dat gecorrigeerd is voor zwangerschapsduur, geslacht van de baby en pariteit van de moeder (z-scores). Daarnaast hebben we aangetoond dat het invriezen en ontdooien van embryo's kan leiden tot een aanzienlijk hoger gemiddeld geboortegewicht.

In **hoofdstuk 9** presenteren we een algemene discussie, waarin de resultaten van dit proefschrift en de implicaties voor de klinische praktijk uiteen gezet worden. We bespreken een aantal nieuwe embryo beoordeling- en selectietechnologieën die in de afgelopen decennia zijn geïntroduceerd in IVF klinieken, om te zien of hun (klinisch)

gebruik wordt ondersteund door een wetenschappelijk fundament. Het onderzoek wat de belangrijkste focus van dit proefschrift is, de bepaling van het metabole profiel van een embryo door middel van NIR spectroscopie, wordt ook hierin meegenomen. Daarnaast bespreken we de noodzaak van een goede validatie van nieuwe embryo beoordeling- en selectietechnologieën voor de routine IVF praktijk en gaan we dieper in op de toekomstige perspectieven van onze onderzoeksactiviteiten.