

TRANSFERÈNCIA D'EMBRIONS EN DIA 2 VERSUS DIA 3 EN CICLES DE FIV

Xavier Orriols,¹ Gemma Arroyo,¹ Montse Boada,¹ María José Gómez,¹ Pere N. Barri¹
i Anna Veiga^{1,2}

¹ Servei de Medicina de la Reproducció, Institut Universitari Dexeus.

Av. Carles III, 175. 08028 Barcelona. xavorr@dexeus.com.

² Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona.

Resum

Objectiu: Avaluar si existeixen diferències entre la transferència embrionària en dia 2 i en dia 3 i determinar si en dia 3 és possible fer una millor selecció dels embrions a transferir. **Material i mètodes:** Estudi prospectiu aleatoritzat que compara qualitat embrionària, taxa d'embaràs, d'avortament i de «nen a casa» en dia 2 i dia 3. **Resultats:** Un 58,4 % dels embrions amb una puntuació òptima en dia 2 la mantenien en dia 3. Un 44,7 % dels embrions amb puntuació < 5 en dia 2 va millorar-la en dia 3. Les taxes d'embaràs i de «nen a casa», malgrat que les diferències no van ser significatives, van ser superiors en les transferències realitzades en dia 3. La taxa d'avortament va ser inferior en dia 3. **Discussió:** Malgrat el reduït nombre de casos del qual es disposa actualment, els resultats indiquen una major taxa d'embaràs i menor d'avortament en les transferències realitzades en dia 3.

Paraules clau: dia de transferència, qualitat embrionària, taxa d'embaràs, taxa d'avortament.

Abstract

Purpose: Evaluate if there are differences between day 2 and day 3 embryo transfers and determine if day 3 is better than day 2 to select the best embryos for transfer. **Material and Methods:** Prospective randomized study that compared embryo quality, pregnancy, miscarriage and take-home baby rates on day 2 and day 3. **Results:** 58.4% of embryos that had an optimum score at day 2, were also optimal quality on day 3. 44.7% of embryos presenting a score < 5 on day 2 improved it on day 3. Pregnancy and take-home baby rates, although differences were not statistically significant, were higher on day 3 transfers, whereas miscarriage rate was lower on day 3. **Discussion:** Although preliminary, our results indicate that pregnancy rates are higher and miscarriage rates are lower in transfers performed on day 3.

Key words: transfer day, embryo quality, pregnancy rate, miscarriage rate.

INTRODUCCIÓ

Obtenir taxes d'embaràs més elevades sense augmentar els embarassos múltiples és, sens dubte, un dels principals objectius d'un cicle de fecundació *in vitro*. Per seleccionar els embrions amb un major potencial de desenvolupament, els embriòlegs ens basem en paràmetres morfològics tals com el nombre i la simetria dels blastòmers, el percentatge de fragmentació i la multinucleació, entre d'altres. Malgrat això, encara hi ha molts aspectes que no són clars, com per exemple la influència del dia de transferència (dia 2 o dia 3 després de la punció fol·licular) en el resultat final.

En el nostre centre, habitualment la transferència es realitza el dia 2 després de la punció fol·licular. Alguns autors suggereixen que retardant la transfe-

rència al dia 3 és possible realitzar una millor selecció de l'embrió a transferir, i s'obtenen així millors taxes d'embaràs (Dawson *et al.* 1995).

Atès que no existeix un consens generalitzat en aquest punt, ens hem proposat avaluar si existeixen diferències en les taxes d'embaràs segons el dia de la transferència embrionària i si la transferència en dia 3 permet una millor selecció dels embrions a transferir.

Taula 1. Puntuació embrionària de l'IU Dexeus (la puntuació final de l'embrió s'obté de la suma dels diferents apartats)

Blastòmers	Dia 2	Dia 3	Puntuació
Nombre	≥ 4	≥ 6	6
	< 4	> 6	2
Mida i forma	Simètrics i regulars		1
	Lleugerament asimètrics o irregulars		0
	Asimètrics o irregulars		-1
Fragmentació (%)	< 10		3
	≥ 10-20		2
	≥ 20-30		1
	≥ 30-50		0
	≥ 50		-1
Multinucleació*			2

*Si l'embrió presenta multinucleació se li assignarà un 2 sense tenir en compte cap altre paràmetre.

Taula 2. Característiques de les pacients en els grups de transferència en dia 2 i dia 3

	D+2	D+3
Pacients (<i>n</i>)	46	39
Edat (anys, $\bar{x} \pm SD$)	35,9 ± 0,9	35,6 ± 0,9
Estradiol en sang (picograms, $\bar{x} \pm SD$)	2.985,2 ± 1.605,5	2.438,2 ± 1.334,1
Nre. fol·licles/cicle ($\bar{x} \pm SD$)	10,6 ± 5,9	9,95 ± 5,1
Nre. oòcits/cicle ($\bar{x} \pm SD$)	11,8 ± 6,1	11,4 ± 7,5
Nre. oòcits madurs (MII)/cicle ($\bar{x} \pm SD$)	9,4 ± 5,6	8,8 ± 5,9
Oòcits inseminats per FIV ($\bar{x} \pm SD$)	3,2 ± 4,4	1,7 ± 3,2
Oòcits inseminats per ICSI ($\bar{x} \pm SD$)	6,6 ± 5,7	7,5 ± 5,1
Nre. d'embrions transferits/cicle ($\bar{x} \pm SD$)	1,9 ± 0,6	1,9 ± 0,5

Les diferències entre ambdós grups no eren significatives per a cap de les variables mostrades.

MATERIALS I MÈTODES

Pacients

L'estudi prospectiu aleatoritzat inclou 85 pacients que es van sotmetre a un cicle de fecundació *in vitro* al Servei de Medicina de la Reproducció de l'Institut Universitari Dexeus. La recollida de dades va començar el novembre de 2007 i finalitzarà un cop s'hagin recollit el nombre de casos necessaris per a la realització de l'estudi ($n = 400$). L'aleatorització de les pacients, amb assignació de la transferència dels embrions en dia 2 (D+2; grup *a*) o dia 3 (D+3; grup *b*) després de la punció, es va dur a terme el dia de la punció fol·licular. S'hi van incloure totes les pacients d'edat compresa entre els 35 i 37 anys. Segons el sistema de puntuació d'embaràs múltiple (*score* d'embaràs múltiple, SEM) del nostre centre, a les pacients d'aquest rang d'edat els corresponia la transferència de 2 embrions (Barri, 2005).

L'estudi va ser aprovat pel Comitè d'Ètica del centre.

Estimulació i recuperació dels oòcits

L'estimulació de les pacients i la manipulació dels oòcits i dels embrions es va realitzar segons els protocols estàndard del nostre centre (Calderón *et al.* 1995).

Qualitat embrionària

La qualitat dels embrions va ser avaluada d'acord amb la puntuació Dexeus a les 46 ± 2 hores (dia 2) i a les 68 ± 2 hores (dia 3) després de la inseminació. Breument, la puntuació Dexeus classifica els embrions de l'1 al 10. Els paràmetres que té en compte són el nombre de blastòmers, la mida i la simetria, el percentatge de fragmentació i la multinucleació (vegeu la taula 1). S'estableixen tres grups de qualitat embrionària: qualitat òptima (puntuació ≥ 8), qualitat intermèdia (5-7) i mala qualitat (< 5).

Taula 3. Distribució dels embrions segons l'evolució de la puntuació en dia 2 i en dia 3

	Puntuació en D+2	Puntuació en D+3		
		< 5	5-7	8-10
	< 5	55,3 %	28,7 %	16,0 %
	5-7	22,1 %	56,4 %	21,4 %
	8-10	10,1 %	31,5 %	58,4 %

Taula 4. Distribució dels embrions segons la puntuació en dia 2 i l'aturada en el desenvolupament en dia 3

Puntuació D+2		Aturada en D+3	
		No	Sí
< 5		94,5 %	5,5 %
5-7		91,9 %	8,1 %
8-10		99,3 %	0,7 %

Les diferències entre grups no eren significatives.

Anàlisi estadística

Per a l'anàlisi estadística de les variables qualitatives es va emprar el test de χ^2 de Pearson i la prova exacta de Fisher. Per a les variables quantitatives es va usar el test de *t*-Student.

RESULTATS

Perfil de les pacients

Les pacients ($n = 85$) van ser distribuïdes en dos

grups: 46 pacients del grup *a* (transferència embrionària el dia 2 després de la punció) i 39 pacients del grup *b* (transferència el dia 3 després de la punció). No es van observar diferències estadísticament significatives en l'edat de les pacients, en els valors d'estradiol ni en el nombre de fol·licles el dia d'administració de la hCG ni en el nombre d'embrions transferits per cicle (vegeu la taula 2).

Taxa de fecundació i qualitat embrionària

Es van recuperar 815 oòcits, dels quals 745 (91,4 %) van ser aptes per a la inseminació posterior. La taxa de fecundació va ser del 74,1 %.

Pel que a fa a la distribució dels embrions quant a la qualitat embrionària (vegeu la figura 1) no s'observen diferències significatives entre D+2 i D+3. S'han trobat diferències estadísticament significatives quant al percentatge dels embrions multinucleats (12,2 % en D+2 vs. 4,9 % en D+3).

Analitzant l'evolució dels embrions, es va observar que un 58,4 % dels embrions que presentaven una puntuació òptima en D+2 mantenien una qualitat òptima en D+3, mentre que un 31,5 % van passar a qualitat intermèdia i un 10,1 % van convertir-se en embrions de mala qualitat. D'altra banda, dels embrions que en D+2 presentaven una puntuació < 5, un 44,7 % va millorar la seva qualitat en D+3 (vegeu la taula 3).

Finalment, s'ha pogut observar que els embrions òptims en D+2 que es mantenien en cultiu fins a D+3 tenien una menor probabilitat d'aturar el seu

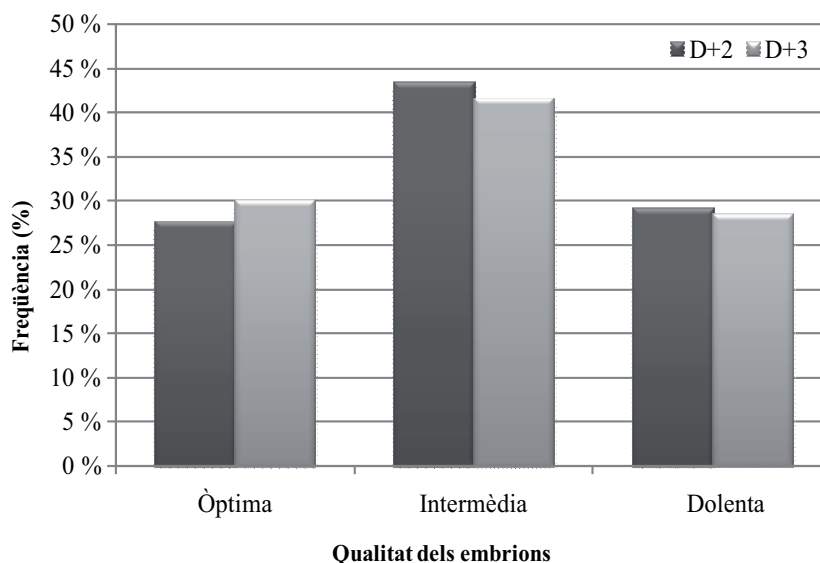


Figura 1. Distribució dels embrions segons la qualitat i el dia de cultiu. No s'observen diferències estadísticament significatives en les dades presentades.

desenvolupament quan es comparen amb la resta de categories, malgrat que les diferències no són significatives (vegeu la taula 4).

Taxes d'embaràs, de «nen a casa» i d'avortament

Malgrat que la taxa d'embaràs per cicle i la taxa de «nen a casa» va ser superior en les pacients del grup *b* (D+3: 41,1 % i 23,3 %, respectivament) respecte a les del grup *a* (D+2: 35,6 % i 15,8 %), aquestes no eren estadísticament significatives.

La taxa d'avortament va ser superior en aquelles pacients en què es va realitzar la transferència en D+2 (37,5 %) davant les pacients en què es va dur a terme en D+3 (18,8 %), tot i que les diferències no són significatives.

DISCUSSIÓ

Els nostres resultats mostren que la transferència en D+3 comporta una taxa d'embaràs i de «nen a casa» superior a la transferència en D+2, malgrat que les diferències no són significatives. En aquest mateix sentit, la taxa d'avortament és més baixa en D+3 que en D+2.

Encara que el nombre de casos analitzats és encara insuficient, els resultats no difereixen d'altres estudis similars publicats amb anterioritat.

Diversos autors (Os *et al.*, 1989; Dawson *et al.*, 1995; Carrillo *et al.*, 1998) van mostrar indicis que la transferència en D+3 podria comportar millores en la taxa d'implantació i d'embaràs en permetre una millor selecció embrionària. En canvi, altres estudis (Huisman *et al.*, 1994; Ertzeid *et al.*, 1999; Laverge *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2003; Blake *et al.*, 2009) no han trobat diferències significatives que permetin afirmar que la transferència en D+3 comporta una taxa d'embaràs i de «nen a casa» superior. Alguns autors afirmen fins i tot que la transferència en dia 2 estaria indicada en casos de pitjor pronòstic (Scott *et al.*, 2007; Blake *et al.*, 2009), ja que els embrions de mala qualitat podrien aturar el seu desenvolupament en condicions de cultiu *in vitro*. D'altra banda, la transferència en dia 2 no permet observar l'aturada dels embrions que en dia 3 no aconsegueixen activar el seu genoma. És per això que caldria transferir un nombre superior d'embrions, amb el conseqüent perill d'embaràs múltiple (Ménézo i Dale, 1995).

Un cop l'estudi es completi, l'augment mostrat podria proporcionar significança als primers resultats descrits, els quals sembla que indiquen que realitzar la transferència en D+3 permet obtenir una ta-

xa d'embaràs i de «nen a casa» superior. Caldria també analitzar si es tractaria d'un protocol aplicable a totes les parelles o si bé existiria un grup determinat de pacients que se'n podria beneficiar. Sospitem que la resposta de les pacients i el fet de poder realitzar una transferència selectiva serien els factors més importants a l'hora de poder oferir a les pacients la transferència embrionària en dia 3.

BIBLIOGRAFIA

- BARRI, P. N. (2005). «Multiple pregnancies: a plea for informed caution». *Human Reproduction Update*, 11(1): 1-2.
- BLAKE, D.; FARQUHAR, C.; JOHNSON, N.; PROCTOR, M. (2007). «Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception (Cochrane Database System Review)». *The Cochrane Library*, 4: CD002118, 1-122.
- CALDERÓN, G.; BELIL, I.; ARAN, B.; VEIGA, A.; GIL, Y.; BOADA, M.; MARTÍNEZ, F.; PARERA, N.; COROLEU, B.; PENELLA, J.; BARRI, P. N. (1995). «Intracytoplasmic sperm injection versus conventional in-vitro fertilization: first results». *Human Reproduction*, 10(11): 2835-2839.
- CARRILLO, A. J.; LANE, B.; PRIDMAN, D. D.; RISCH, P. P.; POOL, T. B.; SILVERMAN, I. H.; COOK, C. L. (1998). «Improved clinical outcomes for in vitro fertilization with delay of embryo transfer from 48 to 72 hours after oocyte retrieval: use of glucose- and phosphate-free media». *Fertility and Sterility*, 69(2): 329-334.
- DAWSON, K. J.; CONAGHAN, J.; OSTERA, G. R.; WINSTON, R. M. L.; HARDY, K. (1995). «Delaying transfer to the third day post-insemination, to select non-arrested embryos, increases development to the fetal heart stage». *Human Reproduction*, 10(1): 177-182.
- ERTZEID, G.; DALE, P. O.; TANBO, T.; STORENG, R.; KJEKSHUS, E.; ABYHOLM, T. (1999). «Clinical outcome of day 2 versus day 3 embryo transfer using serum-free culture media: a prospective randomized study». *Journal of Assisted Reproduction and Genetic*, 16(10): 529-534.
- HUISMAN, G. J.; ALBERDA, A. T.; LEERENTVELD, R. A.; VERHOEFF, A.; ZEILMAKER, G. H. (1994). «A comparison of in vitro fertilization results after embryo transfer after 2, 3, and 4 days of embryo culture». *Fertility and Sterility*, 61(5): 970-971.
- LAVERGE, H.; SUTTER, P. DE; ELST, J. VAN DER; M. DHONT. (2001). «A prospective, randomized study comparing day 2 and day 3 embryo transfer in human IVF». *Human Reproduction*, 16(3): 476-480.
- MÉNÉZO, Y.; DALE, B. (1995). «Paternal contribution to successful embryogenesis». *Human Reproduction*, 10(6): 1326-1328.
- OS, H. C. VAN; ALBERDA, A. T.; JANSSEN-CASPER, H. A.; LEERENTVELD, R. A.; SCHOLTES, M. C.; ZEILMAKER, G. H. (1989). «The influence of the interval

- between in vitro fertilization and embryo transfer and some other variables on treatment outcome». *Fertility and Sterility*, 51(2): 360-362.
- SANTOS, M. J. DE LOS; MERCADER, A.; GALÁN, A.; ALBERT, C.; ROMERO, J. L.; PELLICER, A. (2003). «Implantation rates after two, three, or five days of embryo culture». *Placenta*, 24: S13-S19.
- SCOTT, L.; FINN, A.; O'LEARY, T.; MCLELLAN, S.; HILL, J. (2007). «Morphologic parameters of early cleavage-stage embryos that correlate with fetal development and delivery: prospective and applied data for increased pregnancy rates». *Human Reproduction*, 22(1): 230-240.