

**TRABAJO DE FIN DE MÁSTER**

**en**

**Biología y Tecnología Aplicada a la  
Reproducción Humana Asistida**

**PRINCIPALES MÉTODOS DE SELECCIÓN  
EMBRIONARIA EMPLEADOS EN LA  
ACTUALIDAD**

Autor: Marta Cazalla González

Tutor: María Gaytán Muñoz

Alcobendas, Septiembre 2022

## ÍNDICE

1. <a href="#">Resumen</a> .....	p.3
2. <a href="#">Abstract</a> .....	p.4
3. <a href="#">Introducción</a> .....	p.5
3.1. <a href="#">SET vs DET</a> .....	p.6
3.2. <a href="#">Consideraciones éticas</a> .....	p.6
4. <a href="#">Objetivos</a> .....	p.8
5. <a href="#">Materiales y métodos</a> .....	p.8
6. <a href="#">Resultados</a> .....	p.8
6.1. <a href="#">Parámetros morfológicos</a> .....	p.8
6.2. <a href="#">Inteligencia Artificial</a> .....	p.11
6.2.1. <a href="#">Evaluación y selección embrionaria mediante IA</a> .....	p.14
6.3. <a href="#">Time-Lapse</a> .....	p.16
6.3.1. <a href="#">Evaluación embrionaria</a> .....	p.17
6.3.2. <a href="#">Algoritmos de TMS</a> .....	p.17
6.3.3. <a href="#">Determinación de la ploidía embrionaria mediante TMS</a> .....	p.18
6.3.4. <a href="#">Futuro de TMS</a> .....	p.18
6.4. <a href="#">Diagnóstico Genético Preimplantacional</a> .....	p.19
6.4.1. <a href="#">PGT-A</a> .....	p.20
6.4.2. <a href="#">PGT-M</a> .....	p.22
6.4.3. <a href="#">PGT-SR</a> .....	p.22
6.5. <a href="#">PGT NO INVASIVO (niPGT)</a> .....	p.23
6.5.1. <a href="#">Blastocentesis</a> .....	p.23
6.5.2. <a href="#">Material genético libre en el medio de cultivo</a> .....	p.24
7. <a href="#">Discusión</a> .....	p.27
8. <a href="#">Conclusiones</a> .....	p.29
9. <a href="#">Agradecimientos</a> .....	p.29
10. <a href="#">Bibliografía</a> .....	p.30
11. <a href="#">Anexos</a> .....	p.32

## 1. RESUMEN

La selección del mejor o de los mejores embriones entre todos aquellos disponibles como paso previo a su transferencia es de vital importancia por la mejora que produce en las tasas de implantación, embarazo y recién nacido vivo (RNV), a la par de una disminución en la tasa de aborto, los costes y el tiempo necesario para la obtención del embarazo deseado.

Se profundizará en las actuales técnicas empleadas para la selección embrionaria, recalcando su naturaleza invasiva o no invasiva. En el caso de las invasivas destacan las técnicas de micromanipulación, como el Diagnóstico Genético Preimplantacional (*Preimplantational Genetic Testing* o PGT), mediante la biopsia de los corpúsculos polares, de blastómeras o del trofoctodermo. Esta última es la técnica predominante en el estudio preimplantacional de la dotación cromosómica.

Entre los métodos no invasivos destaca la observación de la morfología de los embriones mediante un examen visual bajo microscopio y la anotación de unos parámetros específicos, un sistema predominante en las clínicas de reproducción asistida por gozar de ventajas como su rapidez, bajo coste y su naturaleza no invasiva, pero con inconvenientes como la subjetividad del observador. La observación automática de los parámetros morfocinéticos va adquiriendo protagonismo por todo el mundo, mediante sistemas de inteligencia artificial como la tecnología Time-lapse (Sistema de Monitorización o TMS), con importantes ventajas como su objetividad, pero con inconvenientes como su alto coste económico. Otras prometedoras técnicas no invasivas que continúan siendo investigadas son el análisis del ADN libre en el medio de cultivo, denominada niPGT, y la blastocentesis.

Los avances en este campo son continuos, por lo que es responsabilidad de los profesionales del sector mantenerse informados sobre la evolución de estas técnicas con el fin ofrecer los mejores servicios disponibles a los pacientes.

### Palabras clave

Selección embrionaria, Inteligencia Artificial (IA), TMS, PGT, niPGT.

## 2. ABSTRACT

The selection of the best embryo among all those available is of vital importance for the transfer process due to the higher implantation, pregnancy, and live newborn rates, as for the decrease in the miscarriage rate, the costs and the necessary time period to achieve the desired pregnancy.

Actual techniques applied in embryo selection will be divided in, discerning their invasive or non-invasive nature. Regarding the invasive ones, micro-manipulative techniques stand out, like Preimplantational Genetic Testing (PGT) based in the biopsy of the corpuscular bodies, embryo blastomeres or trophoctoderm. The latest one is the predominant technique used in the pre-implantation study of the chromosomal condition.

Amongst non-invasive methods, morphological observation of the embryos by manual examination under microscope and the annotation of specific parameters stand out. This is the primary system in assisted reproduction clinics due to advantages like its quickness, low pricing and non-invasive nature, however it doesn't lack inconveniences such as observer subjectivity. Automatic observation of morphokinetic parameters is gaining traction across the world, with artificial intelligence systems like the Time-lapse technology (TLM), with huge advantages such as its objectivity, but with disadvantages like its high economic cost. Another non-invasive promising technique that is still being investigated is the analysis of free DNA found in the culture media, named niPGT, and blastocentesis.

The advances in this field are nonstop, that's why it is the professionals of the sector's responsibility to be updated about the evolution of these technologies with the purpose of offering the best services available to the patients.

### Key words

Embryo selection, Artificial Intelligence (AI), TMS, PGT, niPGT.

### 3. INTRODUCCIÓN

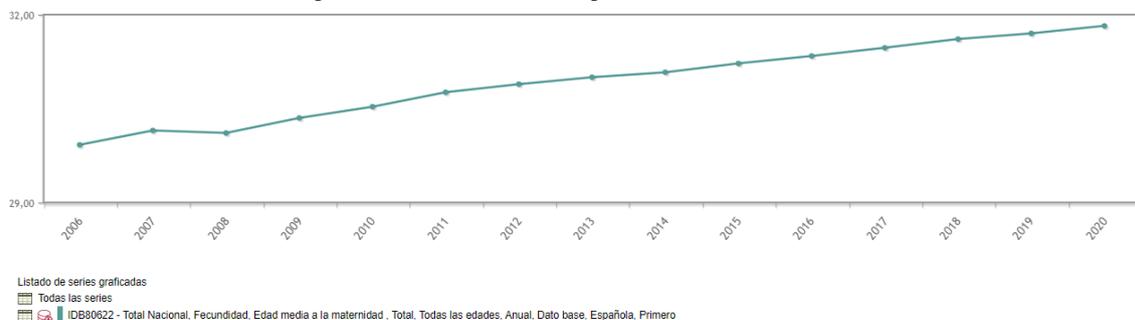
Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la infertilidad se define como la imposibilidad de conseguir un embarazo después de 12 meses o más de relaciones sexuales habituales sin protección. Esta infertilidad puede ser causada, entre otras cosas, por la ausencia de gametos o por su mala calidad, tanto en hombres como en mujeres. Es la mencionada falta de calidad lo que puede producir embriones que sufren de aneuploidías, anomalías estructurales o abortos espontáneos.

El aumento de aneuploidías está directamente relacionado con la edad, especialmente en el caso de las mujeres, debido a la generación de ovocitos de peor calidad a partir de los 35 años. En estos ovocitos son más frecuentes los errores meióticos durante la segregación cromosómica, produciendo un número anormal de cromosomas. Tras la fecundación pueden generarse embriones aneuploides que pueden dar lugar a fallos de implantación, abortos tempranos espontáneos o anomalías congénitas como el síndrome de Down (trisomía del cromosoma 21), síndrome de Edwards (trisomía del cromosoma 18) o el síndrome de Turner (monosomía X) (1). Debido a esto es muy importante realizar estudios genéticos a los pacientes y embriones resultantes para determinar cuáles son adecuados para su transferencia, mejorando así la probabilidad de obtener un Recién Nacido Vivo (RNV).

Según los datos publicados por el Instituto Nacional de Estadística (INE) la edad media del primer embarazo en España en el 2020 fue de 31,82 años. Como se ve representado en la figura 1, la edad del primer embarazo ha ido aumentando ininterrumpidamente, debido principalmente socioeconómicos: educación, nutrición, ingresos económicos, nivel de actividad, etc.

Figura 1:

*Evolución de la edad del primer embarazo en España, de 2006 a 2020*



Las mujeres españolas paulatinamente van aumentando su nivel de estudios, por lo que suelen postergar la maternidad hasta haberlos finalizado y tras lograr la obtención de un trabajo que les aporte una estabilidad económica y mental.

### **3.1 SET vs DET**

Hoy en día la técnica que predomina es la transferencia de un único embrión, denominada *Single Embryo Transfer* (SET), frente a la transferencia de dos embriones, *Double Embryo Transfer* (DET) o más. Para que los pacientes puedan decidir a qué método se van a ajustar es necesario informarles de las desventajas que supone el DET, ya que en ocasiones insisten en la transferencia de múltiples embriones para acelerar el proceso y reducir los costes directos del tratamiento. Normalmente se recomienda SET a todas las pacientes de buen pronóstico, raramente se recurre al DET [\(2\)](#).

Aunque sí es cierto que generalmente mediante el DET de un embrión de buena calidad y otro de mala calidad se obtienen mayores tasas de embarazo y RNV en pacientes de mal pronóstico, cuando se compara con el SET acumulado mediante transferencias de embriones de buena calidad criopreservados las tasas se igualan. Además, el DET presenta numerosas desventajas frente al SET, como un aumento en la tasa de embarazo múltiple, asociado a un aumento en la mortalidad y morbilidad tanto maternas como neonatales, aumento de complicaciones como partos pretérminos, la necesidad de la realización de una cesárea u hospitalización postparto o preeclampsia [\(2\)](#).

### **3.2 Consideraciones éticas**

Se pueden encontrar numerosas evidencias que apoyan la selección embrionaria previa a la transferencia, como puede ser el aumento de la tasa de implantación, embarazo, y RNV. Adicionalmente, las pacientes se sienten más seguras al saber que se les ha transferido el mejor embrión de entre los disponibles, lo que puede disminuir sus niveles de estrés. Sin embargo, todas estas ventajas también vienen acompañadas de connotaciones éticas tanto para los profesionales como para los pacientes.

Un ámbito con gran controversia es la creación de los denominados “bebés medicamento” o “hermanos salvadores” (“*saviour sibling*” en inglés). Estos embriones son seleccionados específicamente debido a su compatibilidad genética con algún hermano/a que sufra una determinada condición clínica [\(3\)](#). Por ejemplo, en 2011 la clínica IVI permitió la selección de un embrión, que posteriormente generó gemelas, compatible con

otro hijo de la pareja que sufría de adrenoleucodistrofia con el objetivo de realizar un trasplante de médula ósea y cordón umbilical sin riesgo de rechazo (4). Algunos profesionales defienden que los padres solo tienen a estos bebés para cubrir una necesidad, el tratamiento de la enfermedad de otro hijo ya existente. Sin embargo, este razonamiento también se podría aplicar a el hecho de tener un segundo hijo para que haga compañía al primero, de esta forma dispondría de un compañero de juegos constante. También hay que tener en consideración que la prohibición de esta técnica podría implicar la pérdida de vidas que pudieran haberse salvado (3).

Un factor que en la actualidad está generando cierto grado de controversia es que la gran mayoría de los preembriones creados mediante las técnicas de FIV no son transferidos (5). En el artículo 11 de la Ley 14/2006 está indicado que estos preembriones sobrantes deberán ser obligatoriamente criopreservados en bancos autorizados para ello, cuyos destinos posteriores podrán ser:

- Donación a terceros con fines reproductivos.
- Donación con fines de investigación o didácticos. Se deberá indicar la finalidad del proyecto que utilizará los embriones.
- Cese de su conservación. Siempre y cuando la mujer ya no reúna los requisitos necesarios para someterse a un proceso de reproducción asistida.

En todos estos casos los pacientes deberán firmar un documento en el que se exponga que han sido informados al completo de todas las opciones y que han decidido libremente. En caso en el que finalice el periodo de crioconservación establecido en el documento se contactará con los pacientes para saber si desean ampliar el plazo de conservación de los embriones o no. En el supuesto de no conseguir contactar con ellos por ningún método establecido tras dos renovaciones consecutivas los embriones quedarán a disposición de la clínica (6).

Otros elementos clave a tener en cuenta sobre esta ley es que supone una infracción grave la transferencia de más de tres preembriones en el caso de FIV y técnicas afines, al igual que la generación de un número mayor de embriones del necesario para garantizar una tasa de éxito razonable en cada caso (6).

Hay que destacar que la selección de embriones no es en ningún caso la creación de un embrión con las características deseadas por los padres, simplemente es, como ya se ha

mencionado, la selección del embrión con mayores probabilidades de llegar a término. En ninguna circunstancia el objetivo será la mejora de la raza humana, o eugenesia.

#### **4. OBJETIVOS**

- Exponer las técnicas más comunes de selección embrionaria, tanto las empleadas actualmente como las que aún gozan de un gran potencial de desarrollo.
- Representar los grandes avances que se han hecho en este campo y lo que todavía queda por descubrir.

#### **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

En la realización de la revisión bibliográfica he utilizado la herramienta de búsqueda PubMed, seleccionando artículos publicados desde enero del 2019, para basarme en aquellos más recientes y actualizados. Únicamente he seleccionado artículos en inglés, empleando las siguientes palabras clave: Embryo selection, embryo morphokinetics, Artificial intelligence, ni-PGT, PGT y Time-Lapse.

A la hora de desarrollar el apartado de la bibliografía he empleado el gestor bibliográfico “*Mendeley Reference Manager*”.

#### **6. RESULTADOS**

##### **6.1 PARÁMETROS MORFOLÓGICOS**

La monitorización de la morfología embrionaria desde la fecundación hasta la transferencia puede ser realizada de forma manual o automática (explicada en el apartado “Inteligencia Artificial”). En el método manual será el embriólogo el que determine la normalidad o la irregularidad de los parámetros morfológicos mediante su observación bajo microscopio óptico, por lo que la técnica posee un claro elemento subjetivo que puede producir variaciones en los resultados. Este estudio deberá realizarse eficazmente, sin perder tiempo, ya que es necesario extraer a los embriones del incubador, produciéndose una variación en las condiciones de cultivo que podría comprometer su

viabilidad. Actualmente este método continúa siendo la forma de determinar la viabilidad embrionaria predominante debido a su relativa simplicidad, rapidez y a su no invasividad.

Durante la evaluación del embrión se examina el número de células que lo componen, su simetría, grado de compactación y fragmentación, presencia de vesículas citoplasmáticas o multinucleación, así como la apariencia de la masa celular interna (MCI) y el trofoectodermo junto con la expansión del blastocisto y la evolución del proceso de eclosión. La normalidad de estos parámetros en ningún caso asegura la consecución de un embarazo ni de la obtención de un recién nacido, simplemente supone una mejora de sus posibilidades.

Los criterios de normalidad según ASEBIR son los siguientes [\(7\)\(Anexo 1\)](#):

- D1: el embrión se encuentra en estado de cigoto, 16-18 horas tras la inseminación. Se deben ver los pronúcleos y los corpúsculos polares. El paso directo de una célula a tres es indicador de mala calidad, suponiendo el descarte del embrión, al igual que la presencia de un único corpúsculo polar.
- D2 y D3: El número de blastómeras deberá ser de 4 en el día 2, y mayor de 4 en el día 3. Todas las células deben ser uninucleadas ya que lo contrario es indicador de anomalías cromosómicas. La aparición de vacuolas con un tamaño menor a 5  $\mu\text{m}$  de diámetro no compromete su viabilidad. Con respecto a la zona pelúcida, un buen pronóstico está determinado por su forma redondeada, con un grosor de en torno a 19,5  $\mu\text{m}$ , sin fraccionamiento interno y transparente. La velocidad de división deberá permitir que se doble el número de células en un periodo de 24 horas.
- D4: el embrión se debe encontrar compactado o en proceso de compactación (>50%), con un número de células mayor de 8. Las blastómeras que no participan en el proceso de compactación tienen una mayor probabilidad de portar una aneuploidía. Es común encontrar vacuolas o fragmentos citoplasmáticos originados durante la apoptosis.
- D5 y D6: la observación del blastocele en el blastocisto es un buen signo, al igual que su expansión y el consiguiente adelgazamiento de la zona pelúcida. Las células del trofoectodermo deberán ser lo más uniformes posible. En el caso de la masa celular interna, esta deberá estar totalmente compactada y poseer una forma

oval. Pueden aparecer los primeros signos de la eclosión. La aparición tardía del blastocisto (a partir del día 6) es un signo desfavorable.

Los embriones se clasifican según su calidad en [\(7\)](#):

- Grado A: son los embriones de mejor calidad, por lo que su probabilidad de implantación es muy alta.
  - Embriones de día 2 con 4 células, y de día 3 con 8 células o más, uninucleadas y de tamaños similares.
  - Porcentaje de fragmentación inferior al 10% o inexistente.
  - Zona pelúcida normal.
  - Citoplasma claro, sin vacuolas.
- Grado B: son embriones de buena calidad y con una probabilidad de implantación alta.
  - Embriones de día 2 con 4-5 células, y de día 3 con 7-10 células, uninucleadas, pero de tamaños ligeramente diferentes.
  - Porcentaje de fragmentación de 10-25%.
  - Zona pelúcida más gruesa de lo normal.
  - Citoplasma claro, con pequeñas vacuolas.
- Grado C: son embriones de calidad media y con una probabilidad de implantación baja.
  - Embriones de día 2 con 2-6 células, y de día 3 con 6-12 células, habiendo 1 o 2 células multinucleadas y generalmente asimétricas.
  - Porcentaje de fragmentación de 25-35%.
  - Zona pelúcida más gruesa de lo normal.
  - Citoplasma más opaco, con grandes vacuolas.
- Grado D: son los embriones de peor calidad, por lo que su probabilidad de implantación es muy baja.
  - Embriones de día 2 con 3-6 o más células, y de día 3 con 3-5 o más células, la mayoría siendo multinucleadas y asimétricas.
  - Porcentaje de fragmentación mayor de 35%.
  - Zona pelúcida más gruesa de lo normal.
  - Citoplasma opaco, con grandes vacuolas.

Figura 2:  
*Grados de clasificación embrionaria según su calidad*



*Nota.* Domingo, A., Barranquero, A., Recuerda, P., Gómez, R., et al. (2021). Clasificación según la calidad embrionaria. Reproduccionasistida. <https://www.reproduccionasistida.org/transferecia-de-embriones/>

Es necesario enfatizar que puede haber cierto grado de variabilidad interlaboratorio en los parámetros morfocinéticos debido a sus condiciones internas como la temperatura, humedad o pH, lo que puede llevar a resultados en ocasiones discordantes. Para reducirla es recomendable realizar controles de calidad internos periódicos y establecer un correcto plan de formación continuada de los trabajadores.

## 6.2 INTELIGENCIA ARTIFICIAL (IA)

El proceso de evaluación y selección embrionaria está enfocado en obtener el mejor embrión a partir de una cohorte completa para su transferencia o criopreservación, aunque en la mayoría de las ocasiones algunos embriones de la cohorte son descartados por diversas razones como puede ser una morfología anormal o por la detención de su desarrollo (8).

En la última década se han producido numerosos avances de gran importancia en las técnicas de selección embrionaria, pero algo que destaca es el empleo de inteligencia artificial basada en la captura y análisis de imágenes mediante un incubador con una cámara y un software específico. Hoy en día los incubadores disponibles con estas características son diversos, como EmbryoScope (Vitrolife), Geri (Merck-Serono) y Miri (Esco Medical). Estos permiten la monitorización continua de los siguientes parámetros morfocinéticos:

Tabla 1.  
*Parámetros morfofocinéticos empleados en algoritmos de IA*

<b>Variables individuales</b>	<b>Definición</b>
<b>t0</b>	Tiempo de inseminación FIV o Tiempo medio de microinyección (ICSI)
<b>tPB2</b>	Tiempo de extrusión completa del segundo corpúsculo polar
<b>tPN</b>	Tiempo de aparición de los dos pronúcleos
<b>tPNa</b>	Tiempo de aparición de cada uno de los pronúcleos
<b>tPNf</b>	Tiempo de desaparición de los pronúcleos
<b>tZ</b>	Tiempo de evaluación del score pronuclear
<b>t2, t3, t4...t9</b>	Tiempo de paso a 2, 3, 4...9 células
<b>tSC</b>	Tiempo desde la inseminación hasta el inicio de la compactación
<b>tMf/p</b>	Tiempo fin de compactación (mórula); 'f' corresponde a compactación total; 'p' corresponde a compactación parcial
<b>tSB</b>	Tiempo inicio de blastulación (del inglés starting blastulation)
<b>tByz</b>	Tiempo de blastocisto completo; 'y' corresponde a la morfología de la masa celular interna; 'z' corresponde a la morfología del trofoectodermo
<b>tEyz</b>	Tiempo inicio de expansión; primer signo de afinamiento de la zona; 'y' corresponde a la morfología de la masa celular interna; 'z' corresponde a la morfología del trofoectodermo
<b>tHNyz</b>	Tiempo de extrusión (del inglés hatching); fin de fase de expansión e inicio de hatching o extrusión
<b>tHDyz</b>	Tiempo blastocisto extruido o hatched, es decir, totalmente fuera de la zona pelúcida
<b>Variables calculadas</b>	<b>Definición</b>
<b>VP (tPNf - tPNa)</b>	Duración de la fase en estado pronuclear
<b>cc1 (t2 - tPB2)</b>	Duración primer ciclo celular
<b>cc2 (t4 - t2)</b>	Duración segundo ciclo celular
<b>cc2a</b>	Duración segundo ciclo de cada blastómera
<b>cc3 (t8 - t4)</b>	Duración tercer ciclo celular
<b>cc3a</b>	Duración tercer ciclo de cada blastómera
<b>s2 (t4 - t3)</b>	Sincronía segundo ciclo celular
<b>s3 (t8 - t5)</b>	Sincronía tercer ciclo celular
<b>dcom</b>	Duración de la compactación
<b>dB (tB-tSB)</b>	Duración de blastulación
<b>dexp (tHN-tE)</b>	Duración de expansión blastocisto
<b>dcol</b>	Duración colapso de blastocisto
<b>dre-exp</b>	Duración de re-expansión
<b>dHN (tHN-tHD)</b>	Duración del hatching

Gracias al empleo de la IA se están desarrollando métodos objetivos y reproducibles que permiten aumentar las tasas de éxito de los procedimientos mediante la extracción de información relevante a partir de imágenes obtenidas por microscopía. La IA puede

asimilar grandes bases de datos automáticamente y analizar patrones complejos que no podrían ser estudiados eficazmente de forma manual. Los estudios retrospectivos actuales parecen diferir en algunas conclusiones, pero defienden que el uso de IA obtiene mejores resultados que la evaluación manual.

Se ha producido una mejora general en los procesos de evaluación embrionaria, pero a la hora de la valoración de los gametos, tanto ovocitos como espermatozoides, se necesita optimizar la técnica para reducir el número de embriones creados [\(8\)](#).

Los ovocitos seleccionados deben cumplir el requisito de ser maduros. Para poder determinar si esto se cumple es necesario eliminar las células del cúmulo (CC) circundantes a él, ya que esta masa impide ver correctamente el estado del primer corpúsculo polar, indicando del grado de maduración nuclear. La evaluación de la maduración citoplasmática es más complicada por lo que actualmente hay líneas de investigación activas que están estudiando métodos no invasivos para su estimación. Por ejemplo, se está comenzando a utilizar machine learning (ML) a la hora de seleccionar los mejores ovocitos de ratones tras un proceso de maduración in vitro. En el caso de los seres humanos la evaluación ovocitaria usando IA para predecir tasas de fertilización, llegada al estado de blastocisto y potencial de implantación está todavía en una etapa temprana.

La aplicación de IA a la hora de la selección de espermatozoides según su morfología y la integridad de su ADN también está siendo investigada, especialmente en los pacientes que sufren de infertilidad masculina severa. Cabe destacar el método CASA, que utiliza ML junto a IA para evaluar automáticamente la calidad de los espermatozoides [\(8\)](#).

El inicio de la aplicación de IA en la clasificación embrionaria se dio a partir de un estudio realizado por Koshravi et al. [\(9\)](#) en 2019 en el que se analizó un conjunto de imágenes creadas por un sistema de Time-Lapse (TMS) de 10.148 blastocistos D5 obtenidos 110 horas post ICSI. Se vio que la velocidad y el momento en el que se producían los diferentes pasos en el desarrollo embrionario estaban significativamente relacionados con la tasa de implantación.

Utilizando las imágenes obtenidas se desarrolló un sistema de IA denominado STORK, que permitió la clasificación de blastocistos humanos con una precisión del 97,56% en blastocistos de buena o mala calidad. A su vez se creó un árbol de decisiones que

integraba la calidad del blastocisto y la edad materna, lo que permitió predecir la posibilidad de obtener un embarazo.

Recientemente se están incorporando parámetros obtenidos de cualquier punto del desarrollo embrionario, no solo de blastocistos D5, para optimizar lo máximo posible la selección del mejor blastocisto.

Una tecnología muy novedosa que se está estudiando en la actualidad es un sistema para smartphones que permite la evaluación de embriones humanos. Se ha aplicado la IA a imágenes tomadas a partir de la cámara de un móvil, con su consiguiente “mala” calidad, y se está consiguiendo diferenciar entre blastocistos y no blastocistos con una precisión de en torno al 90% (8).

### **6.2.1 Evaluación y selección embrionaria mediante IA**

#### Anotación automática

La aparición de TMS ha sido clave en el ámbito de la anotación automática. Como ya se comentará más adelante el uso de Sistemas de Time-Lapse está basado en el estudio variables morfocinéticas. El empleo de IA en esta tecnología sería una forma de optimizarlo, ya que en un TMS se anotan de forma manual los procesos clave en el desarrollo embrionario por lo que hay cierto grado de subjetividad y los resultados podrían variar entre clínicas. Sin embargo, incorporando el proceso de anotación automática mediante IA se conseguiría aumentar la precisión.

Actualmente algunos TMS comercializados, como EmbryoScope (Vitrolife), Geri (GeneaBiomedix), y ESCO, incluyen en su software ML.

Los sistemas de anotación automática deben ser rápidos, precisos, reproducibles, específicos y deben tener la capacidad de reconocer cualquier tipo de anormalidad en el desarrollo celular o nuclear. Para ello el sistema debe poder reconocer el embrión dentro del medio de cultivo con el fin de crear un área de interés que mantendrá vigilada en todo momento, y así determinar si se está produciendo correctamente o no la división celular.

#### Calificación embrionaria

El campo más estudiado sobre la aplicación de IA en reproducción asistida es la calificación embrionaria, especialmente en estadio de blastocisto, debido a que se ha visto que está asociado con la tasa de implantación.

El proceso de aprendizaje de la máquina consiste en su exposición a imágenes de embriones que han sido previamente evaluadas por embriólogos expertos, por lo que este depende en gran medida de la calidad de la información suministrada.

#### Predicción de la ploidía embrionaria

Actualmente se están desarrollando técnicas no invasivas que permitan establecer la ploidía embrionaria con la mayor fiabilidad posible. Un ejemplo de esto es el estudio de ADN libre en el medio de cultivo, técnica en la que se profundizará más adelante. Otro ejemplo sería el uso de IA, con la que se ha comenzado a relacionar la morfología embrionaria y la calificación del blastocisto con la ploidía, de forma que el blastocisto de mejor calidad tenía mayor probabilidad de ser euploide. A su vez, los TMS han descrito una asociación entre los patrones morfocinéticos y la ploidía (8).

Hay que tener en cuenta que aneuploidías puntuales podrían no afectar al desarrollo embrionario, es más sencillo detectar cambios en la carga genética debidos a aneuploidías más complejas.

Al igual que las técnicas invasivas, las no invasivas tampoco han sido capaces de detectar las aneuploidías con una precisión del 100%, pero como se ha visto tienen numerosas ventajas y un gran potencial futuro.

#### Abortos

La IA se podría usar para predecir las posibilidades de que se produzca una parada involuntaria del embarazo al analizar bases de datos relacionadas con el latido fetal y el desarrollo temprano de rasgos fetales. Todavía queda mucho por investigar en este campo.

#### Ovario y útero

Un punto clave en la determinación de la fertilidad femenina es el estudio de la reserva ovárica mediante el recuento de folículos antrales. Actualmente se está investigando el empleo de IA en el análisis de imágenes obtenidas por ecografía para realizar este recuento.

También se está indagando en el uso de IA en la evaluación del endometrio y en la detección de anomalías uterinas, aunque todavía tiene un amplio margen de mejora.

En el futuro incluso se podría utilizar la IA en la asignación de donantes de óvulos a los pacientes según su grado de compatibilidad.

### **6.3 TIME-LAPSE**

La posibilidad de clasificar los embriones según su calidad permite la transferencia del mejor embrión en primer lugar, reduciendo el tiempo necesario para conseguir un embarazo, aunque no supone un aumento en la tasa de embarazo y nacimiento acumulada (10). Además, fomenta la transferencia de un único embrión, reduciendo las posibles complicaciones que podrían sufrir la madre y la descendencia debidas a un embarazo gemelar. La recopilación de datos por parte de los laboratorios en ocasiones puede tener cierto grado de confusión por la variación de sus parámetros y de los materiales empleados, lo que dificulta el desarrollo de estos sistemas. Es por esto que el empleo de ML puede ser de gran utilidad por la asimilación y relación de todos estos parámetros.

A la hora de tener un óptimo sistema de FIV es fundamental controlar las condiciones del laboratorio y fomentar la correcta formación del personal, ya que ambos son los factores clave que determinarán el éxito o fracaso del proceso. Esto permitirá mantener unas condiciones de cultivo lo más parecido posible al entorno natural de los embriones, favoreciendo la fecundación y su desarrollo.

En la evaluación manual de los embriones es necesario cambiarlos de placa y medio en varios momentos determinados (en caso del cultivo secuencial), por lo que las condiciones de pH y temperatura variarán con respecto a las del incubador, generando un estrés metabólico que puede afectar a la viabilidad. Por esta razón el tiempo empleado en su estudio deberá ser el mínimo posible, lo que en ocasiones puede hacer que se pase algo por alto.

Otra desventaja de evaluar el embrión de forma manual es que solo se observa en momentos determinados, no hay una monitorización continua, por lo que se desconoce lo que ocurre en los espacios entre observaciones.

El TMS permite solventar estos inconvenientes, ya que es capaz de mantener unas condiciones estables de cultivo, anulando la necesidad de sacar el embrión al medio externo debido a su constante monitorización con una cámara acoplada al incubador, lo que también evita pasar por alto eventos de gran importancia que pudieran alterar la

calidad y el desarrollo embrionario. La toma de imágenes cada 5-20 minutos, dependiendo de cada sistema, permite crear un video en el que se advierte todo el desarrollo del embrión, desde la fecundación hasta su transferencia o criopreservación.

También presenta otras ventajas, como el hecho de poder ser monitorizado a distancia, con un software específico que permite acceder a las imágenes y resultados desde cualquier lugar de la clínica. La utilización de TMS a su vez resulta de gran utilidad a la hora de formar nuevos embriólogos en la evaluación de la calidad embrionaria [\(10\)](#).

### **6.3.1 Evaluación embrionaria**

Conforme se fueron realizando más estudios acerca del cultivo embrionario hasta el estado de blastocisto se desarrollaron modelos de predicción de su evolución. En 1997 el grupo encabezado por Gardner y Schoolcraft logró diseñar el primer sistema de calificación de blastocistos, denominado “gold standard”, en el que se les asignaba un número del 1 al 6 en base a su grado de expansión y de hatching, mientras que el trofoectodermo y la masa celular interna (MCI) eran calificados con las letras A-C.

### **6.3.2 Algoritmos de TMS**

Esta tecnología implica diferentes tipos de sistemas, las placas de cultivo y la cámara que pueden formar parte de un sistema separado del incubador (sistema abierto) o pueden estar ambos integrados, normalmente se trata de un incubador benchtop (sistema cerrado) acoplado a su vez a un microscopio.

En los diferentes TMS se pueden encontrar diversos softwares, por lo que sus algoritmos base y el método de calificación varían. Esto implica que en ocasiones no es posible comparar los métodos ni los resultados entre estudios o laboratorios.

Los algoritmos utilizados en TMS han sido desarrollados en base al estudio de las variables morfocinéticas, que son la morfología y los procesos de división embrionarios estudiados en momentos determinados del desarrollo. Como se ha comentado anteriormente algunos ejemplos de estas variables serían la aparición y desaparición de los pronúcleos, formación de las células del blastocisto, etc. En la actualidad la estimación de la probabilidad de implantación y de RNV utilizando estos algoritmos sigue siendo más baja de lo deseado. No existen evidencias que muestren que el uso de complejos sistemas de puntuación basados en algoritmos sean más certeros a la hora de elegir el mejor embrión que los métodos convencionales [\(10\)](#). Sin embargo, su uso sí está

recomendado a la hora de descartar embriones, ya que se ha visto que ciertas anomalías en la división, como el paso directo de una célula a tres, afecta negativamente al proceso de implantación.

### **6.3.3 Determinación de la ploidía embrionaria mediante TMS**

Con respecto a la transferencia embrionaria es de vital importancia seleccionar únicamente aquellos que son euploides, ya que son los que mayores tasas de éxito tienen y se evitan futuras complicaciones. Para ello se están llevando a cabo una gran cantidad de estudios que determinen el mejor método de estimación de la ploidía embrionaria, especialmente aquellos que utilizan procedimientos no invasivos. El método más estandarizado de estimación de la ploidía es el PGT-A, en el que se profundizará más adelante.

Aceptando un enfoque claramente menos invasivo, se está estudiando como las variables morfocinéticas en las que se basa el TMS podrían estar influenciadas por la ploidía embrionaria.

En un estudio llevado a cabo en 2020 por Alejandro Chávez-Badiola et al. se creó y empleó un algoritmo de inteligencia artificial denominado ERICA en el análisis de una única imagen obtenida a partir de 1231 embriones cuyos resultados eran conocidos. Este sistema consiguió predecir la ploidía embrionaria correctamente en el 79% de los casos [\(11\)](#).

### **6.3.4 Futuro de TMS**

Se está investigando el uso de Deep Learning, fundamentado en el análisis automático de grandes bases de datos de TMS. Para ello inicialmente el sistema hace predicciones al azar acerca del desenlace estimado, y las compara con el resultado real.

En un estudio realizado por Tran et al. en el que se creó un modelo basado en los videos time-lapse de 8836 embriones, se observó que el sistema acertó en la predicción del latido fetal en un 93% de los casos [\(12\)](#).

En otro estudio llevado a cabo por Koshravi et al. se tuvieron en cuenta más de 12.000 imágenes obtenidas por time-lapse de 877 embriones de buena calidad y 887 de mala calidad. Consiguieron predecir la calidad del blastocisto que se iba a desarrollar en un 98% de las ocasiones, una tasa superior a la obtenida por los embriólogos participantes [\(9\)](#).

#### **6.4 DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL (PGD)**

El diagnóstico genético preimplantacional (PGD o PGT, del inglés *Preimplantation Genetic Testing*) permite conocer el estado cromosómico de los embriones generados por FIV previamente a su implantación mediante la biopsia y análisis del embrión en día 3 de desarrollo embrionario, o en estadio de blastocisto [\(3\)](#).

En 1967 los doctores Robert Edwards y Richard Gardner publicaron un trabajo en el que se describía por vez primera la técnica del PGD, con la que determinaron el sexo de blastocistos de conejo. Sin embargo, fue a partir de la aparición de la fecundación in vitro en 1978 y de la PCR en 1980 cuando se comenzó a avanzar en esta técnica. El primer caso clínico en el que se empleó el PGT fue por el grupo de Kontogianni, durante 1989, en el que se seleccionó a los embriones por su sexo para evitar que sufrieran una enfermedad hereditaria ligada al cromosoma X [\(13\)](#). Debido a los nuevos avances en la biopsia y en los métodos citogenéticos en la actualidad no solo se pueden detectar enfermedades monogénicas, si no también otras alteraciones como translocaciones Robertsonianas, inversiones, deleciones, duplicaciones o inserciones [\(14\)](#).

Desde los años 90 esta técnica se ha empleado en pacientes que pasan por FIV con el objetivo de identificar y seleccionar embriones euploides para su transferencia, aumentando la eficacia de cada ciclo de FIV, mejorando las tasas de implantación y reduciendo el tiempo necesario para conseguir un embarazo viable [\(14\)](#).

Actualmente hay una gran variedad de tecnologías que pueden detectar cientos de alteraciones genéticas, como la hemofilia de tipo A, el síndrome de X frágil o la  $\beta$ -talasemia, entre muchas otras. El empleo de PGT a la hora de seleccionar los embriones no garantiza la ausencia de patologías o anomalías genéticas en la descendencia, simplemente reduce sus posibilidades de aparición. Estas alteraciones aumentan con la edad, por lo que es recomendable el uso de esta técnica en pacientes mayores de 40 años. También está indicada en pacientes con fallos repetidos de implantación, abortos recurrentes o con un factor masculino severo [\(14\)](#).

El PGD ha adquirido una mayor popularidad entre profesionales y pacientes frente al estudio genético prenatal debido a que evita la transferencia de embriones con anomalías genéticas con las consecuencias que esto acarrea y supone una reducción en la tasa de aborto [\(3\)](#).

En la Ley 14/2006, artículo 12, se indican las circunstancias que se deben cumplir a la hora de aplicar las técnicas de diagnóstico preimplantacional [\(6\)](#):

- a) La detección de enfermedades hereditarias graves, de aparición precoz y no susceptibles de tratamiento curativo posnatal con arreglo a los conocimientos científicos actuales, con objeto de llevar a cabo la selección embrionaria de los preembriones no afectados para su transferencia.
- b) La detección de otras alteraciones que puedan comprometer la viabilidad del preembrión.

En los siguientes casos es necesaria la aprobación previa por parte de la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida (CNRHA) [\(6\)](#):

- a) El DPI en los casos en los que no se cumplan los requisitos del artículo 12.
- b) Cuando se pretenda usar el DPI en combinación con la detección de los antígenos de histocompatibilidad HLA. Esto es, cuando se pretenda evitar una enfermedad hereditaria en el nacido y además que éste sea un donante compatible con otro hermano enfermo.

Además, se debe mencionar que esta Ley también prevé la posibilidad de seleccionar el sexo de los preembriones, aunque exclusivamente puede aplicarse en enfermedades graves ligadas al sexo, y siempre que se sepa que la descendencia las vaya a padecer, es decir, nunca en el caso de los portadores asintomáticos y siempre que no haya otro método para detectar la enfermedad.

Hay varios tipos de PGT disponibles según las necesidades que requiera cada caso en particular: PGT-A, PGT-M, PGT-SR.

#### **6.4.1 PGT-A**

El test genético de aneuploidías (PGT-A) es la herramienta empleada en la mayoría de las ocasiones a la hora de determinar la ploidía embrionaria. Se ha demostrado que el factor primario implicado en la no consecución de un embarazo viable es la aneuploidía embrionaria, por lo que PGT-A es clave en la selección de embriones euploides. Estas aneuploidías suelen ser de origen materno, generalmente originadas durante la meiosis ovocitaria, y están favorecidas por el aumento de la edad [\(5\)](#).

La realización de PGT-A mediante la biopsia de blastocito y secuenciación masiva (NGS) tiene un alto potencial a la hora de realizar el diagnóstico de la aneuploidía. La extracción

de una sola blastómera para PGT-A en el estado de división temprana puede disminuir el potencial de implantación, pero la extracción de 5 a 8 células del trofoectodermo del blastocisto no parece tener consecuencias negativas [\(15\)](#).

A la hora de realizar la biopsia es necesario que el profesional que vaya a realizar la técnica haya sido correctamente formado y que disponga del equipamiento necesario [\(16\)](#).

El perfil de los pacientes en los que está indicada la realización de PGT-A es el siguiente:

- Edad materna avanzada (>38 años).
- Abortos recurrentes. Dos o más pérdidas de embarazo antes de la semana 20.
- Fallo de implantación. Se define como la no obtención de un embarazo tras 3 transferencias embrionarias con embriones de buena calidad o tras un número de múltiples transferencias mayor de 10.
- Factor masculino severo. Referido a todo aquel hombre que presenta unos parámetros seminales alterados.

Desde la aparición del PGT-A en 1993 se ha producido una gran evolución y mejora de la técnica. La obtención del material genético empleado en el estudio de aneuploidías se puede realizar de diferentes maneras:

- Biopsia de corpúsculo polar: el primer corpúsculo polar se extruye cuando el ovocito alcanza la maduración, y el segundo únicamente tras haber sido fecundado. Estos contienen la mitad del material genético, permitiendo que el ovocito sea haploide, y finalmente serán degradados por lo que su extracción no afecta al desarrollo embrionario [\(17\)](#). Su biopsia se puede hacer en un paso o dos. El método de un paso consiste en extraer los dos corpúsculos polares a la vez, 16 horas post inseminación. Si se realiza en dos pasos se extrae el primer corpúsculo polar antes de realizar ICSI y el segundo 16 horas después. Esta técnica tiene desventajas como que solo permite detectar anomalías genéticas provenientes de fallos meióticos de la madre, y que es necesario biopsiar los corpúsculos de todos los ovocitos obtenidos, aunque algunos acaben deteniendo su desarrollo más adelante. Sin embargo, una ventaja importante es que no es necesario criopreservar los embriones [\(5\)](#).
- Biopsia de blastómeras: inicialmente esta técnica adquirió gran popularidad, realizándose 72 horas post ICSI, cuando el embrión posee un número de células de entre 6-9, de las que se extraían 1 o 2 y se analizaban por PCR, FISH o NGS.

Para la realización de esta biopsia se puede emplear un láser específico o mediante ácido. La extracción de una única célula podría llevar a un mal diagnóstico debido al poco material genético disponible, pero la biopsia de dos células podría afectar a la viabilidad embrionaria (5). Hay que tener en cuenta que la proporción de células mosaico se encuentra en su punto máximo durante el estadio de desarrollo temprano, lo que podría llevar a errores en el PGT-A (17).

- Biopsia de trofoectodermo: el trofoectodermo no origina tejidos embrionarios, sino extraembrionarios, como la placenta, por lo que su biopsia no afecta a la viabilidad. Además, está compuesto por un número mayor de células, esto implica que se pueden extraer 5-8 células para su análisis, disponiendo de una concentración de material genético superior, aunque la proporción de células biopsiadas sea menor que en el caso anterior. Los embriones en estado de blastocisto ya han activado su genoma, permitiendo un análisis más certero. A diferencia de la biopsia del corpúsculo polar, una ventaja de esta técnica es que se tiene en cuenta el material genético tanto materno como paterno. Una clara desventaja es que al realizar esta técnica en un estadio tan tardío del desarrollo será necesario criopreservar los embriones antes de su transferencia con el objetivo de disponer del tiempo suficiente para su estudio genético (5).

#### **6.4.2 PGT-M**

Este análisis está enfocado a la detección de enfermedades monogénicas en parejas con riesgo de transmitir las a la descendencia (5). Se suele usar en la detección de alteraciones autosómicas recesivas como la fibrosis quística, aunque también se emplea en la localización de mutaciones autosómicas dominantes como la enfermedad de Huntington y de enfermedades ligadas al cromosoma X como el síndrome X frágil (3).

#### **6.4.3 PGT-SR**

Permite detectar alteraciones estructurales en los cromosomas, como las translocaciones, inversiones, deleciones, duplicaciones o inserciones. Si uno de los progenitores es portador de alguna de estas alteraciones se pueden producir abortos repetitivos o fallos repetidos de implantación (3) por ello su detección puede ser de vital importancia en determinados casos.

## **6.5 PGT NO INVASIVO (niPGT)**

La técnica actual más utilizada a la hora de examinar la dotación cromosómica de los embriones continúa siendo la biopsia del trofoectodermo y el análisis de su material genético mediante secuenciación masiva (NGS).

Sin embargo, y como se ha comentado anteriormente, esto tiene un carácter invasivo por lo que se necesitan equipamientos muy específicos que pueden llegar a tener un gran coste económico, además de la necesidad de formar al personal correctamente ya que cualquier error podría afectar gravemente a la viabilidad embrionaria.

El objetivo actual de muchas clínicas es desarrollar un método no invasivo para el análisis cromosómico de los embriones, mejorando así el proceso de selección embrionaria para disminuir el número de transferencias necesarias a la hora de la obtención un embarazo, fomentando a su vez SET [\(16\)](#).

Hoy en día se puede recurrir a dos métodos no invasivos: la blastocentesis (análisis del líquido contenido en el blastocisto), y el análisis del ADN libre en el medio de cultivo.

### **6.5.1 Blastocentesis**

Durante el desarrollo embrionario las células se diferencian en la masa celular interna (MCI) y en el trofoectodermo (TE), generando a su vez una cavidad llena de líquido llamada blastocele. Esta cavidad contiene ADN que puede ser recuperado empleando una pipeta de ICSI, produciendo un colapso que no debería tener consecuencias negativas para el embrión ya que es un fenómeno que sucede rutinariamente durante el cultivo in vitro o en la vitrificación [\(17\)](#).

Las tasas de concordancia todavía son muy variables entre estudios y se desconoce si este proceso pudiera afectar a la comunicación célula-célula, por lo que es necesario profundizar más en este área [\(5\)](#). La concentración de ADN presente en el blastocele varía significativamente entre embriones, en algunos casos incluso está ausente al completo, lo que genera las discrepancias mencionadas. Además, el estadio en el que se debe tomar la muestra, la relevancia de la morfología del blastocisto y el origen de este material genético son factores que aún necesitan ser esclarecidos [\(17\)](#).

### 6.5.2 Material genético libre en el medio de cultivo

La técnica por la que se realiza un estudio genético y/o cromosómico del ADN embrionario libre en el medio de cultivo, en inglés denominado Spent Blastocyst Media (SBM) o Spent Culture Media (SCM), se denomina niPGT. Esta secreción de componentes al medio de cultivo (llamado secretoma) puede producirse como consecuencia de un proceso de apoptosis, necrosis o liberación por macrovesículas, y su origen puede ser embrionario, paterno, materno o extraembrionario (5). El secretoma está compuesto de metabolitos, proteínas, interleucinas, micro-RNA y ADN de origen genómico o mitocondrial (17). La concentración de este ADN puede verse afectada por el tipo de cultivo embrionario (único o en grupo) y por el volumen y naturaleza del medio de cultivo (secuencial o estático) (5). En algunos casos la concentración de ADN libre en el medio de cultivo es mayor a la encontrada en el blastocele. Hay que tener en cuenta que al tratarse de un cultivo expuesto en determinados momentos a componentes externos se pueden dar contaminaciones de diferentes orígenes:

- Durante el proceso de fabricación.
- Contaminación materna por parte de las células del cúmulo o corpúsculos polares.
- Contaminación paterna por parte de los espermatozoides, aunque su ADN tiene un tal alto grado de compactación que dificulta su amplificación.
- Personal del laboratorio.
- Microbiota.

Para minimizar el riesgo de contaminación se recomienda encarecidamente la decumulación de los ovocitos, la fecundación mediante ICSI y el establecimiento de un buen control de calidad (17).

La zona pelúcida que rodea al embrión es una capa glicoproteica altamente permeable, lo que permite la salida de los ácidos nucleicos desde el interior del embrión hacia el medio de cultivo, sin embargo, se desconoce el mecanismo exacto por el cuál esto ocurre. Se ha visto que en ciertas ocasiones en las que los embriones sufren divisiones celulares anormales pueden acabar generando embriones euploides ya que expulsan al exterior a las células aneuploides originadas, lo que podría cuestionar la validez del análisis del ADN libre (17).

Es a partir del día 4 de desarrollo, durante el estadio de mórula, cuando la liberación de ADN se hace más evidente, e irá incrementando a medida que va evolucionando hasta

alcanzar el máximo nivel de liberación durante el estadio de blastocisto en el día 6/7 por el aumento en el número de células [\(5\)](#).

Fue hace casi una década cuando se observó por primera vez la presencia de este ADN, y debido al aumento de su investigación se han conseguido mejorar las tasas de concordancia a lo largo de este periodo. En la mayoría de las ocasiones los embriones fueron sometidos a algún procedimiento como assisted hatching, vitrificación o biopsia previo al análisis del medio de cultivo, lo que podría haber alterado los resultados.

Es por esto que se comenzó a indagar sobre si se obtendría ADN embrionario en el medio de cultivo en embriones que no habían sufrido manipulación previa. Rubio et al. publicó sobre esto mismo, logrando un porcentaje de concordancia del 84% en blastocistos de día 6 y 7 [\(18\)](#).

En un estudio llevado a cabo en 2019 por el grupo de Carmen Rubio [\(19\)](#) en el que se estudiaron 115 blastocistos llegaron a la conclusión de que la tasa de concordancia total entre el ADN libre y el trofoectodermo para la estimación de la ploidía y el sexo biológico era del 78,7%, con una sensibilidad del 94,5%. En ciertos casos en los que los embriones se cultivaban hasta el estadio de blastocisto D6/7 se lograron alcanzar unas tasas de concordancia del 84%. Hay que destacar que la concordancia entre el ADN del medio y el ADN embrionario puede variar mucho entre investigaciones debido a las diferencias en el procesamiento de las muestras, su análisis y los métodos de comunicación de los resultados obtenidos, por lo que la concordancia puede estar entre un 30,3% y 85,7% [\(17\)](#).

Más adelante, en 2020, este mismo equipo indagó en el grado de concordancia entre el ADN libre con la biopsia de trofoectodermo y la masa celular interna (MCI) en 1301 blastocistos obtenidos en 8 centros distintos. En este caso todos los embriones se mantuvieron en cultivo hasta el día 6 o 7. Los resultados obtenidos se reflejan en la siguiente tabla [\(18\)](#):

Tabla 2.

*Resultados del estudio de Rubio C., 2020*

	Centro 1	Centro 2	Centro 3	Centro 4	Centro 5	Centro 6	Centro 7	Centro 8	TOTAL
<b>Concordancia</b>	<b>75,6</b>	<b>77,1</b>	<b>81,8</b>	<b>83,6</b>	<b>84,2</b>	<b>85,0</b>	<b>72,5</b>	<b>77,0</b>	<b>78,2</b>
<b>Sensibilidad</b>	<b>80,5</b>	<b>84,8</b>	<b>88,2</b>	<b>86,7</b>	<b>91,3</b>	<b>76,7</b>	<b>76,5</b>	<b>78,9</b>	<b>81,7</b>
<b>Especificidad</b>	<b>69,9</b>	<b>72,7</b>	<b>85,2</b>	<b>87,5</b>	<b>80,0</b>	<b>93,3</b>	<b>64,7</b>	<b>78,1</b>	<b>77,4</b>

La concordancia obtenida entre el medio y la biopsia de trofoectodermo fue del 78,2%, con un margen de variabilidad del 72,5-86,3%.

Observaron que la concordancia no se veía afectada por la calidad embrionaria, tipo de medio de cultivo, incubadora, concentración de albúmina en el medio o por la técnica de fecundación empleada (FIV o ICSI).

En 81 de los blastocistos se estudió la concordancia con la MCI, y se obtuvo resultados en 64 de ellos. Las concordancias obtenidas fueron las siguientes:

- SBM-TE: 87,5%.
- SBM-MCI: 84,4%.
- TE-MCI: 87,5%.

Como se puede ver todos los resultados fueron similares, por lo que parece ser algo prometedor que merece la pena investigar más a fondo.

Es preciso señalar que actualmente el niPGT no sirve como sustituto del PGT debido a su relativamente “baja” tasa de concordancia, en la actualidad esta técnica está indicada para seleccionar embriones en pacientes que no necesiten un PGT. Su capacidad de determinar la ploidía embrionaria es superior a la de los métodos morfocinéticos o morfológicos, pero su potencial total todavía no ha sido descubierto en su totalidad.

### EMBRACE

IGENOMIX desarrolló una técnica denominada EMBRACE (Embryo analysis of the culture environment) [\(20\)](#) con el objetivo de determinar la probabilidad que tiene un embrión de ser cromosómicamente normal mediante en análisis por NGS del ADN embrionario presente en el medio de cultivo. Es necesario enfatizar que su finalidad no es el descarte de embriones, si no su organización según su orden de preferencia.

Este test está dirigido a cualquier tipo de pacientes que quieran mejorar sus tasas de embarazo frente a la FIV convencional. Sus ventajas principales son su carácter no invasivo, no es necesaria la biopsia de trofoectodermo, y la priorización de los embriones ya que si se seleccionan primero los de mejores probabilidades de ser cromosómicamente normales se reducen el número de transferencias necesarias, los abortos, el tiempo y coste necesarios para conseguir un embarazo a término. Su tasa de concordancia puede alcanzar unos valores del 84-85% [\(18\)](#).

La interpretación de los resultados y que riesgos tomar depende en gran medida de la edad de la paciente y del riesgo de aneuploidías en función de esta edad.

Como ya se ha mencionado anteriormente, el proceso por el cual se produce la liberación del ADN y su finalidad todavía se desconoce, por lo que las oportunidades de investigación y desarrollo de este test son amplias.

## **7. DISCUSIÓN**

La meta principal de los tratamientos de reproducción asistida es conseguir un embarazo a término con el menor grado de intervención posible. Hay una gran cantidad de factores externos que pueden afectar a este objetivo, como la cualificación del personal del laboratorio, las condiciones de cultivo, o la transferencia embrionaria, por lo que ninguna técnica de evaluación embrionaria puede asegurar al 100% el éxito del procedimiento.

El método más aceptado y empleado actualmente en España para determinar el cual es el embrión de mejor calidad es el estudio de las características morfológicas embrionarias, siguiendo las directrices de ASEBIR, debido a la rapidez y facilidad de su evaluación, pero no es un método fiable al 100% por su alta subjetividad. Además, hoy en día la determinación de los patrones morfocinéticos mediante el uso de incubadores con un sistema de Time-Lapse integrado está proporcionando grandes bases de datos de estudio. Sin embargo, no todos los laboratorios gozan de estos sistemas debido a su alto coste económico, por lo que una posible reducción en su precio podría ser el impulso que necesita para su estandarización.

La IA en el campo de la reproducción asistida está enfocada en la clasificación y selección embrionaria basándose en la anotación automática de patrones en el desarrollo embrionario, generando grandes bases de datos que son analizados a una velocidad y precisión mucho mayor a la que sería posible por los seres humanos gracias a complejos algoritmos.

En el último lustro la aplicación de IA a la reproducción asistida ha ido adquiriendo popularidad de forma significativa debido a su alto grado de automatización y precisión. Los pacientes tienen en alta estima la posibilidad de monitorizar en todo momento, incluso a distancia, el desarrollo de sus embriones, en ocasiones incluso pudiendo obtener el video resultante al finalizar el proceso. Esta tecnología favorece la estabilización de las

condiciones de cultivo, sin ser necesario exponer al embrión a elementos externos al incubador para su evaluación y permite la recopilación de información relevante que aporta nuevos conocimientos sobre el desarrollo embrionario.

Además, el software puede realizar recomendaciones acerca del destino de los embriones, según si considera que deberían ser transferidos, criopreservados o descartados. Sin embargo, esto son meras recomendaciones, la decisión final siempre recae sobre los hombros del embriólogo.

Por otra parte, el empleo del PGT dentro de sus límites legales ha reducido la incidencia de las principales enfermedades genéticas en los tratamientos de reproducción asistida al realizar un estudio cromosómico a los pacientes susceptibles de transmitirlos a la descendencia. Al tratarse de un estudio preimplantacional en caso de detectar cualquier anomalía cromosómica no se produciría la transferencia embrionaria, evitando las consecuencias físicas y psicológicas que esto podría acarrear, y disminuyendo a su vez las posibles complicaciones asociadas a los estudios prenatales, como un aborto involuntario. En algunas ocasiones, incluso tras la realización de un estudio genético, se ha visto que los embriones no producen un RNV, por lo que se ha llegado a la conclusión de que serían necesarios otros marcadores adicionales en el análisis de la competencia embrionaria. En ningún caso se deberá emplear esta técnica de forma discriminatoria, para elegir el sexo de la descendencia según la voluntad paterna sin justificación sanitaria, o buscando características físicas específicas por capricho ya que podría desembocar en eugenesia. Las desventajas más importantes que supone este procedimiento son su naturaleza invasiva, elevado precio y la necesidad de criopreservar todos los embriones resultantes. La clínica debe emplear tiempo y dinero en formar a sus profesionales en el ámbito de la biopsia, lo que puede hacer que ciertas clínicas más pequeñas no se lo puedan permitir.

Un método que podría ser capaz de paliar estas consecuencias es el niPGT. Si finalmente se demuestra sin ninguna duda que el material genético extraembrionario representa adecuadamente la carga genética del embrión esta resultaría ser una técnica más sencilla y segura que el PGT. Sus costes económicos se reducirían considerablemente lo que aumentaría la demanda por parte de los pacientes.

## **8. CONCLUSIONES**

- En la actualidad no existe ningún método de selección embrionaria que asegure al 100% la obtención de un recién nacido sano ya que estos no tienen en cuenta factores extraembrionarios como el estado endometrial o uterino.
- A la hora de realizar un estudio genético preimplantacional predominan los métodos invasivos, aunque el estudio de los no invasivos alberga un gran potencial.
- La biopsia de trofoectodermo durante el estado de blastocisto (D5/D6) es la técnica más empleada en el diagnóstico genético.
- El niPGT es un método por el que se establece un orden de prioridad en la transferencia de los embriones disponibles.
- Los incubadoras con sistemas de Time-Lapse e Inteligencia Artificial integrados han mejorado considerablemente el proceso de selección embrionaria por el aumento en la estabilidad de las condiciones de cultivo.

## **9. AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, me gustaría agradecer a mi tutora, María Gaytán Muñoz, por su apoyo y guía en la realización de este TFM sin los cuales no habría sido posible.

Gracias a mis profesores por otorgarme los conocimientos que fundamentarán la base en la que me apoyaré a lo largo de mi carrera profesional.

Merecen una especial mención mis padres por darme la oportunidad de estudiar lo que me apasiona y por su apoyo incondicional en todas y cada una de las etapas de este largo camino, así como mis hermanos y familia que siempre han creído en mí.

## **10. BIBLIOGRAFÍA**

1. Mikwar M, MacFarlane AJ, Marchetti F. Mechanisms of oocyte aneuploidy associated with advanced maternal age. Vol. 785, Mutation Research - Reviews in Mutation Research. Elsevier B.V.; 2020.
2. Sitler C, Lustik M, Levy G, Pier B. Single Embryo Transfer Versus Double Embryo Transfer: A Cost-Effectiveness Analysis in a Non-IVF Insurance Mandated System. *Mil Med.* 2020 sep 1;185(9-10):E1700-5.
3. el Tokhy O, Salman M, El-Toukhy T. Preimplantation genetic diagnosis. *Obstet Gynaecol Reprod Med.* 2021 jun;31(6):157-61.
4. Las gemelas Noa y Leire curan a su hermano Izan | Sociedad | EL PAÍS [Internet]. [citado 2022 may 10]. Available from: [https://elpais.com/sociedad/2012/06/13/actualidad/1339587644\\_743879.html](https://elpais.com/sociedad/2012/06/13/actualidad/1339587644_743879.html)
5. Greco E, Litwicka K, Minasi MG, Cursio E, Greco PF, Barillari P. Preimplantation genetic testing: Where we are today. Vol. 21, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2020. p. 1-29.
6. Ley 14/2006 sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida. BOE nº 126 de 27 de mayo de 2006.
7. Cuevas Saiz I, Carme Pons Gatell M, Vargas MC, Delgado Mendive A, Rives Enedáguila N, Moragas Solanes M, et al. The Embryology Interest Group: updating ASEBIR's morphological scoring system for early embryos, morulae and blastocysts. *Medicina Reproductiva y Embriología Clínica.* 2018 ene;5(1):42-54.
8. Zaninovic N, Rosenwaks Z. Artificial intelligence in human in vitro fertilization and embryology. Vol. 114, Fertility and Sterility. Elsevier Inc.; 2020. p. 914-20.
9. Khosravi P, Kazemi E, Zhan Q, Malmsten JE, Toschi M, Zisimopoulos P, et al. Deep learning enables robust assessment and selection of human blastocysts after in vitro fertilization. *NPJ Digit Med.* 2019 dic;2(1).
10. Lundin K, Park H. Time-lapse technology for embryo culture and selection. Vol. 125, Upsala Journal of Medical Sciences. Taylor and Francis Ltd; 2020. p. 77-84.

11. Chavez-Badiola A, Flores-Saiffe-Farías A, Mendizabal-Ruiz G, Drakeley AJ, Cohen J. Embryo Ranking Intelligent Classification Algorithm (ERICA): artificial intelligence clinical assistant predicting embryo ploidy and implantation. *Reprod Biomed Online*. 2020 oct 1;41(4):585-93.
12. Tran D, Cooke S, Illingworth PJ, Gardner DK. Deep learning as a predictive tool for fetal heart pregnancy following time-lapse incubation and blastocyst transfer. *Human Reproduction*. 2019 jun 4;34(6):1011-8.
13. Simpson JL, Kuliev A, Rechitsky S. Overview of preimplantation genetic diagnosis (PGD): Historical perspective and future direction. En: *Methods in Molecular Biology*. Humana Press Inc.; 2019. p. 23-43.
14. Sciorio R, Tramontano L, Catt J. Preimplantation genetic diagnosis (PGD) and genetic testing for aneuploidy (PGT-A): status and future challenges. Vol. 36, *Gynecological Endocrinology*. Taylor and Francis Ltd; 2020. p. 6-11.
15. Hawke DC, Watson AJ, Betts DH. Extracellular vesicles, microRNA and the preimplantation embryo: non-invasive clues of embryo well-being. 2021; Available from: <https://doi.org/10.1016/j>.
16. Kulmann MIR, Riboldi M, Martello C, Bos-Mikich A, Frantz G, Dutra C, et al. First Baby Born in Brazil after Simultaneous Diagnosis through Non-Invasive and Conventional PGT-A. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia*. 2021 nov 1;43(11):878-82.
17. Leaver M, Wells D. Non-invasive preimplantation genetic testing (niPGT): The next revolution in reproductive genetics? *Hum Reprod Update*. 2020 ene 1;26(1):16-42.
18. Rubio C, Navarro-Sánchez L, García-Pascual CM, Ocali O, Cimadomo D, Venier W, et al. Multicenter prospective study of concordance between embryonic cell-free DNA and trophoctoderm biopsies from 1301 human blastocysts. *Am J Obstet Gynecol*. 2020 nov 1;223(5):751.e1-751.e13.
19. Rubio C, Rienzi L, Navarro-Sánchez L, Cimadomo D, García-Pascual CM, Albricci L, et al. Embryonic cell-free DNA versus trophoctoderm biopsy for aneuploidy testing: concordance rate and clinical implications. *Fertil Steril*. 2019 sep 1;112(3):510-9.

20. EMBRACE | Test no invasivo | Igenomix [Internet]. [citado 2022 abr 19]. Available from: <https://www.igenomix.ar/servicios/embrace/>

## 11. ANEXOS

Anexo 1:

Actualización en los esquemas de clasificación de ASEBIR, 2021

