

ANALYSE PAR ORDINATEUR DE ZYGOTES HUMAINS

Urner F.1), Beuchat A. 2), Sorzano C.O.S. 2), Thevenaz P. 2), Unser M. 2), Ebner, T. 3), Chanson A. 1), Germond M. 1), Senn A.1)

- 1) Fondation FABER et Centre de Procréation Médicalement Assistée, Lausanne.
- 2) Laboratoire d'Imagerie Médicale, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne
- 3) Women's General Hospital, IVF-Unit, Linz, Austria

Introduction: Afin de réduire les grossesses multiples après fécondation in vitro sans compromettre les chances de succès, un nombre limité d'embryons présentant un potentiel d'implantation élevé est en général transféré. Dans ce contexte, la prédiction optimale de l'implantation apparaît cruciale. L'évaluation de la morphologie du zygote (ovocyte fécondé ou imprégné) représente un des seuls outils de prédiction lorsque la sélection ne peut pas se faire au stade embryonnaire pour des raisons légales, comme c'est le cas en Suisse. Notre étude a pour but de développer un programme d'analyse d'images capable de mesurer objectivement les paramètres morphologiques du zygote et d'identifier les paramètres permettant de prédire l'implantation de l'embryon.

Matériel et méthodes: Afin d'analyser objectivement des images digitalisées de zygotes, une analyse par ordinateur a été développée en implémentant un programme d'analyse d'images existant, nommé ImageJ (<http://rsb.info.nih.gov/ij>). Les images de zygotes, observés 16 à 20h après insémination, ont été prises en contraste d'Hoffman avec une caméra Octax (MTG, Herborn, Germany). Les images de 350 zygotes, correspondant à des embryons transférés dont le devenir en termes d'implantation était connu, ont été fournies par deux centres FIV différents (Lausanne et Linz). Elles ont ensuite été analysées par ordinateur et scorées subjectivement selon la méthode de Senn et al. (Human Reproduction 21 :234-239, 2006). La capacité des différents paramètres du zygote de prédire l'implantation a été évaluée par analyse ROC. La surface sous la courbe ROC (AUC) a été utilisée pour déterminer la performance globale de chacun des paramètres en tant que paramètre prédictif de l'implantation.

Résultats: Les images de zygotes provenant des deux centres ont été analysées par ordinateur avec succès, générant 24 mesures par zygote. Le seul paramètre présentant une différence significative entre les zygotes implantés (n=99) et non-implantés (n=251) était la distribution des nucléoles dans les pronuclei, calculée en mesurant la distance moyenne entre les nucléoles et la droite séparant les deux pronuclei (13.37 ± 3.4 microns versus 14.39 ± 3.03 microns, $p=0.001$). La différence était également significative lorsque la distribution des nucléoles était subjectivement scorée (2.08 ± 0.56 versus 1.89 ± 0.59 , $p=0.008$). Selon l'analyse ROC, l'AUC de la distribution des nucléoles mesurée par ordinateur était de 0.61 (95% CI 0.56-0.66), qui est une valeur caractéristique d'un test pronostic peu efficace. Cependant, tous les autres paramètres présentaient des valeurs encore plus basses. A une valeur seuil optimale (≤ 11 microns), ce paramètre présentait une spécificité élevée (88%) mais une sensibilité faible (33%), indiquant que la prédiction de l'implantation était correcte pour seulement 33% des zygotes implantés. En comparaison de la distribution des nucléoles mesurée par ordinateur, son évaluation subjective présentait une AUC légèrement inférieure (0.58, 95%CI 0.52-0.63) et une sensibilité significativement plus basse (20%, $p=0.000$) à une spécificité de 87%.

Conclusions: La morphologie du zygote peut être caractérisée objectivement en utilisant le programme d'analyse d'images développé dans notre étude. Parmi les paramètres investigués du zygote, la distribution des nucléoles mesurée par ordinateur semble être le paramètre le plus pertinent pour prédire l'implantation. Sa valeur pronostique reste cependant limitée, probablement parce que d'autres facteurs indépendants de la morphologie du zygote jouent un rôle-clé dans le développement et l'implantation de l'embryon. Lorsque la sélection des embryons à transférer n'est pas possible en raison de contraintes légales, le choix de zygotes sur la base de la distribution de leurs nucléoles reste une alternative qui contribue à augmenter les chances de grossesse lors du transfert frais.

COMPUTER-ASSISTED ANALYSIS OF HUMAN PRONUCLEAR ZYGOTES

Urner F.1), Beuchat A. 2), Sorzano C.O.S. 2), Thevenaz P. 2), Unser M. 2), Ebner T.3), Chanson A. 1), Germond M. 1), Senn A.1)

- 4) FABER Foundation and Centre of Medically Assisted Procreation, Lausanne.
- 5) Biomedical Imaging Group, Swiss Federal Institute of Technology of Lausanne
- 6) Women's General Hospital, IVF-Unit. Linz, Austria

Introduction: To decrease the number of multiple pregnancies without affecting pregnancy rates after in vitro fertilisation, a low number of embryos with presumably high chances of implantation is usually transferred. In this situation, the accurate prediction of implantation is crucial. The assessment of zygote morphology is one of the available tools to predict implantation when embryo selection is not permitted, as in Switzerland. The aims of the present study are to provide a software tool able to objectively measure several morphological features of the pronuclear zygote and to identify which of these features are useful to predict embryo implantation.

Materials and methods: To objectively analyse pronuclear zygote digital images, a computer-assisted method was developed by creating a plug-in of the image processing ImageJ (<http://rsb.info.nih.gov/ij>). Images of zygotes were captured at the pronuclear stage 16-20 h after insemination under Hoffman contrast by using an Octax camera (MTG, Herborn, Germany). Images of 350 pronuclear zygotes, corresponding to transferred embryos with known individual implantation outcome, were provided by two different IVF centres (Lausanne and Linz). They were then analysed by using the ImageJ plug-in and by subjective scoring as described previously by Senn et al. (Human Reproduction 21 :234-239, 2006). The accuracy of the different zygote features to predict implantation was determined by ROC analysis. The area under the ROC curve (AUC) was used to determine the global performance of each feature to predict implantation.

Results: Zygote images coming from the two IVF centres were successfully analysed with the software, resulting in a series of precise measurements of 24 variables for each zygote. Following this analysis, the only feature presenting a significant difference between implanted (n=99) and non-implanted (n= 251) zygotes was nucleolar precursor bodies (NPB) distribution quantified by measuring the mean distance between NPB and the line separating the two pronuclei (13.37±3.4 microns versus 14.39±3.03 microns, p=0.001). Subjectively scored NPB distribution was also significantly different between implanted and non-implanted zygotes (2.08 ± 0.56 versus 1.89±0.59, p=0.008). According to ROC, the computer-assisted measured NPB distribution presented an AUC of 0.61 (95% CI 0.56-0.66) that indicates a poor prognostic efficiency of this parameter. However, all the other parameters presented lower AUC values. At an optimal threshold value (≤ 11 microns), specificity was high (88%) but sensitivity was low (33%), indicating that implantation was correctly predicted for only 33% of implanted zygotes. Compared to computer-assisted measurement, subjective scoring of NPB distribution resulted in a lower AUC (0.58, 95%CI 0.52-0.63) and a significantly lower sensitivity (20 %, p=0.000) at a specificity of 87%.

Conclusions: The morphology of human pronuclear zygotes can be objectively characterised by using an advanced image analysis tool. Among all the features analysed, NPB distribution appears as the most useful marker to predict implantation. However, its predictive value remains limited, probably because other factors, not related to zygote morphology, play a critical role in embryo development and implantation. When embryo selection cannot be performed for legal constraints, the choice of zygotes on the basis of the distribution of their NPB remains an alternative that contributes to increase the implantation rates after fresh transfer.