



**FERTILITY**<sup>®</sup>  
MEDICAL GROUP

# **Time-lapse monitoring: an adjunct tool for selecting embryos for preimplantation genetic testing**

Daniela Paes de Almeida Ferreira Braga, Amanda Setti, Patricia Guilherme, Livia Ingrins, Assumpto Iaconelli Jr., Edson Borges Jr.

# INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

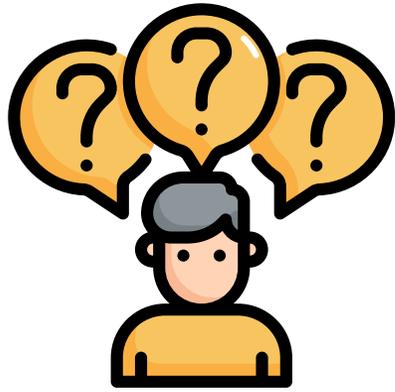
OBJETIVO

MATERIAIS E  
MÉTODOS

RESULTADOS

CONCLUSÃO

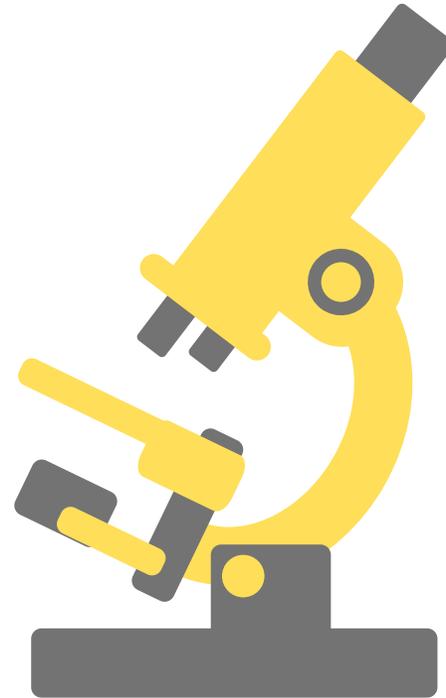
CONSIDERAÇÕES



## Técnicas de avaliação da morfologia do embriões



Seleção do embrião mais viável

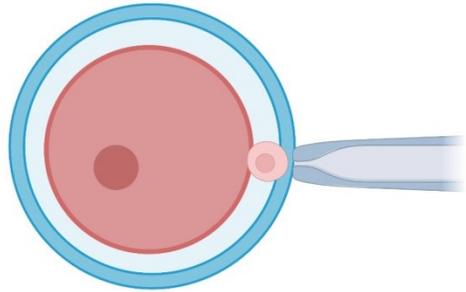


A avaliação do status genético de embriões

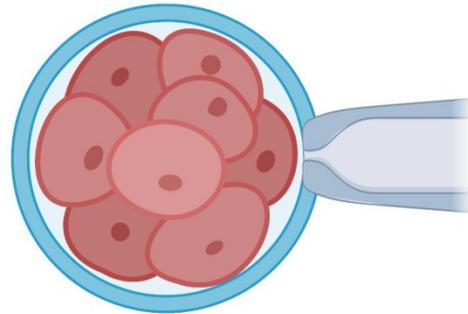
# Embora eficiente e clinicamente relevante, a natureza invasiva do PGT limita seu sucesso

Leaver et al., H Repro. update. 2020.  
Gardner et al., H Repro. update. 2015  
Castelló et al., Basic sci of repro med. 2016.  
Harper et al., H Repro. 2014.

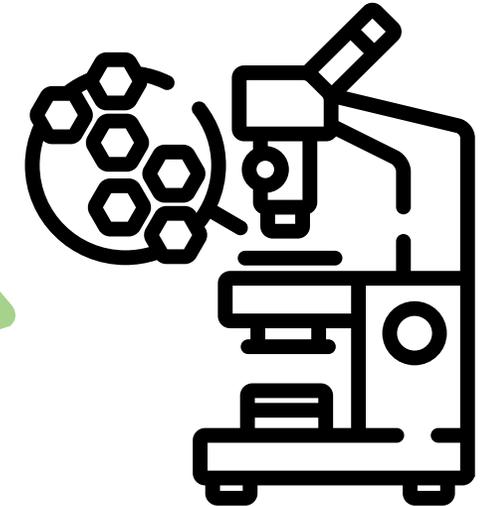
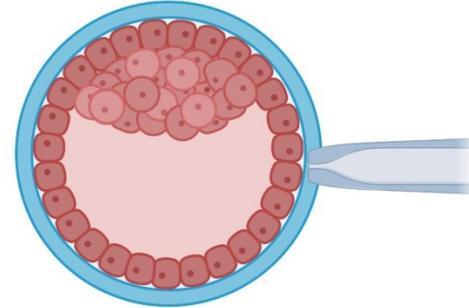
BIÓPSIA DE CORPÚSCULO POLAR



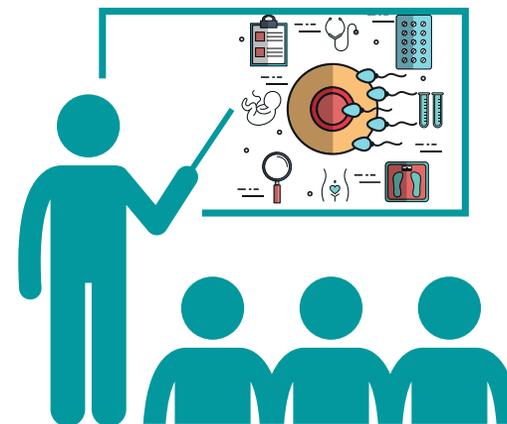
BIÓPSIA DE BLASTÔMERO



BIÓPSIA DE TROFOECTODERMA

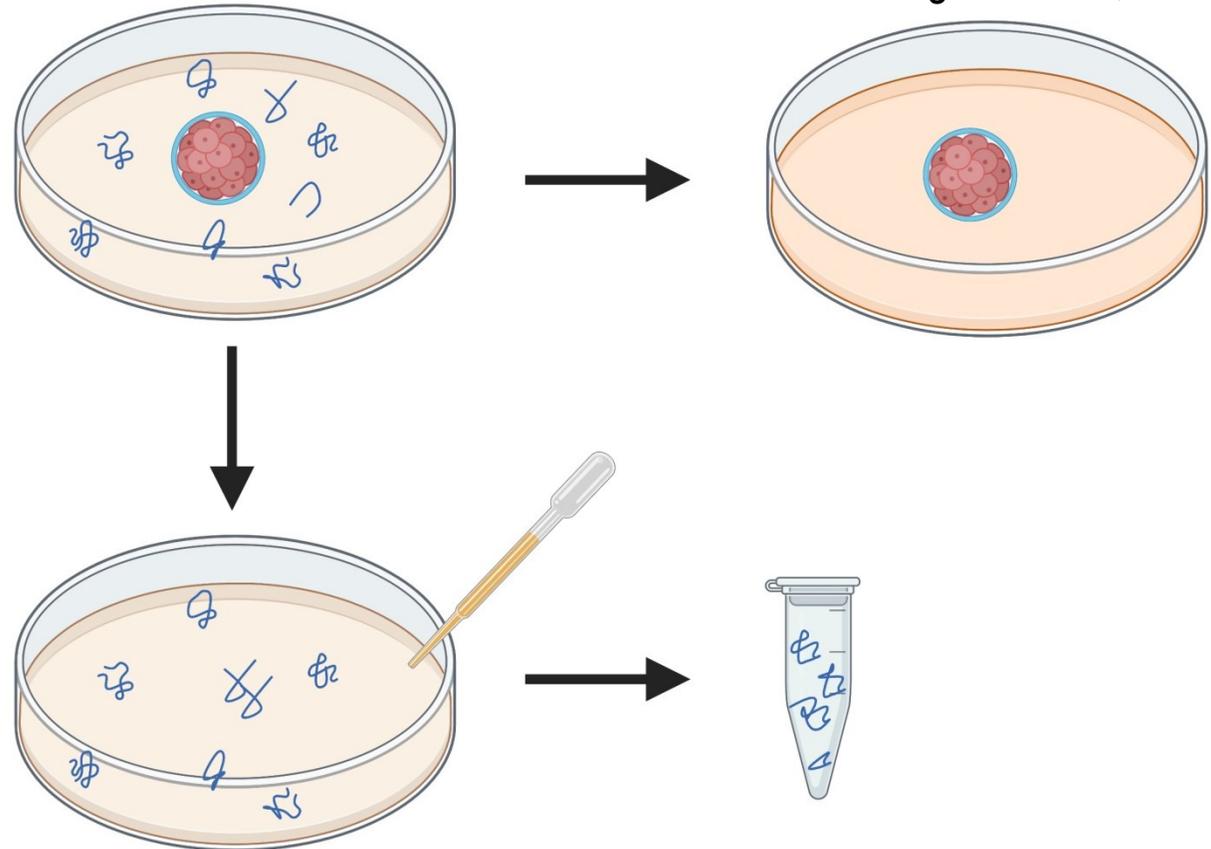
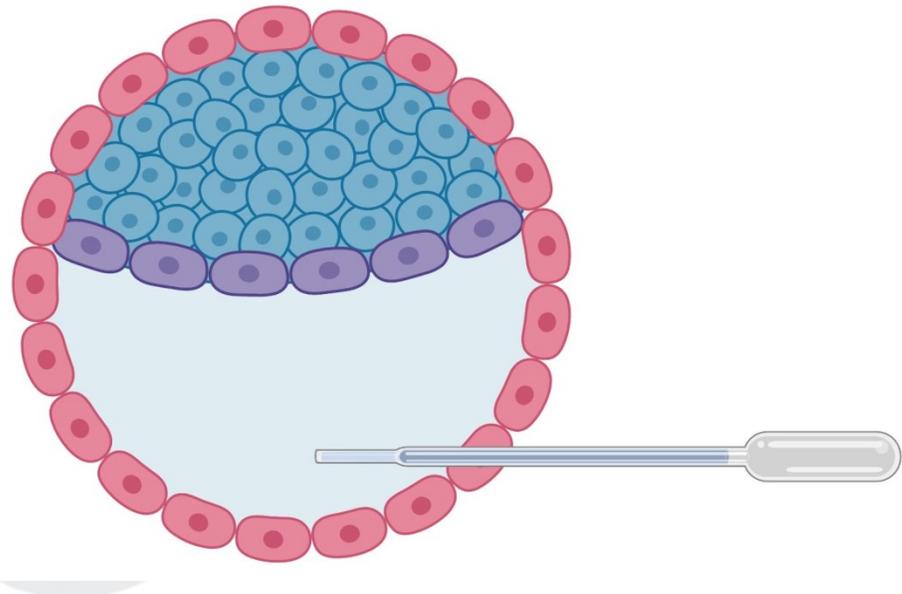


Biópsia não é totalmente livre de riscos



Equipamento e treinamento de pessoal e biópsia não aceita em diversos países

Desafios associados a natureza invasiva da biopsia: estudos buscam a avaliação não invasiva do DNA embrionário



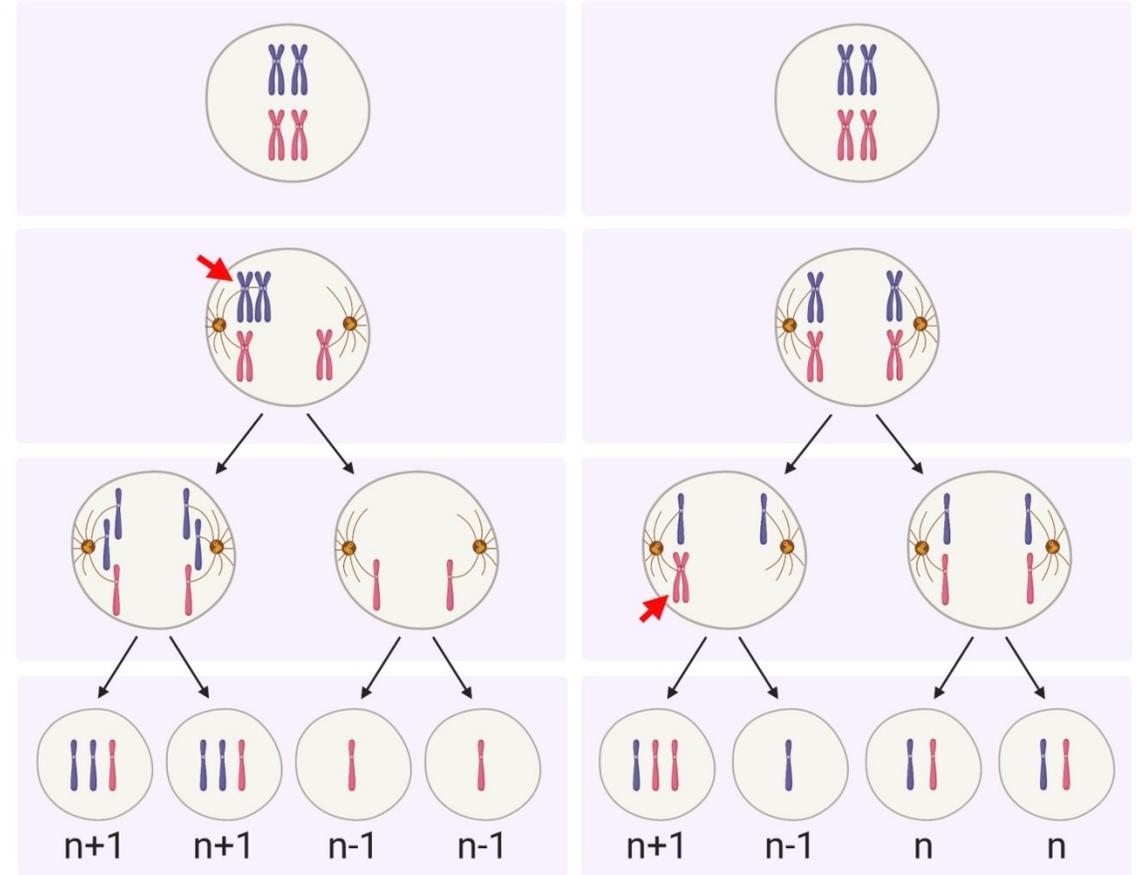
DNA em meios de cultura e no fluido da blastocèle instigou pesquisadores a investigarem novas ferramentas para a possibilidade de um PGT não invasivo

# A correlação entre o desenvolvimento embrionário e distúrbios cromossômicos não é um conceito novo em embriologia



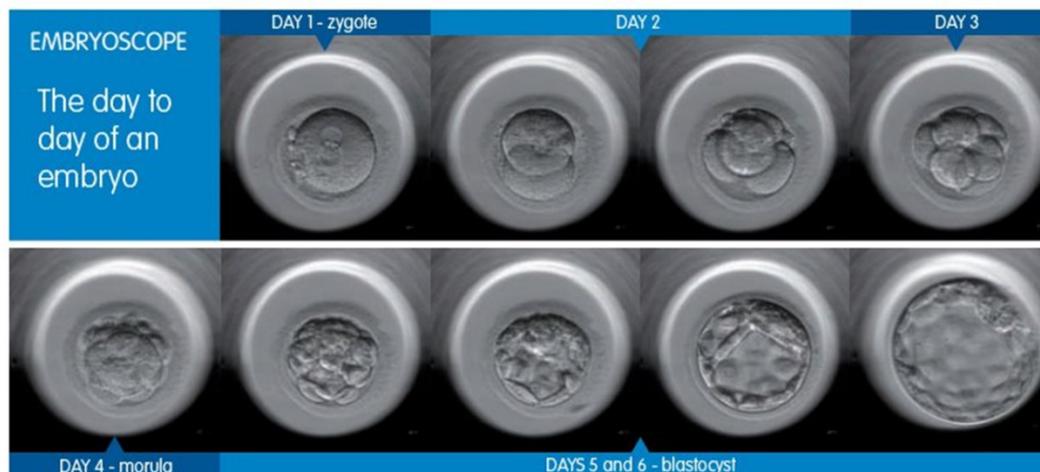
Meiose I

Meiose II



Relação foi estabelecida no passado com base em observações estáticas

A identificação de eventos morfocinéticos afetados pela ploidia embrionária pode representar uma ferramenta poderosa na reprodução assistida, melhorando a seleção do embrião com maior potencial de implantação sem os efeitos prejudiciais da biópsia embrionária



FERTILITY

# OBJETIVO

INTRODUÇÃO ✓

OBJETIVO

MATERIAIS E  
MÉTODOS

RESULTADOS

CONCLUSÃO

CONSIDERAÇÕES

Investigar o efeito da aneuploidia embrionária sobre eventos morfocinéticos em um sistema de cultivo com monitoramento *time-lapse*

# MATERIAIS E MÉTODOS

INTRODUÇÃO ✓

OBJETIVO ✓

MATERIAIS E  
MÉTODOS

RESULTADOS

CONCLUSÃO

CONSIDERAÇÕES

Caso controle

Março/2019–  
Dezembro/2020

Embriões cultivados  
em STL até D5

316 pacientes  
submetidas ao ciclo  
ICSI com PGT-A

957  
embriões

Resultado do PGT-A

Euploides  
(n = 352)

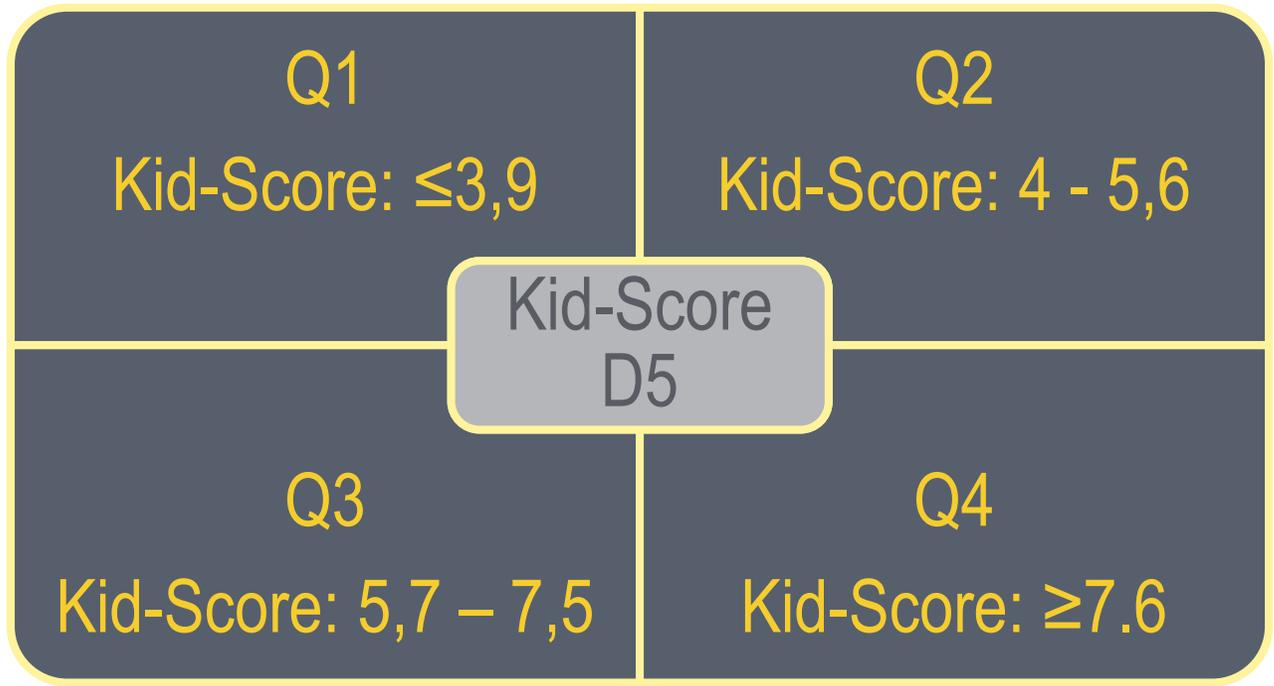
Mosaicos  
(n = 22)

Aneuploides  
(n = 583)

KID-Score  
D 5

Tempo de  
variáveis  
morfo.

Incidências de  
multinucleação



Euploides

<35 anos

≥ 35 anos

Chance de aneuploidia avaliada nas duas faixas etárias



EOC realizado com FSH, bloqueio hipofisário com agonista do GnRH e trigger com hGG



Após a coleta, os oócitos foram incubados, desnudados e avaliados quanto ao grau de maturação nuclear

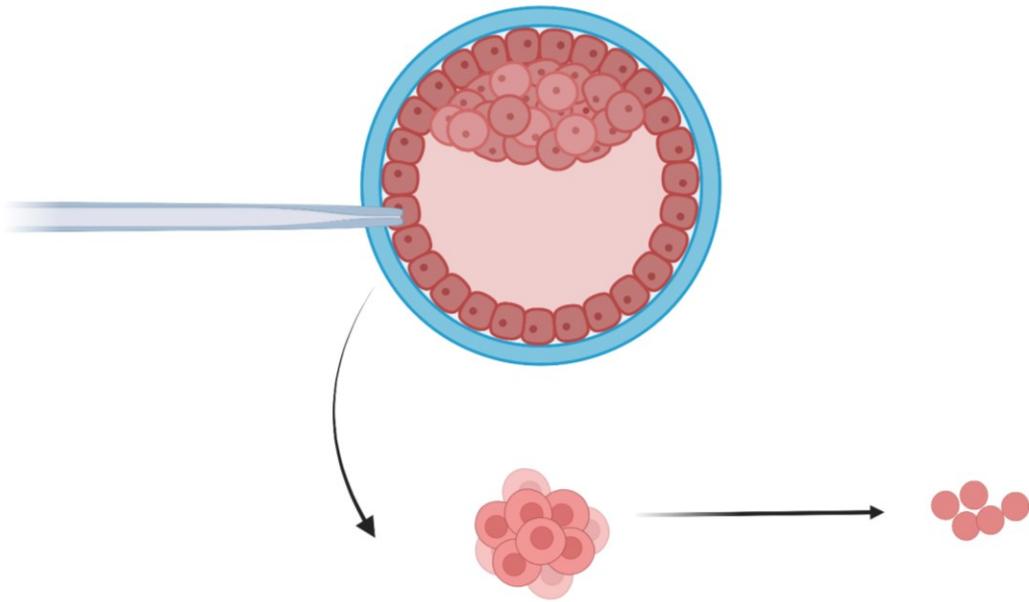


Os oócitos que liberaram o primeiro corpúsculo polar foram injetados (Palermo et al., 1992)

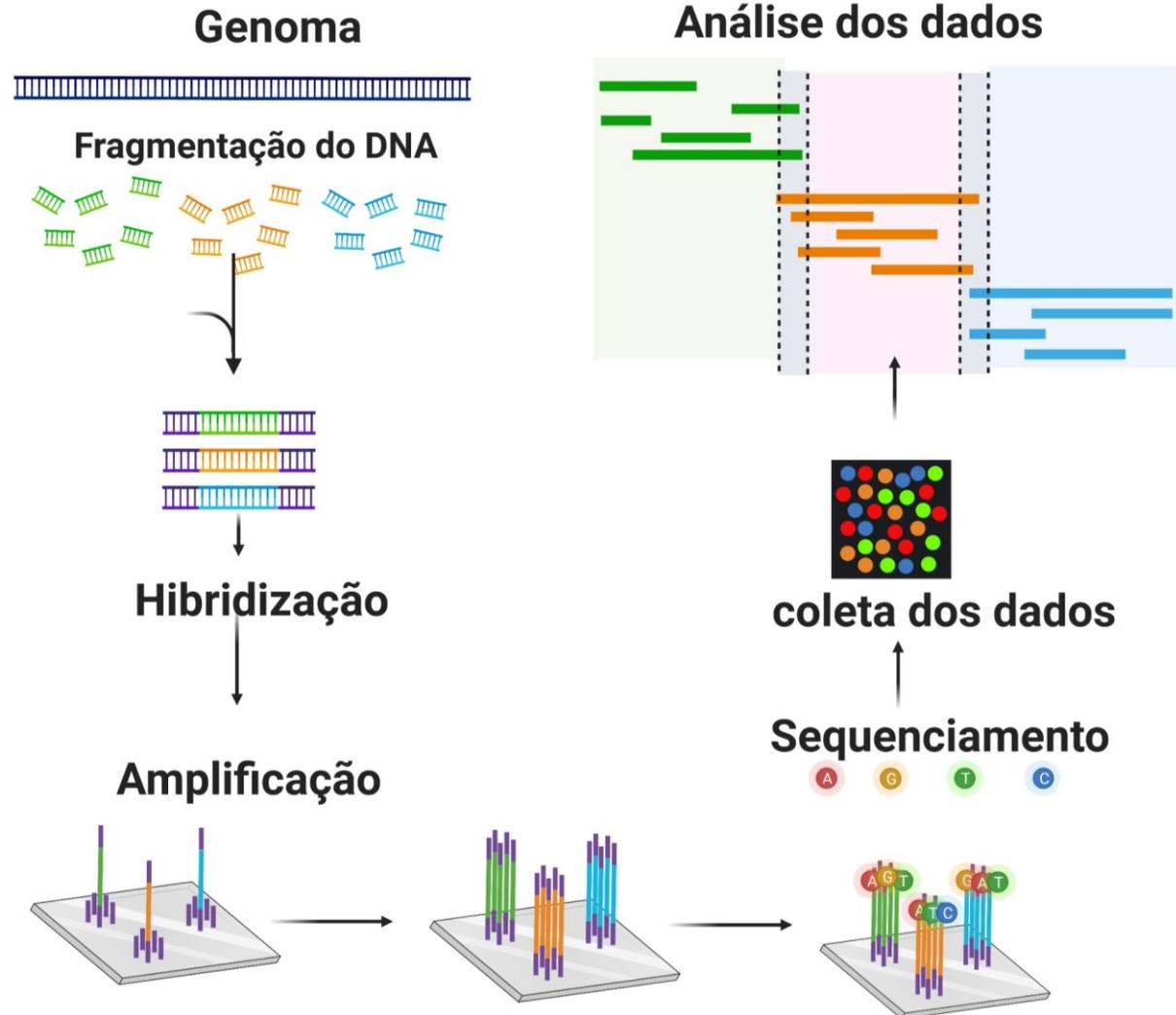


Embriões cultivados até o quinto dia

# Biópsia do trofoectoderma no D5

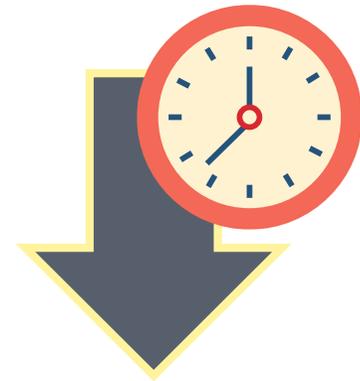


# Determinação da ploidia por sequenciamento de última geração (NGS)





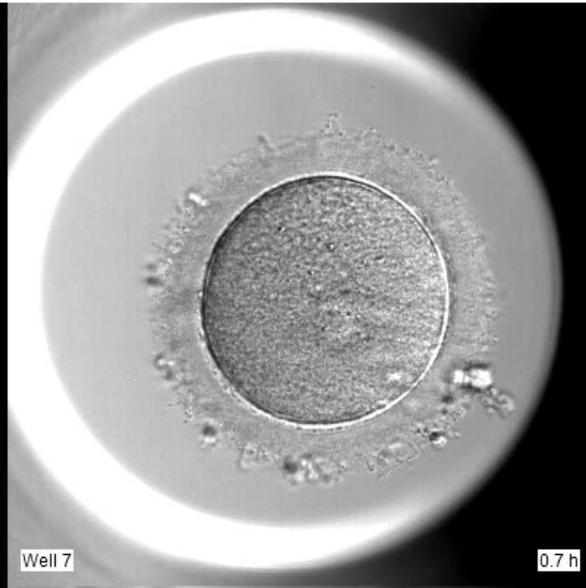
11 planos focais



A cada 10 minutos



FERTILITY  
MEDICAL GROUP



Pontuação de dados de implantação conhecida (KID Score) dia 5

# RESULTADOS

INTRODUÇÃO ✓

OBJETIVO ✓

MATERIAIS E  
MÉTODOS ✓

RESULTADOS

CONCLUSÃO

CONSIDERAÇÕES

352 (36,8%)  
euploides

583 (60,9%)  
aneuploides

22 (2,3%)  
mosaicos

## Características gerais dos pacientes e resultados laboratoriais do ciclo ICSI (n = 316 ciclos, 957 embriões)

	Média	Desvio padrão
Idade materna (anos)	38,3	3,4
Idade paterna (anos)	40,2	5,5
Dose de FSH	Alfa Folitropina (IU)	2615,7
	Delta Folitropina (µg)	152,8
Estradiol (pg/mL)	2127,9	2104,2
Folículos (n)	13,1	8,6
Oócitos recuperados (n)	10,0	7,1
Taxa de recuperação (%)	76,8	17,0
Oócitos maduros (n)	7,7	5,9
Taxa de oócitos maduros (%)	77,4	19,2
Taxa de fertilização (%)	77,7	19,0
Taxa de formação de blastocistos (%)	53,6	31,4

# Resultados da comparação de dados morfocinéticos de embriões euploides, aneuploides e mosaicos

Dados	Euploides (n=352)		Aneuploides (n=583)		Mosaicos (n=22)		
	Média ± EP	Média ± EP	B	95% CI	Média ± EP	B	95% IC
tPNa (hrs.)	6.15±0.16	6.55±0.12	0.394	0.001-0.787	6.75±0.63	0.595	-0.685-1.876
tPNf (hrs.)	22.50±0.157 <sup>a</sup>	24.01±0.16 <sup>b</sup>	0.997	0.48-1.51	24.81±0.79 <sup>a.b</sup>	1.867	0.251-3.482
t2 (hrs.)	24.99±0.0 <sup>a</sup>	26.8±0.172 <sup>b</sup>	1.2	0.69-1.80	27.23±0.86 <sup>a.b</sup>	1.68	-0.70-3.41
t3 (hrs.)	36.14±0.0 <sup>a</sup>	38.08±0.20 <sup>b</sup>	1.14	0.47-1.80	39.42±1.02 <sup>a.b</sup>	2.47	0.40-4.54
t4 (hrs.)	37.25±0.22 <sup>a</sup>	39.52±0.21 <sup>b</sup>	1.55	0.85-2.24	39.75±1.07 <sup>a.b</sup>	1.78	-0.39-3.9
t5 (hrs.)	49.86±0.41	50.53±0.31	0.76	-0.25-1.79	51.07±1.58	1.30	-1.90-4.51
t6 (hrs.)	50.78±000 <sup>a</sup>	53.20±0.29 <sup>b</sup>	1.42	0.450-2.39	55.26±1.49 <sup>a.b</sup>	3.48	0.45-6.51
t7 (hrs.)	52.56±0.35 <sup>a</sup>	53.65±0.42 <sup>b</sup>	1.65	0.616-2.68	57.00±1.59 <sup>a.b</sup>	1.65	0.11-6.58
t8 (hrs.)	55.43±0.51 <sup>a</sup>	58.87±0.39 <sup>b</sup>	2.22	0.95-3.49	60.4±1.94 <sup>a.b</sup>	3.78	-0.17-7.73

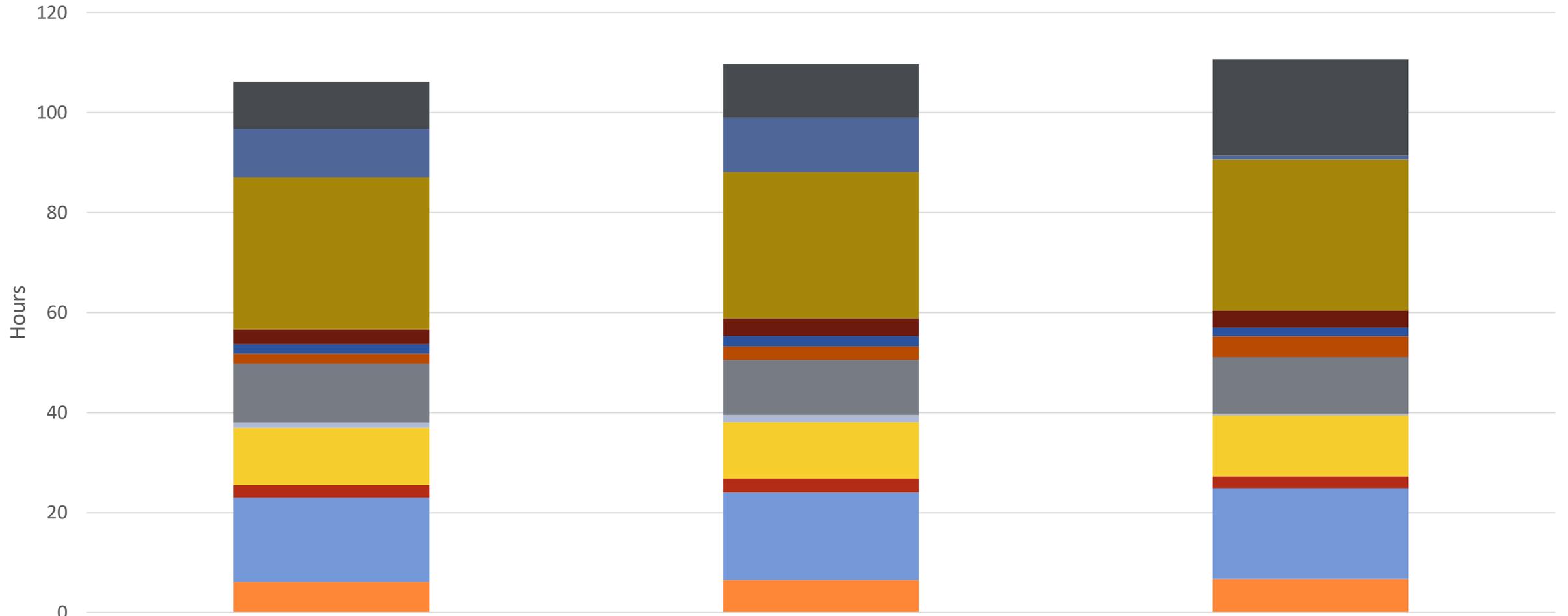
# Resultados da comparação de dados morfocinéticos de embriões euploides, aneuploides e mosaicos

Dados	Euploides (n=352)	Aneuploides (n=583)	Mosaicos (n=22)				
	Média ± EP	Média ± EP	B	95% CI	Média ± EP	B	95% IC
<b>tM (hrs.)</b>	88,05±0,63 <sup>a</sup>	88,0±0,48 <sup>b</sup>	1,03	0,534-2,596	90,6±2,5 <sup>a,b</sup>	5,56	0,50-10,62
<b>tsB (hrs.)</b>	96,68±0,69 <sup>a</sup>	91,34±3,32 <sup>b</sup>	2,23	0,53-3,92	98,90±0,52 <sup>a, b</sup>	-5,33	-11,98-1,30
<b>tB (hrs.)</b>	105,31±0,00 <sup>a</sup>	109,64±0,477 <sup>b</sup>	3,54	2,00-5,07	110,59±2,44 <sup>a,b</sup>	4,49	0,45-9,44
<b>cc2 (hrs.)</b>	11,3±0,13	11,28±0,10	-0,10	-0,46-0,24	12,19±0,54	0,79	-0,30-1,89
<b>cc3 (hrs.)</b>	12,7±0,25	12,44±0,20	-0,43	-1,09-0,22	11,65±1,00	-1,23	-3,27-0,81
<b>s1 (hrs.)</b>	2,5±0,04	2,64±0,03	0,10	-0,02-0,23	2,34±0,19	-0,186	-0,57-0,20
<b>s2 (hrs.)</b>	1,0±0,12 <sup>a</sup>	1,3±0,09 <sup>b</sup>	0,40	0,07-0,73	1,43±0,10 <sup>a,b</sup>	-0,69	-1,71-0,33
<b>s3 (hrs.)</b>	7,0±0,38 <sup>a</sup>	8,37±0,30 <sup>b</sup>	1,28	0,30-2,26	9,35±1,50 <sup>a,b</sup>	2,26	-0,79-5,32
<b>tM (hrs.)</b>	88,05±0,63 <sup>a</sup>	88,0±0,48 <sup>b</sup>	1,03	0,534-2,596	90,6±2,5 <sup>a,b</sup>	5,56	0,50-10,62

# Resultados da comparação de dados morfocinéticos de embriões euploides, aneuploides e mosaicos

Dados	Euploides (n=352)		Aneuplóides (n=583)		Mosaicos (n=22)		
	Média ± EP	Média ± EP	B	95% CI	Média ± EP	B	95% IC
<b>MN (2 cell stage) %</b>	32,0±2,8	36,0±2,3	0,20	-0,11-0,52	56,0±0,11	1,00	0,03-1,96
<b>MN (4 cell stage) %</b>	7,5±1,5	7,9±1,2	0,19	-0,37-0,76	11,0±7,4	0,52	-1,01-2,06
<b>KIDScore D-5</b>	6,52±0,13 <sup>a</sup>	5,54±0,10 <sup>b</sup>	-0,97	-1,30 - -0,64	4,62±0,49 <sup>a,b</sup>	-1,89	-2,89 - -0,88

# Comparação dos eventos morfocinéticos em embriões, euploides, aneuploides e mosaicos de maneira cumulativa

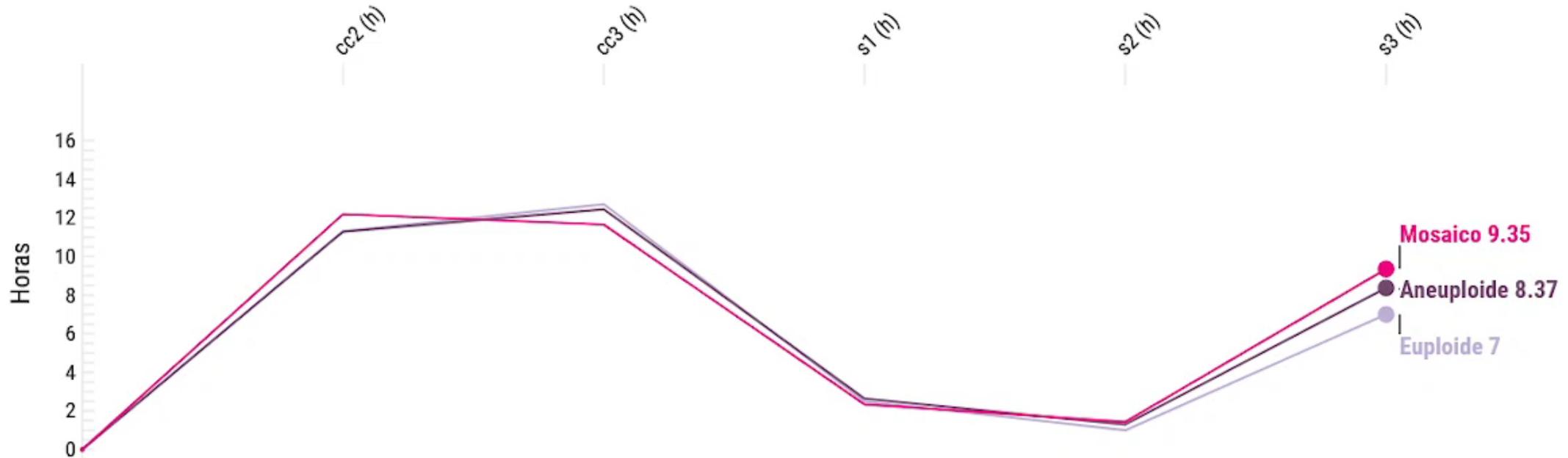


# Comportamento dos embriões euploides, aneuploides e mosaicos em relação a eventos morfocinéticos

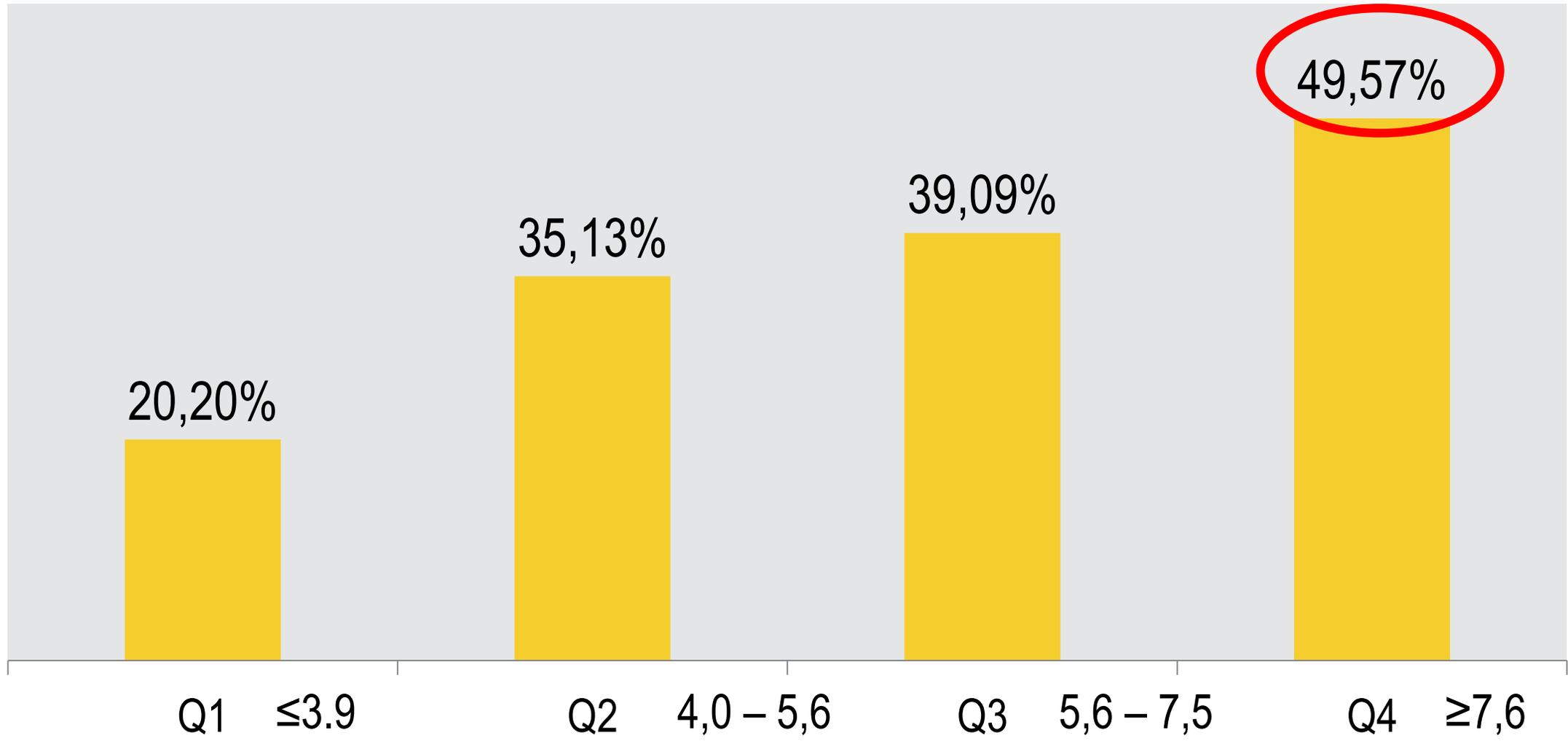


# Comportamento dos embriões euploides, aneuploides e mosaicos em relação a ciclos celulares e divisões sincrônicas

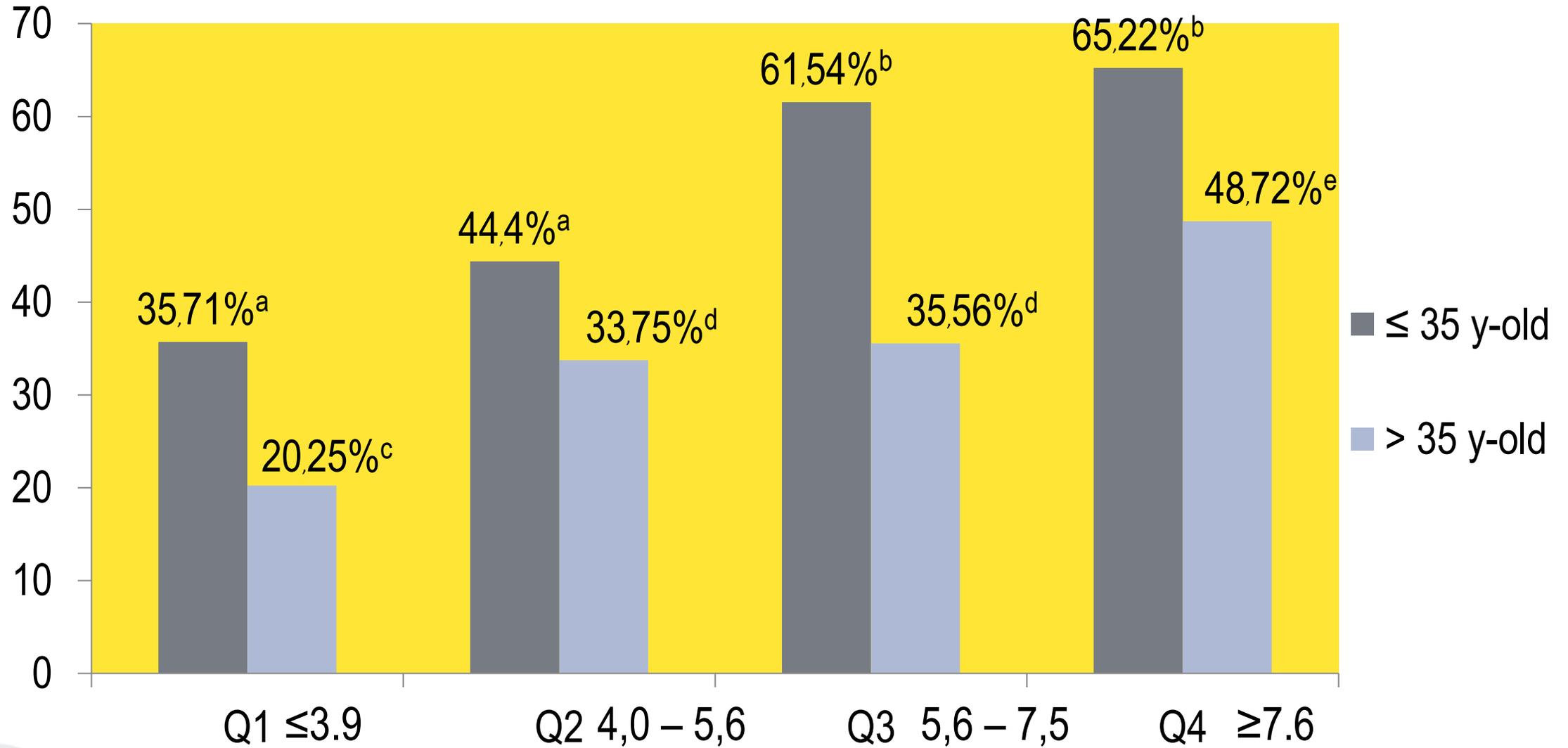
Estágios-chave



# Distribuição das porcentagens de embriões euploides entre os quartis de Kid score D5



# Distribuição das chances de ser euploide de acordo com a categoria KIDScore D 5



# CONCLUSÃO

INTRODUÇÃO ✓

OBJETIVO ✓

MATERIAIS E  
MÉTODOS ✓

RESULTADOS ✓

CONCLUSÃO

CONSIDERAÇÕES

✓ Nossos achados demonstraram um efeito significativo da aneuploidia nos eventos morfocinéticos iniciais e tardios do embrião.

✓ Aparentemente, embriões mosaicos se comportam de forma semelhante aos embriões aneuplóides em termos de morfocinética.



# CONSIDERAÇÕES

INTRODUÇÃO ✓

OBJETIVO ✓

MATERIAIS E  
MÉTODOS ✓

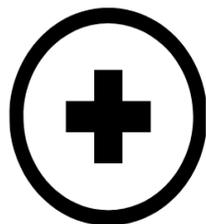
RESULTADOS ✓

CONCLUSÃO ✓

CONSIDERAÇÕES

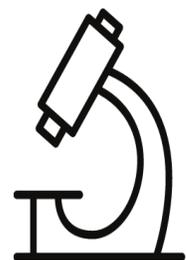
Nossas evidências sugerem que o monitoramento por TLI pode representar uma abordagem adjunta para a seleção de embriões para PGT; no entanto, mais investigações ainda são necessárias para confirmar esses achados.

# EQUIPE



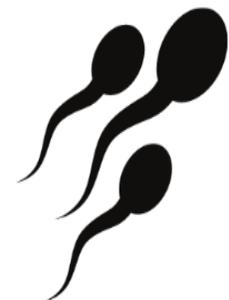
## ***Diretoria clínica***

Assumpto Iaconelli Jr.  
Edson Borges Jr.



## ***Laboratório de FIV***

Kelly C. Pinheiro  
Precipito  
Livia Silvia Vingris  
Patrícia Guilherme  
Tatiana Nunes de Melo



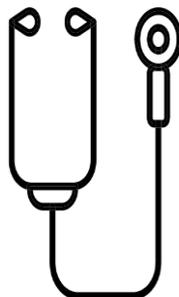
## ***Laboratório de andrologia***

Rodrigo Rosa Provenza



## ***Pesquisa e Educação***

Amanda Setti  
Christina Morishima  
Daniela Braga  
Joana Nogueres Simas



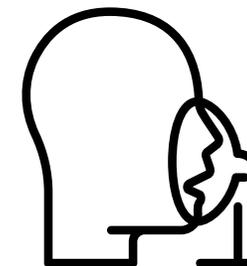
## ***Corpo Clínico***

Barbara Brigati  
Carla Iaconelli  
Edward Carrilho  
Fernanda Montenegro  
Graziela C. C. Carvalho  
Mauro Bibancos  
Natalia G. Tannous  
Paula Ferreiro Vieira  
Mario Firmino



## ***Psicologia***

Rose M. Melamed



## ***Anestesiologia***

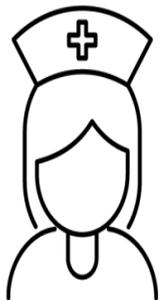
Marcelo Torres



## ***Nutrição***

Gabriela Halpern

# EQUIPE



## ***Enfermagem***

Larissa Rodrigues

Gonçalves

Maria Regina Soares da  
Silva

Rosieli Patricia A, da Silva

Vera Lucia Alves

Ariele Raiane B, Araujo

Gabriela Lima Almeida

Stefany N, Coelho



## ***Informática***

Marcelo Alexandre Baptsta



## ***Farmácia***

Maria das N. Fernandes



## ***Support***

Edson Pinheiro Ribeiro

Janaína Gomes Pinho da Silva

Katia Rodrigues

Lucácio de Souza Anjos

Marcos Vinícius de Sousa

Simone de S, Carvalho

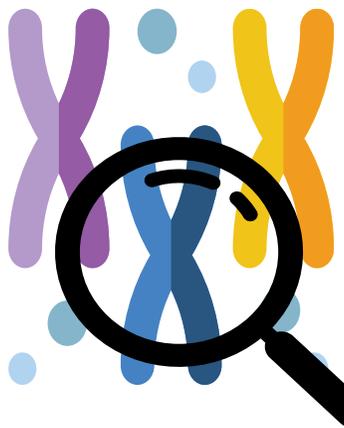
Leonardo S, Lopes



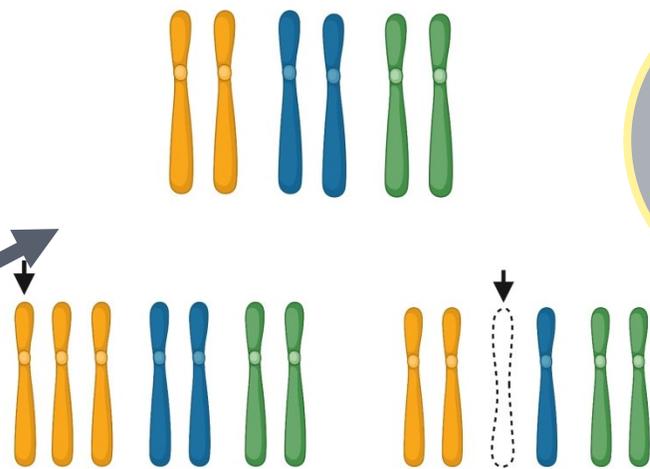
## ***Administration***

Margaret Meira

Fabiana Garcia



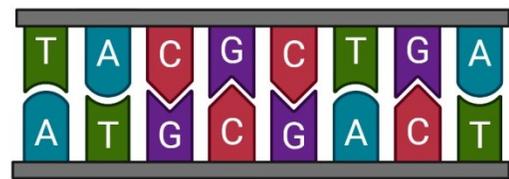
O PGT surge como uma abordagem para identificar anormalidades genéticas no embrião



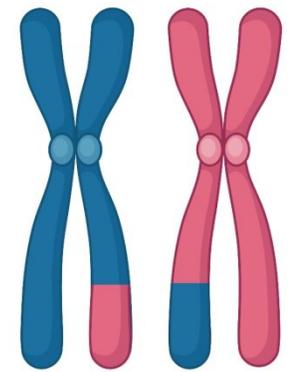
PGT-A

Zegers-Hochschild, et al., H Reprodu 2017

Scott Jr, et al., Fertil & Steril. 2013.



PGT-M

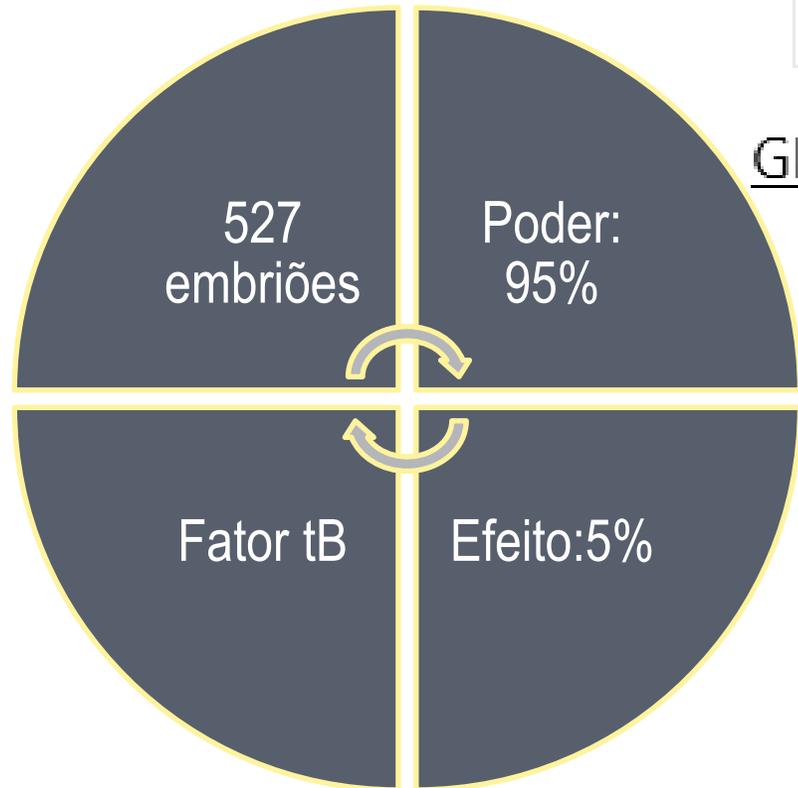


PGT-SR

# Cálculo amostral



GPower 3.1



As características do paciente e do ciclo

Marcadores morfocinéticos

Resultados clínicos



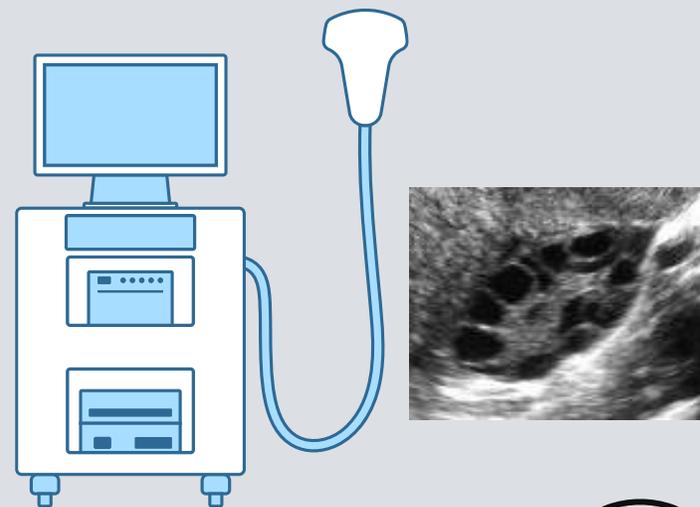
IBM SPSS  
Statistics

Modelos lineares  
generalizados

Teste post hoc de  
Bonferroni

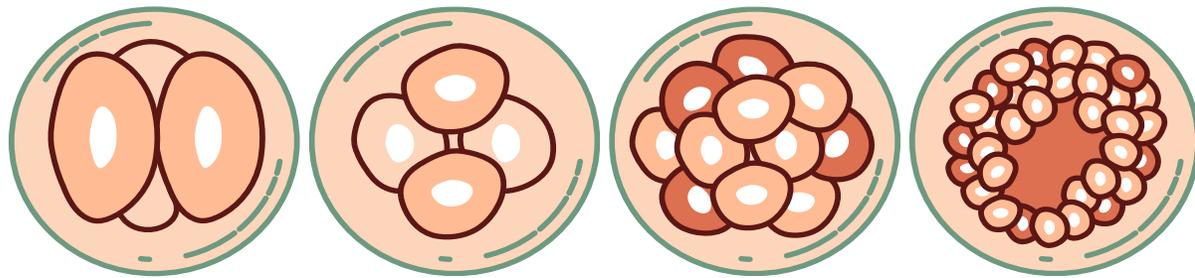
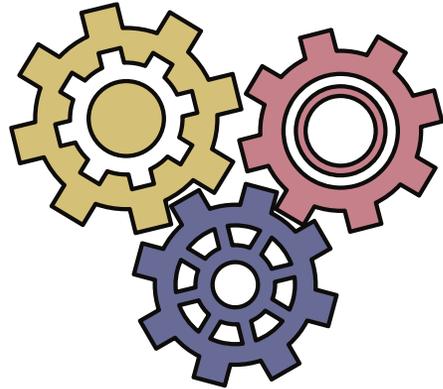
# ESTÍMULO OVARIANO CONTROLADO

- Antagonista do GnRH
- FSH
- hCG recombinante



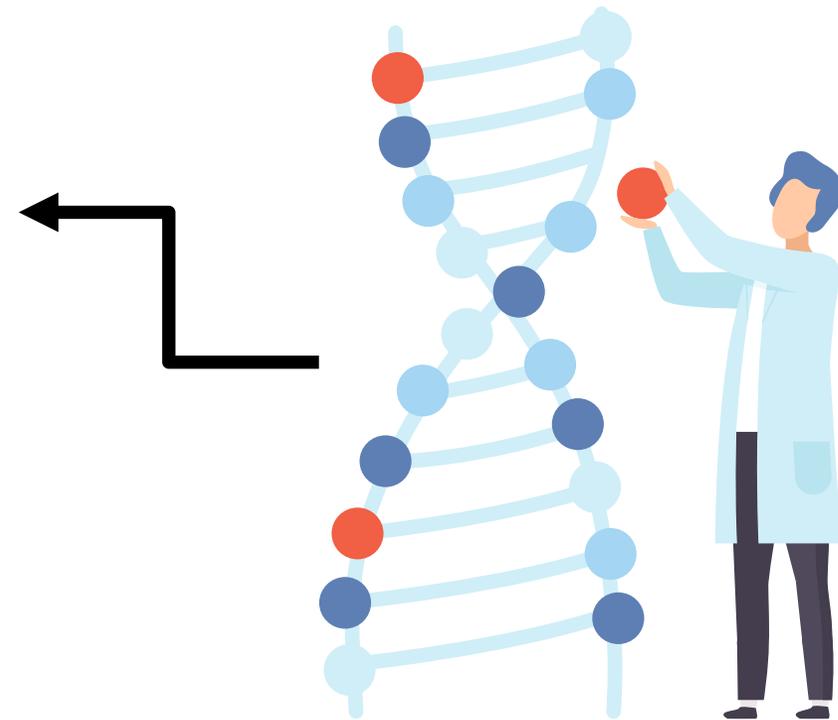
E2





Desenvolvimento do embrião é afetado por uma maquinaria embrionária intrínseca

O status cromossômico embrionário pode afetar o desenvolvimento

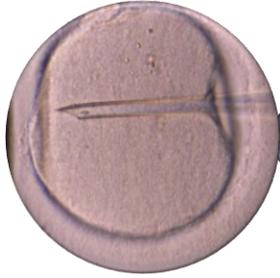




EOC realizado com FSH, bloqueio hipofisário com agonista do GnRH e trigger com hGG



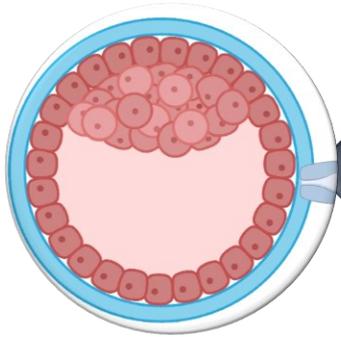
Após a coleta, os oócitos foram incubados, desnudados e avaliados quanto ao grau de maturação nuclear.



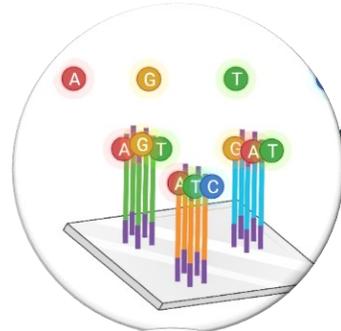
Os oócitos que liberaram o primeiro corpúsculo polar foram injetados (Palermo et al., 1992)



Embriões cultivados até o quinto dia



No quinto dia, foi feita a biopsia e as células do trofoectoderma foram retiradas



A determinação de euploidia, aneuploidia ou mosaicismo foi realizada por sequenciamento de última geração (NGS)

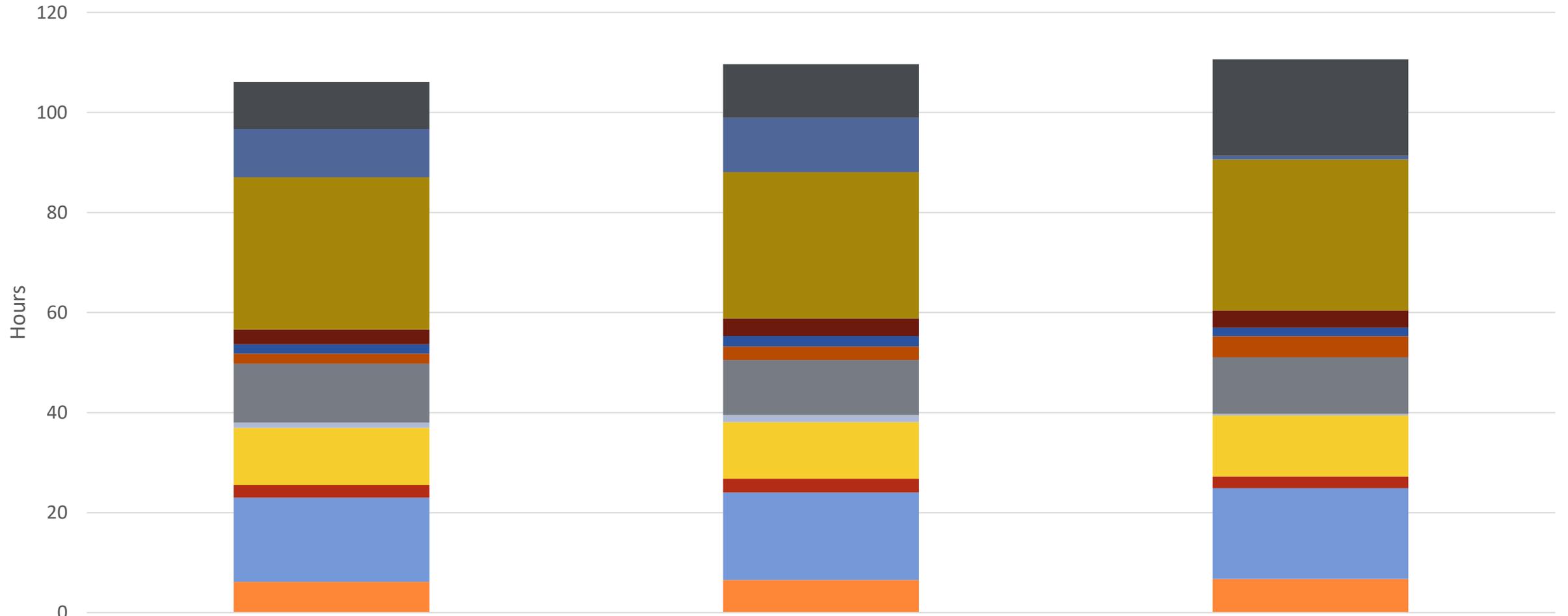


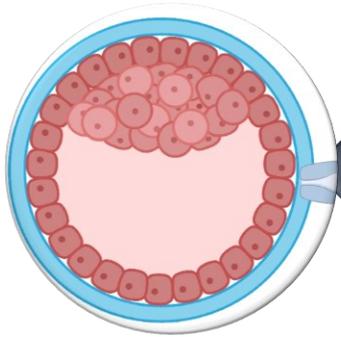
Amostras seminais foram avaliadas de acordo com os padrões de normalidade estabelecidos pela OMS



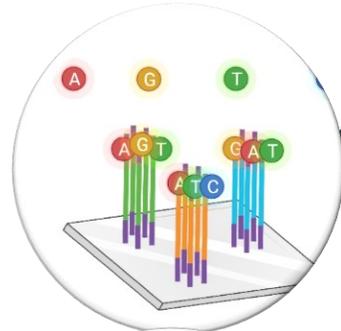
Amostras seminais foram preparadas por gradiente de centrifugação

# Comparação dos eventos morfofocinéticos em embriões, euploides, aneuploides e mosaicos de maneira cumulativa





No quinto dia, foi feita a biopsia e as células do trofoectoderma foram retiradas



A determinação de euploidia, aneuploidia ou mosaicismo foi realizada por sequenciamento de última geração (NGS)



Amostras seminais foram avaliadas de acordo com os padrões de normalidade estabelecidos pela OMS



Amostras seminais foram preparadas por gradiente de centrifugação