



FERTILITY[®]
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

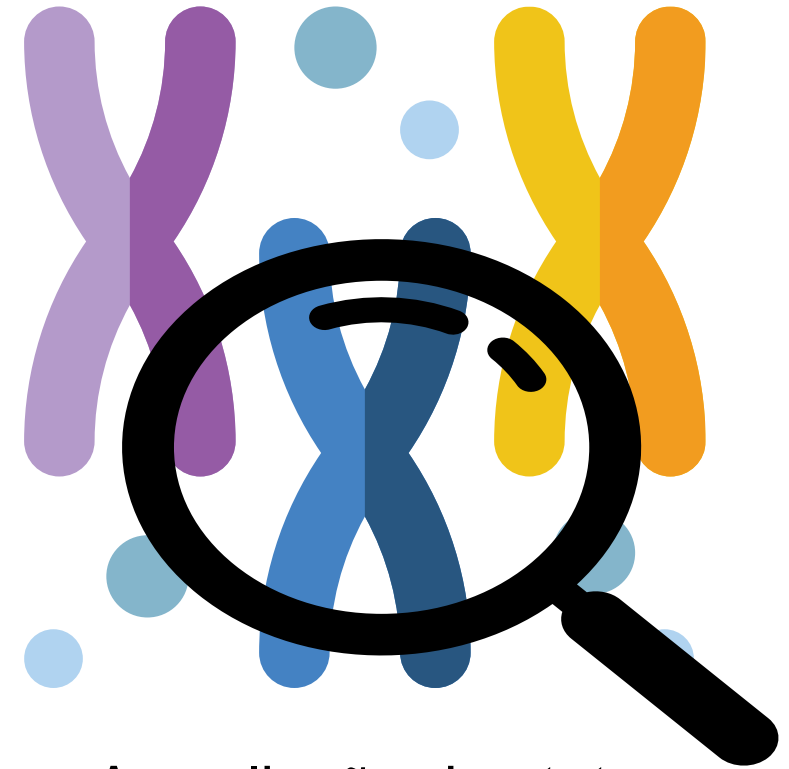
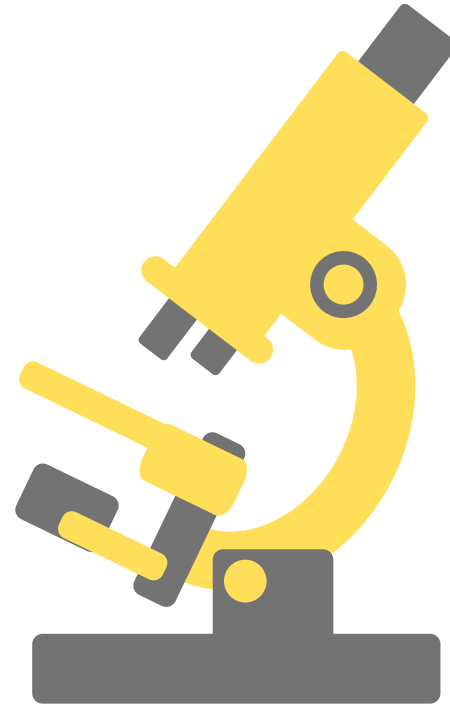
CONSIDERAÇÕES



Técnicas de avaliação da morfologia do embriões



Seleção do embrião mais viável

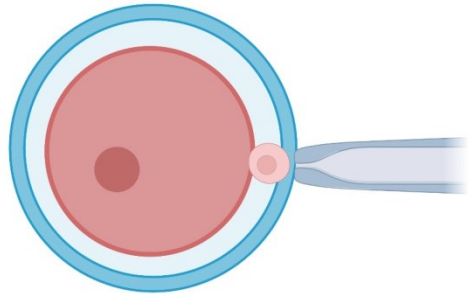


A avaliação do status genético de embriões

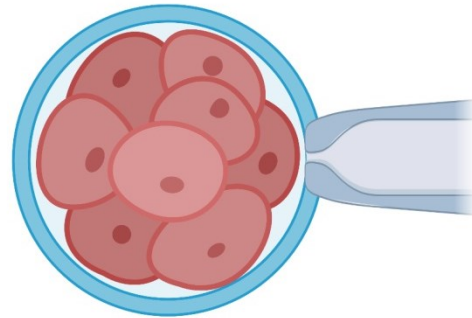
Embora eficiente e clinicamente relevante, a natureza invasiva do PGT limita seu sucesso

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.

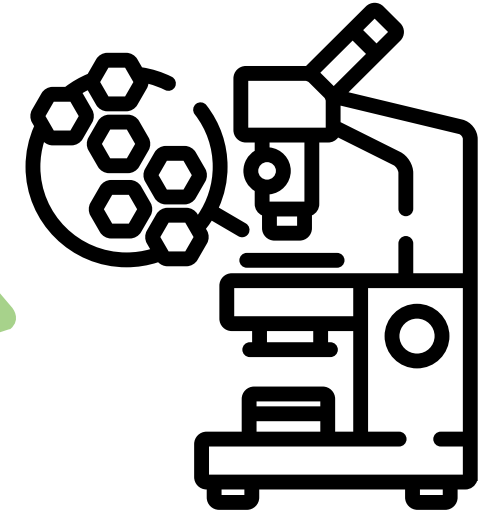
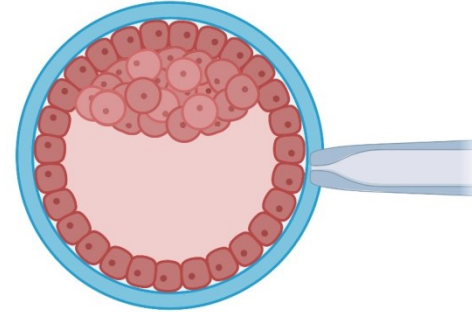
BIÓPSIA DE CORPÚSCULO POLAR



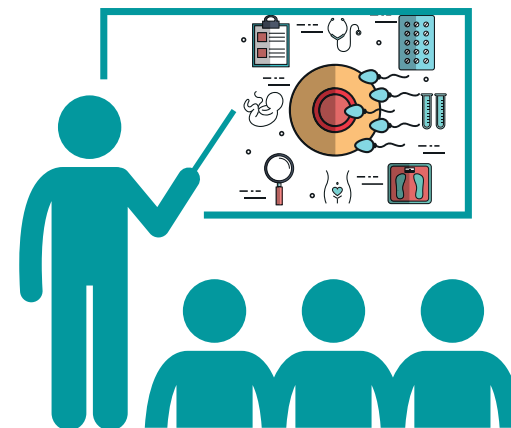
BIÓPSIA DE BLASTÔMERO



BIÓPSIA DE TROFOECTODERMA

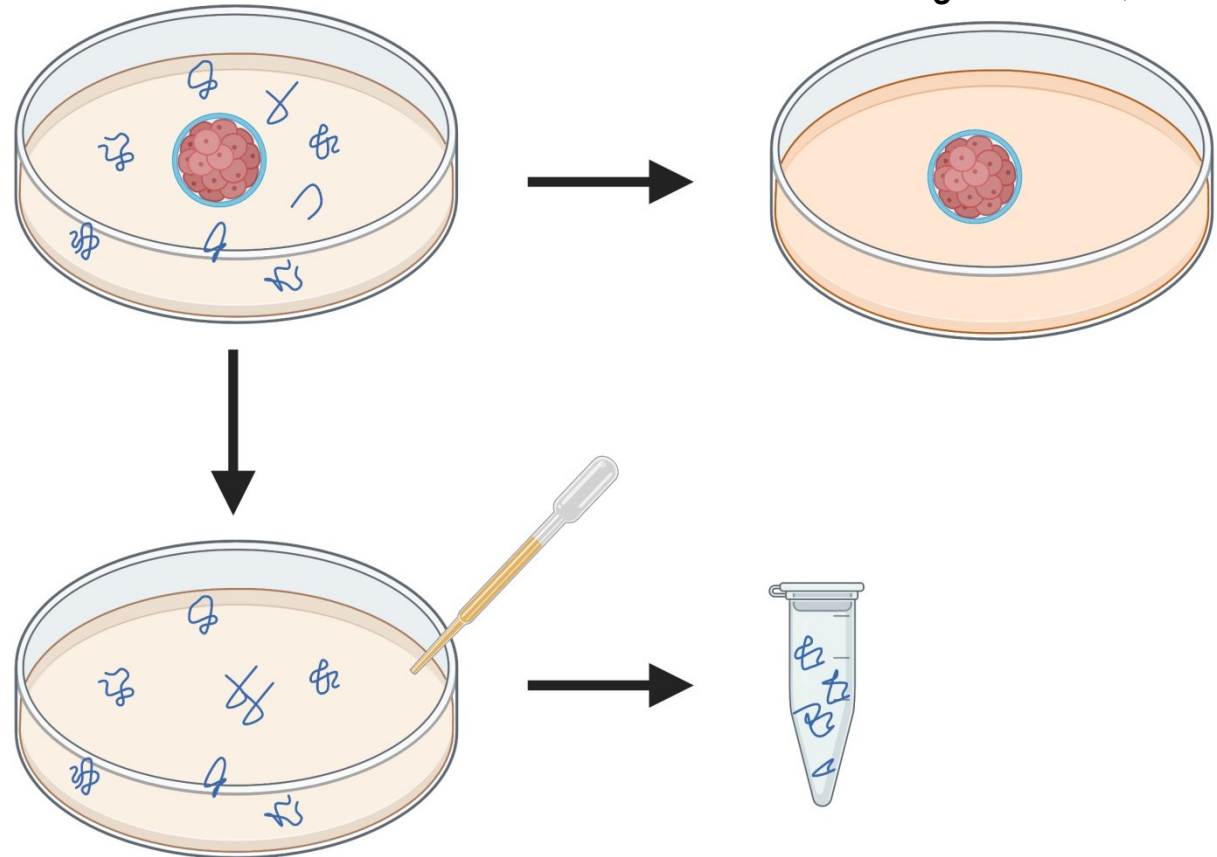
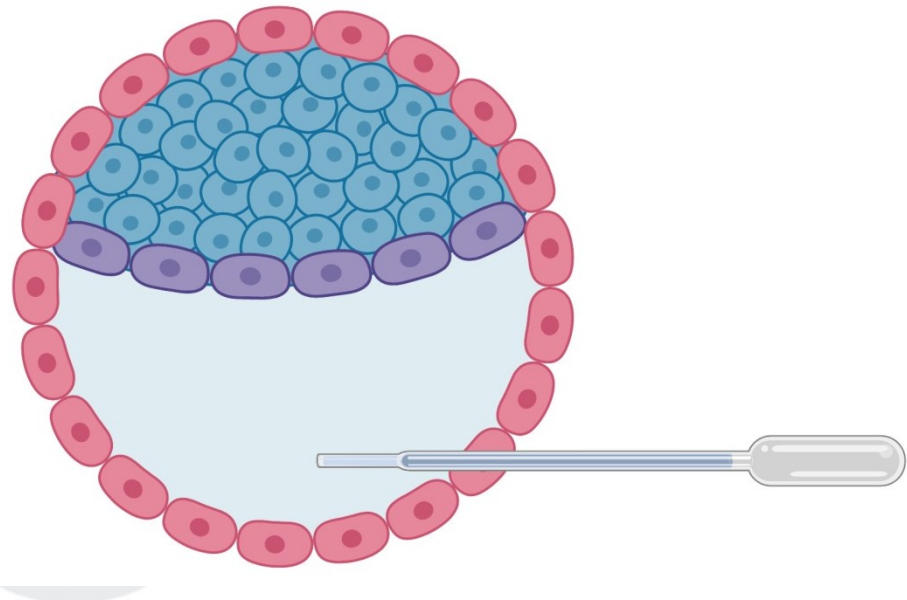


Biópsia não é totalmente livre de riscos



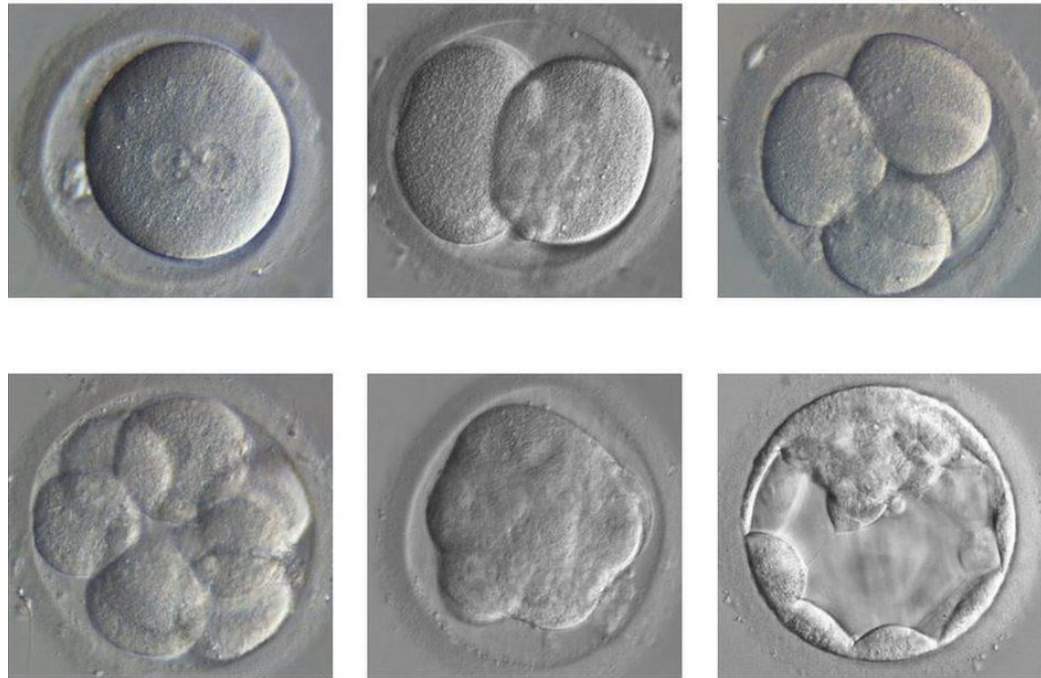
Equipamento e treinamento de pessoal e biópsia não aceita em diversos países

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



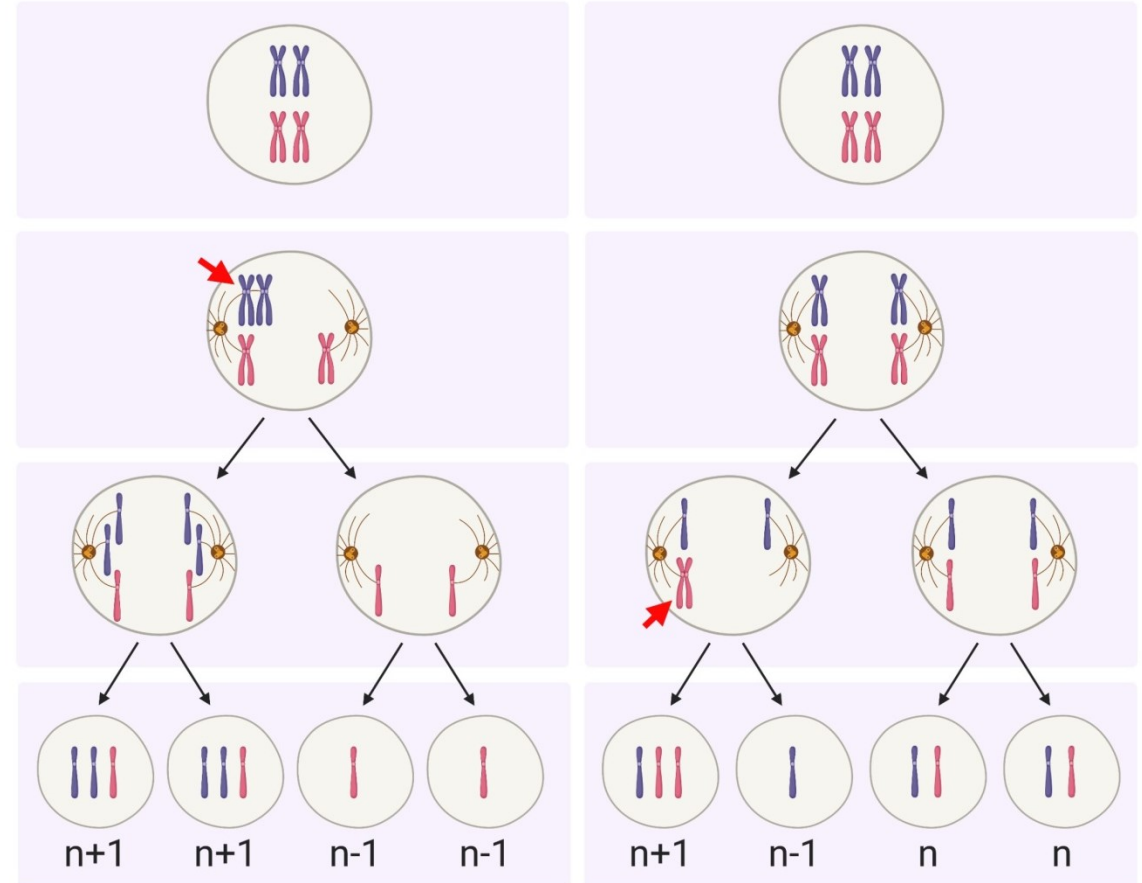
DNA em meios de cultura e no fluido da blastocele instigou pesquisadores a investigarem novas ferramentas para a possibilidade de um PGT não invasivo

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



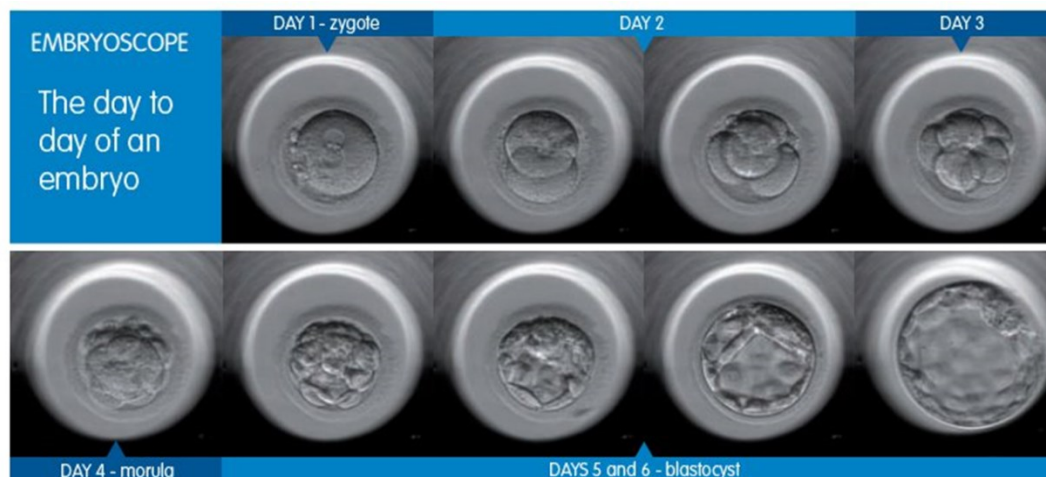
Meiose I

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)

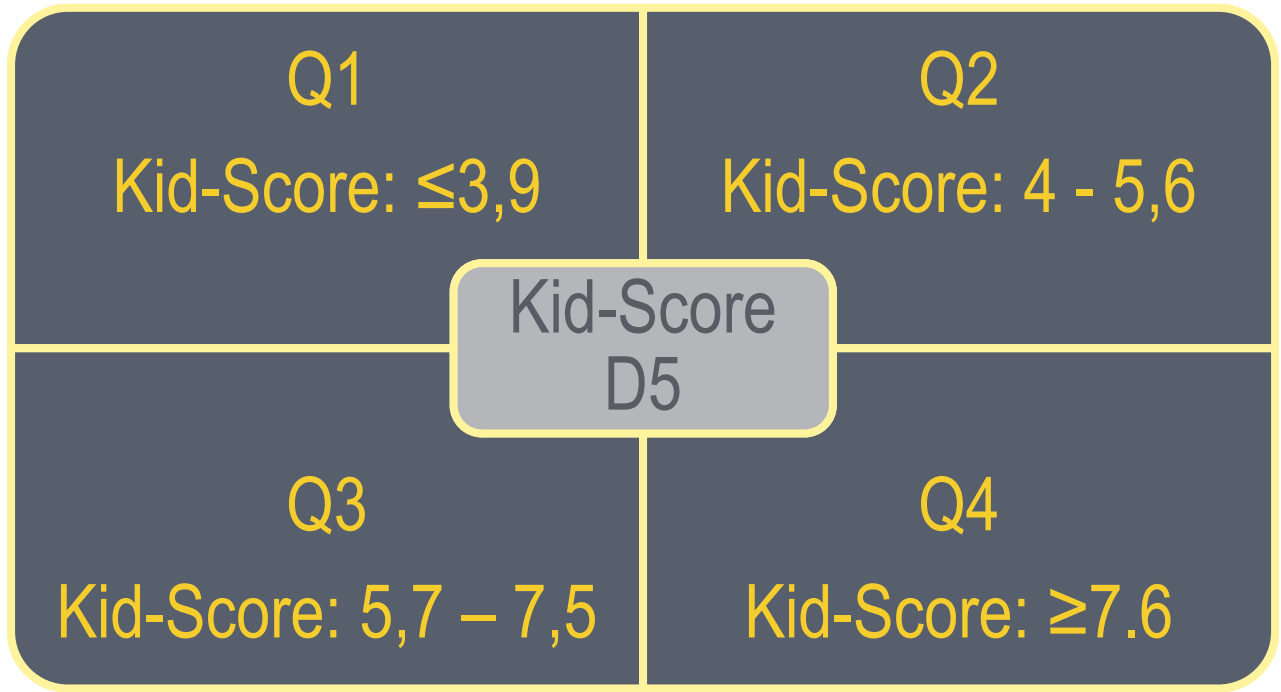
Mosaicos
(n = 22)

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

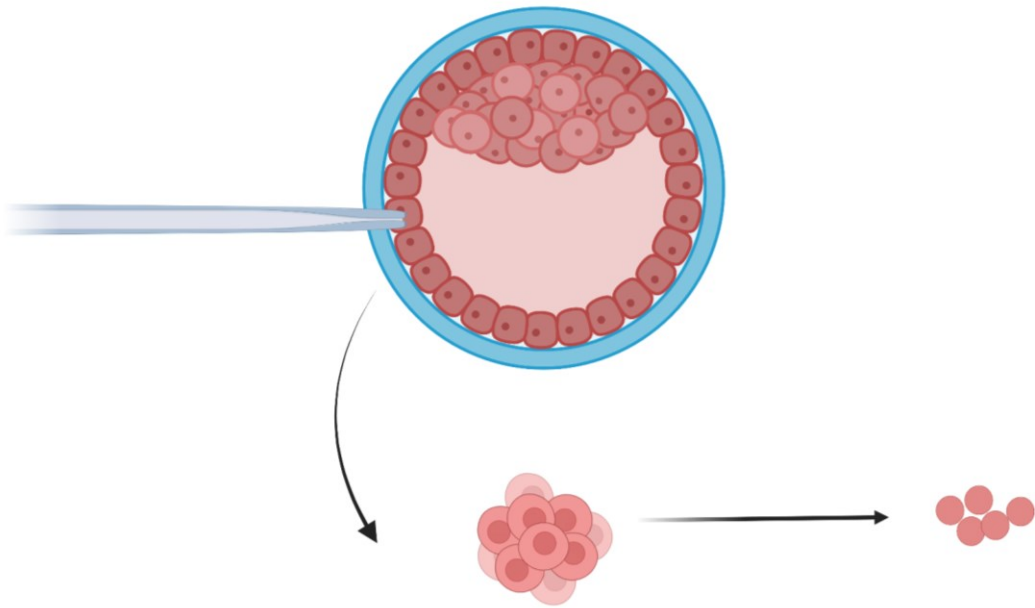


Os oócitos que liberaram o primeiro corpúsculo polar foram injetados (Palermo et al., 1992)

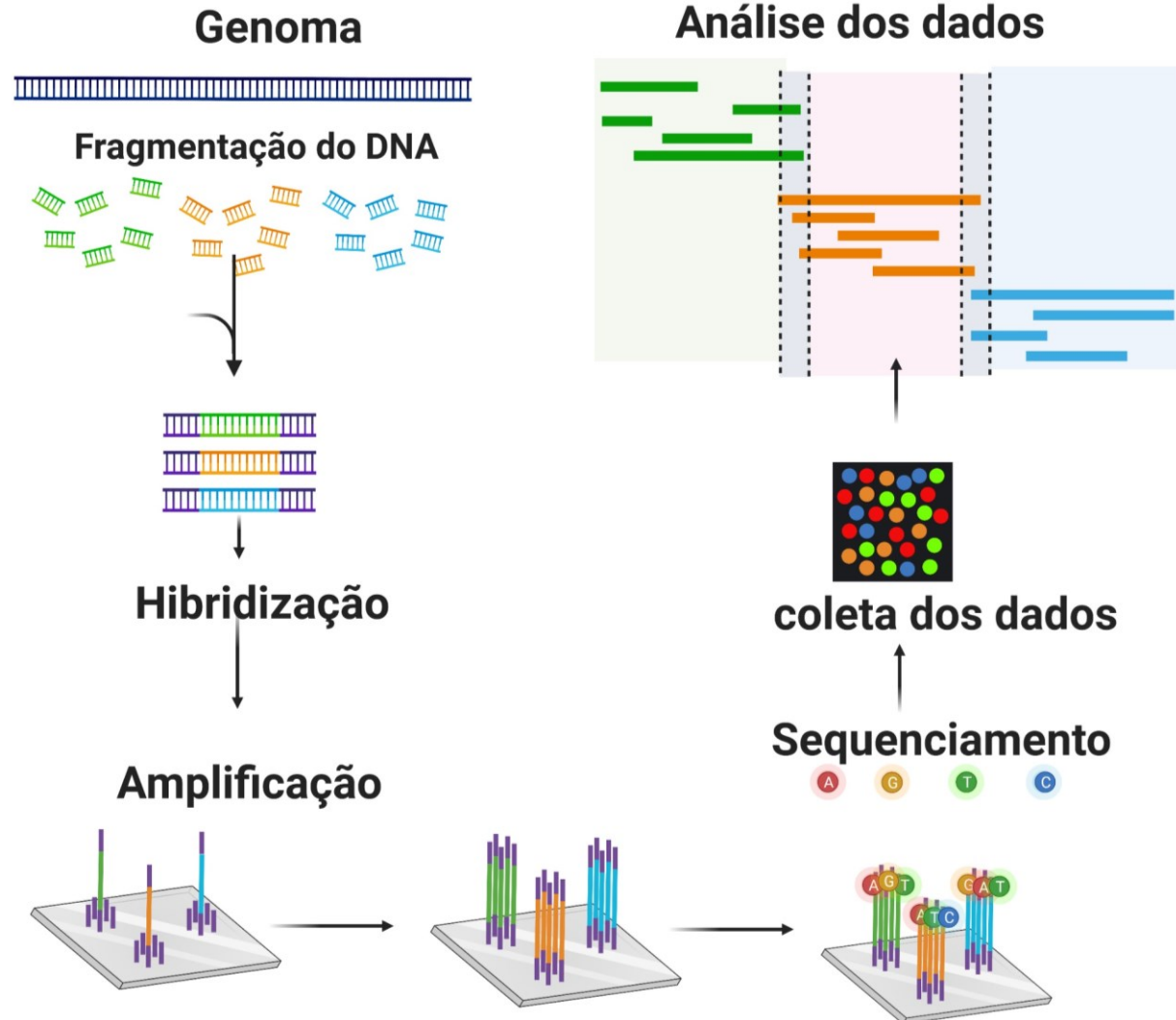


Embriões cultivados até o quinto dia

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 ^a	24.01±0.16 ^b	0.997	0.48-1.51	24.81±0.79 ^{a.b}	1.867	0.251-3.482
t2 (hrs.)	24.99±0.0 ^a	26.8±0.172 ^b	1.2	0.69-1.80	27.23±0.86 ^{a.b}	1.68	-0.70-3.41
t3 (hrs.)	36.14±0.0 ^a	38.08±0.20 ^b	1.14	0.47-1.80	39.42±1.02 ^{a.b}	2.47	0.40-4.54
t4 (hrs.)	37.25±0.22 ^a	39.52±0.21 ^b	1.55	0.85-2.24	39.75±1.07 ^{a.b}	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 ^a	53.20±0.29 ^b	1.42	0.450-2.39	55.26±1.49 ^{a.b}	3.48	0.45-6.51
t7 (hrs.)	52.56±0.35 ^a	53.65±0.42 ^b	1.65	0.616-2.68	57.00±1.59 ^{a.b}	1.65	0.11-6.58
t8 (hrs.)	55.43±0.51 ^a	58.87±0.39 ^b	2.22	0.95-3.49	60.4±1.94 ^{a.b}	3.78	-0.17-7.73

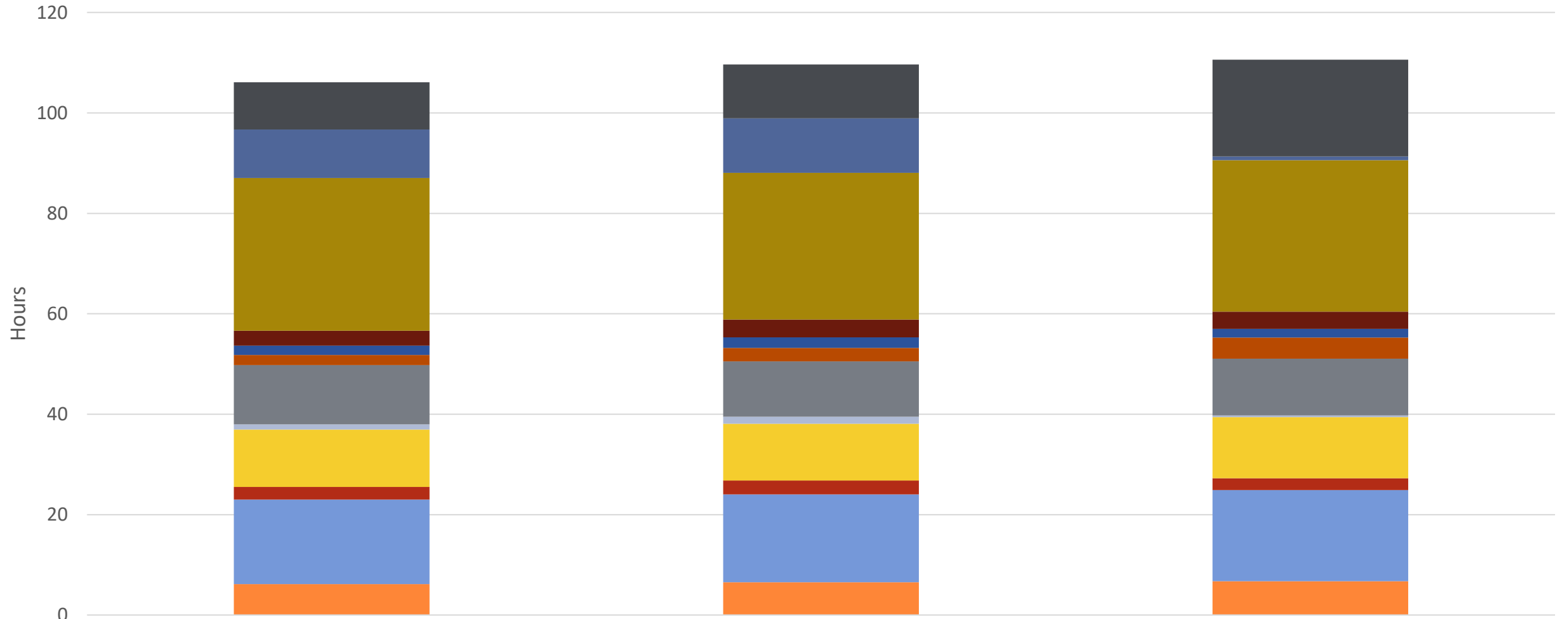
Resultados da comparação de dados morfocinéticos de embriões euploides, aneuploides e mosaicos

Dados	Euploides (n=352)	Aneuploides (n=583)	Mosaicos (n=22)				
	Média ± EP	Média ± EP	B	95% CI	Média ± EP	B	95% IC
tM (hrs.)	88,05±0,63 ^a	88,0±0,48 ^b	1,03	0,534-2,596	90,6±2,5 ^{a,b}	5,56	0,50-10,62
tsB (hrs.)	96,68±0,69 ^a	91,34±3,32 ^b	2,23	0,53-3,92	98,90±0,52 ^{a, b}	-5,33	-11,98-1,30
tB (hrs.)	105,31±0,00 ^a	109,64±0,477 ^b	3,54	2,00-5,07	110,59±2,44 ^{a,b}	4,49	0,45-9,44
cc2 (hrs.)	11,3±0,13	11,28±0,10	-0,10	-0,46-0,24	12,19±0,54	0,79	-0,30-1,89
cc3 (hrs.)	12,7±0,25	12,44±0,20	-0,43	-1,09-0,22	11,65±1,00	-1,23	-3,27-0,81
s1 (hrs.)	2,5±0,04	2,64±0,03	0,10	-0,02-0,23	2,34±0,19	-0,186	-0,57-0,20
s2 (hrs.)	1,0±0,12 ^a	1,3±0,09 ^b	0,40	0,07-0,73	1,43±0,10 ^{a,b}	-0,69	-1,71-0,33
s3 (hrs.)	7,0±0,38 ^a	8,37±0,30 ^b	1,28	0,30-2,26	9,35±1,50 ^{a,b}	2,26	-0,79-5,32
tM (hrs.)	88,05±0,63 ^a	88,0±0,48 ^b	1,03	0,534-2,596	90,6±2,5 ^{a,b}	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
MN (2 cell stage) %	32,0±2,8	36,0±2,3	0,20	-0,11-0,52	56,0±0,11	1,00	0,03-1,96
MN (4 cell stage) %	7,5±1,5	7,9±1,2	0,19	-0,37-0,76	11,0±7,4	0,52	-1,01-2,06
KIDScore D-5	6,52±0,13 ^a	5,54±0,10 ^b	-0,97	-1,30 - -0,64	4,62±0,49 ^{a,b}	-1,89	-2,89 - -0,88

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



Result NGS



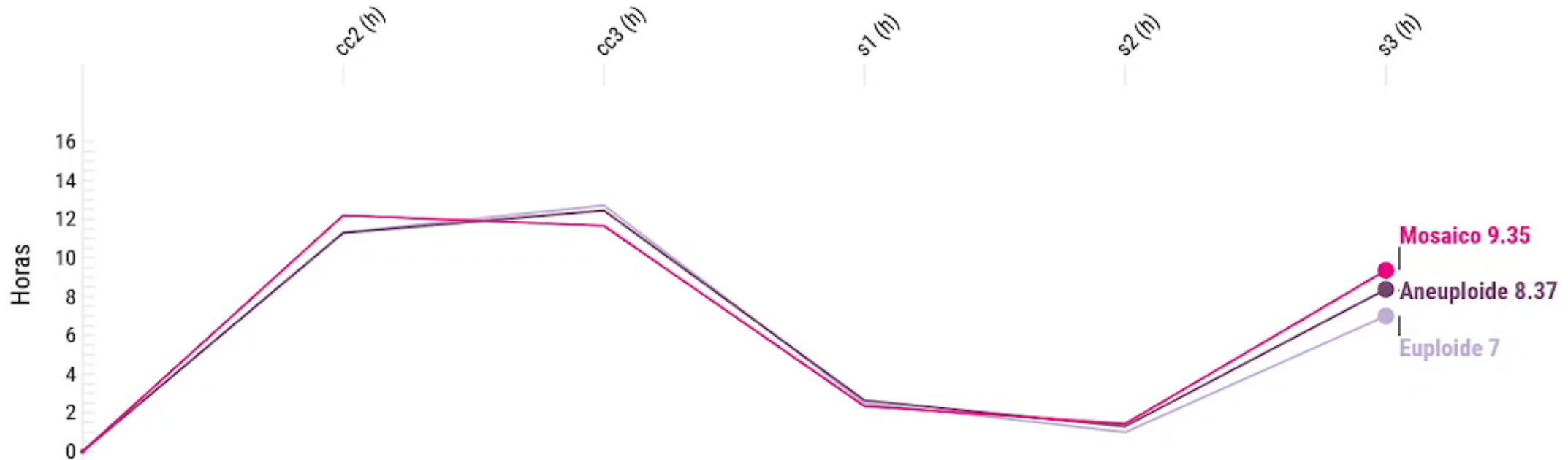
tPNa tPNf t2 t3 t4 t5 t6 t7 t8 tM tSB tB

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

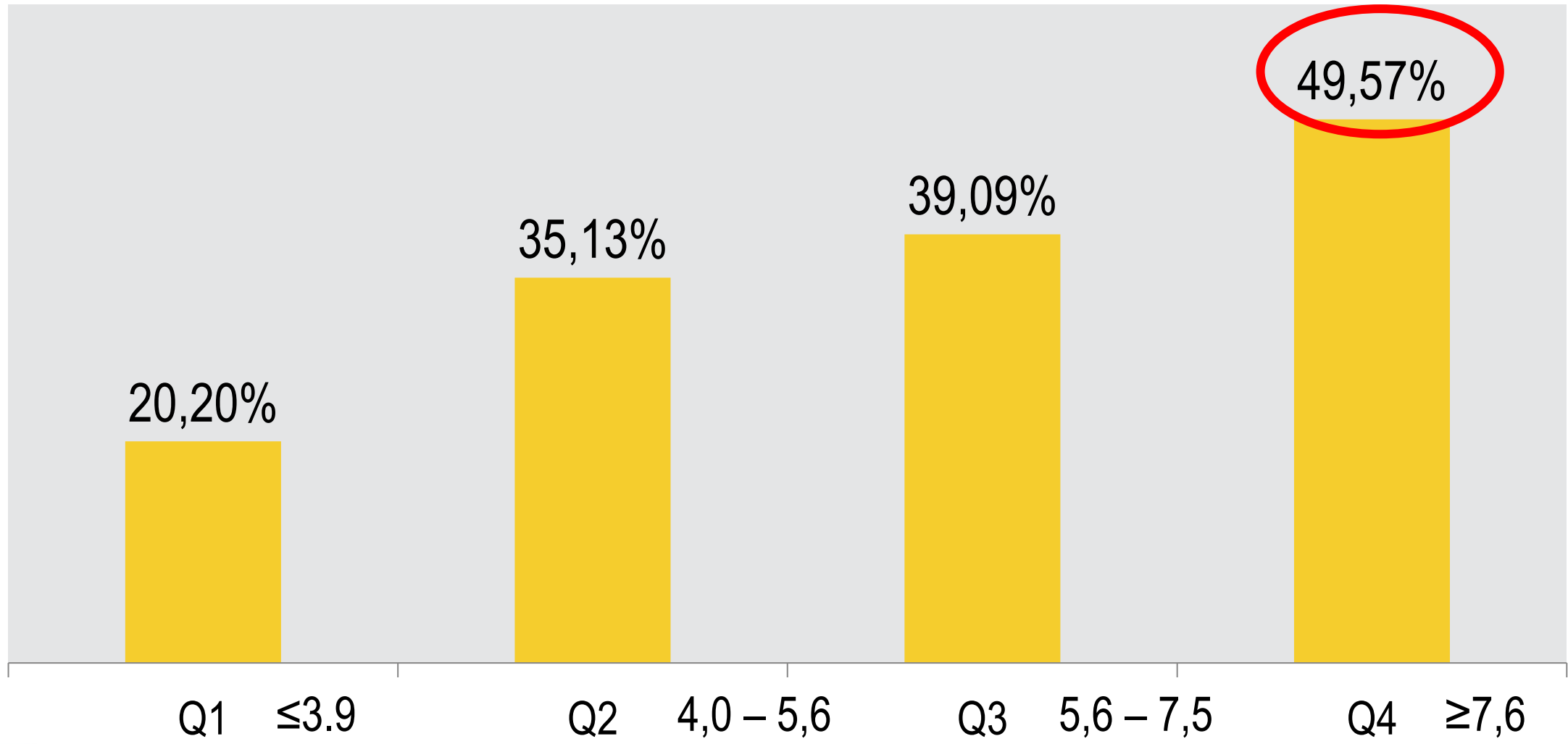


Comportamento dos embriões euploides, aneuploides e mosaicos em relação a ciclos celulares e divisões sincrônicas

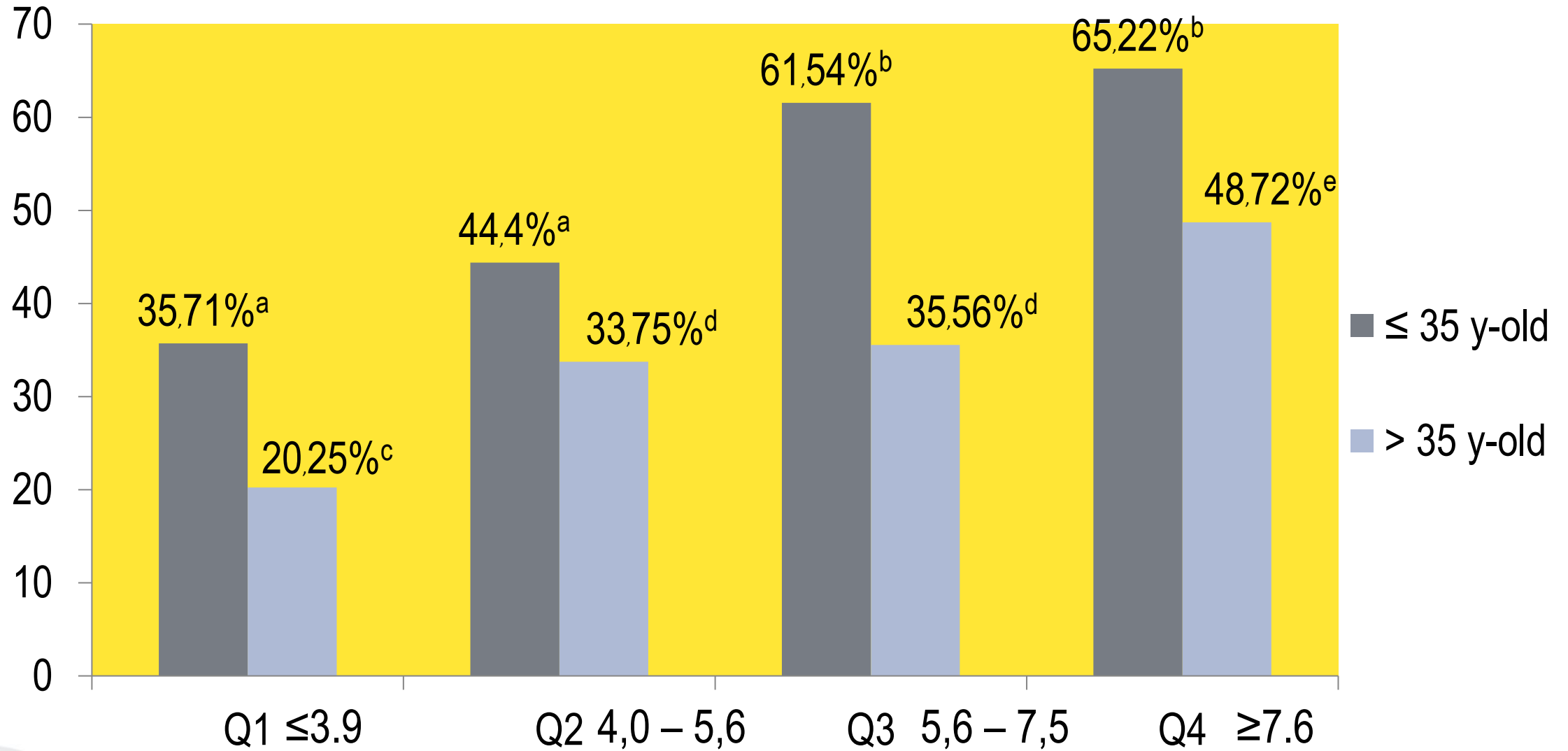
Estágios-chave



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



■ ≤ 35 y-old

■ > 35 y-old

Q1 ≤3.9

Q2 4,0 – 5,6

Q3 5,6 – 7,5

Q4 ≥7.6

FERTILITY



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

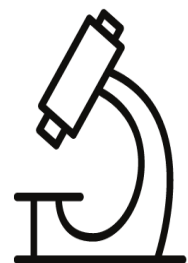
Nossas evidências sugerem que o monitoramento por TLI pode representar uma abordagem adjunta para a seleção de embriões para PGT; no entanto, mais investigações ainda são necessárias para confirmar esses achados.

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



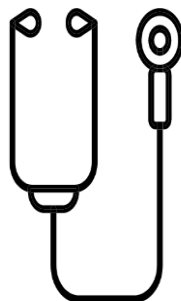
Laboratório de andrologia

Rodrigo Rosa Provenza



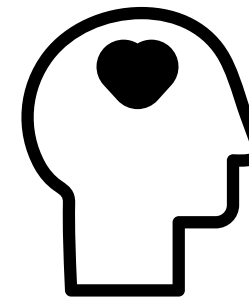
Pesquisa e Educação

Amanda Setti
Christina Morishima
Daniela Braga
Joana Nogueres Simas



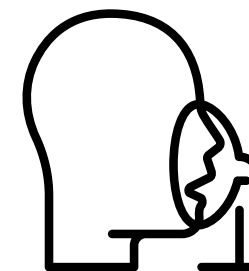
Corpo Clínico

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

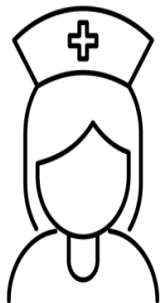
Marcelo Torres



Nutrição

Gabriela Halpern

EQUIPE



Enfermagem

Larissa Rodrigues

Gonçalves

Maria Regina Soares da
Silva

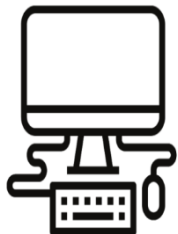
Rosieli Patricia A, da Silva

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

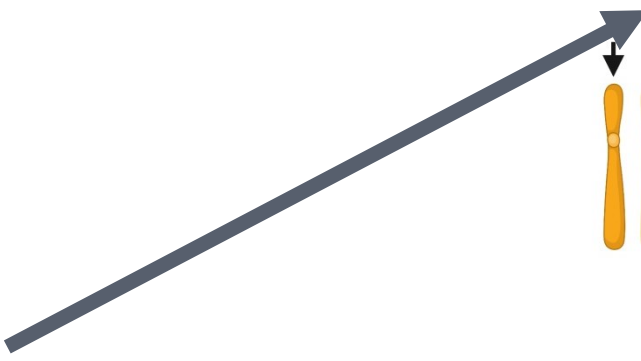
Leonardo S, Lopes



Administration

Margaret Meira

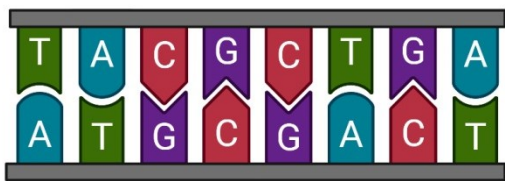
Fabiana Garcia



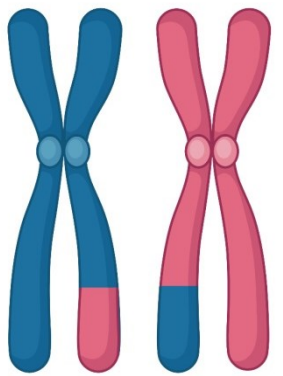
PGT-A

Zegers-Hochschild, et al., H Reprodu 2017

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



PGT-M



PGT-SR

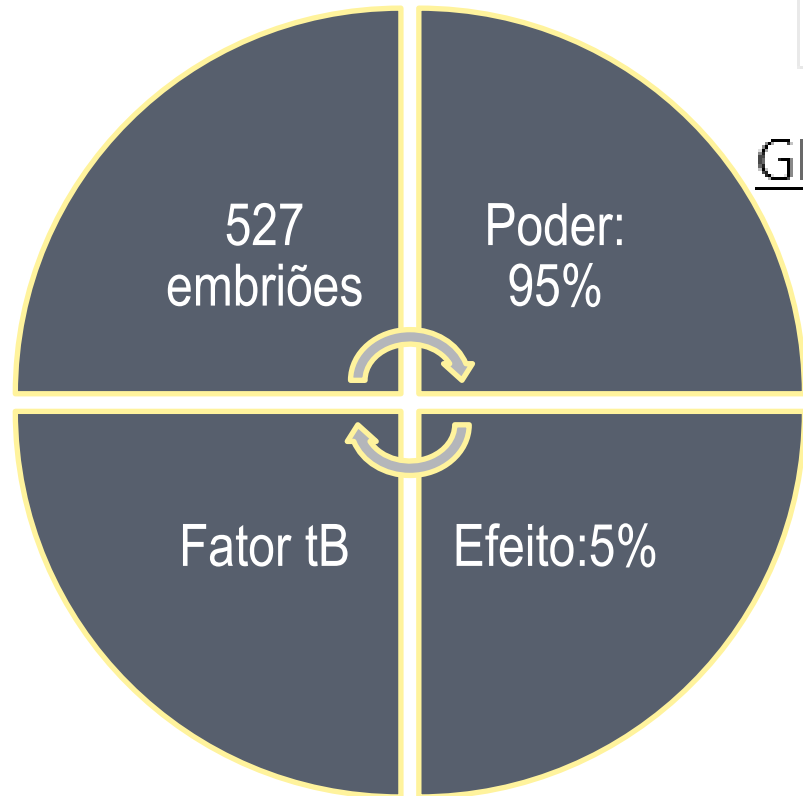
O PGT surge como uma abordagem para identificar anormalidades genéticas no embrião



Cálculo amostral



GPower 3.1



As características do paciente e do ciclo

Marcadores morfocinéticos

Resultados clínicos



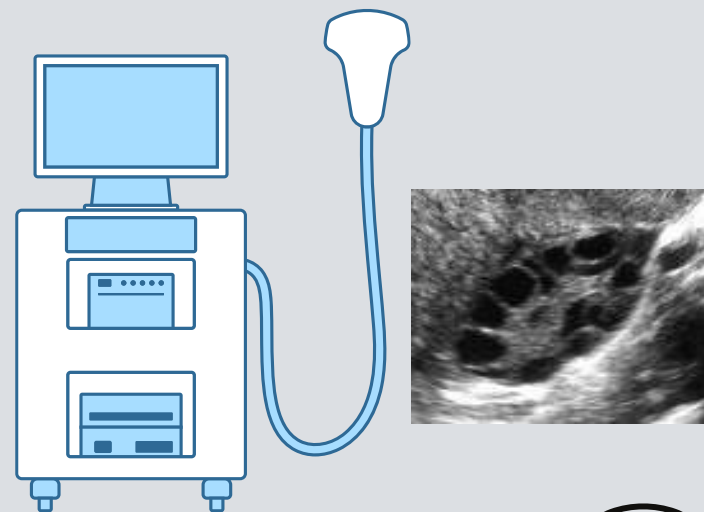
IBM SPSS
Statistics

Modelos lineares
generalizados

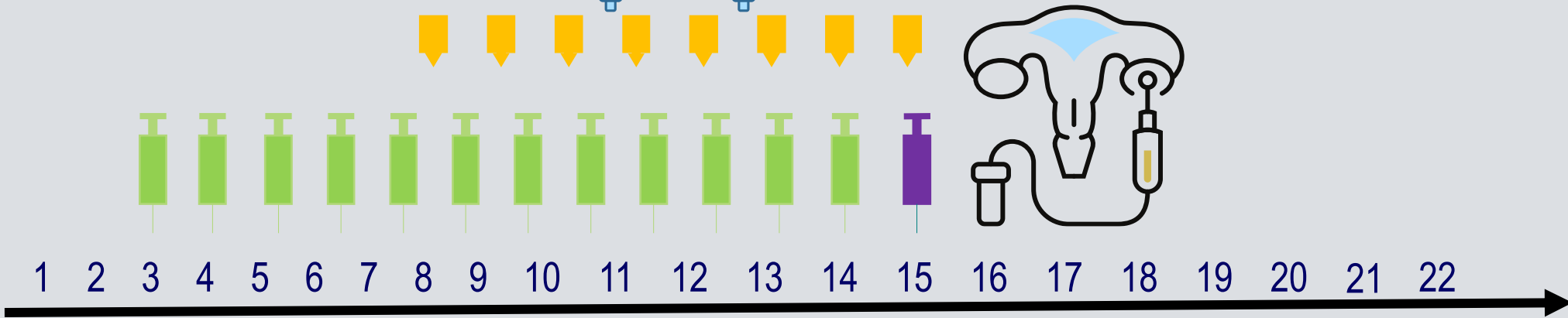
Teste post hoc de
Bonferroni

ESTÍMULO OVARIANO CONTROLADO

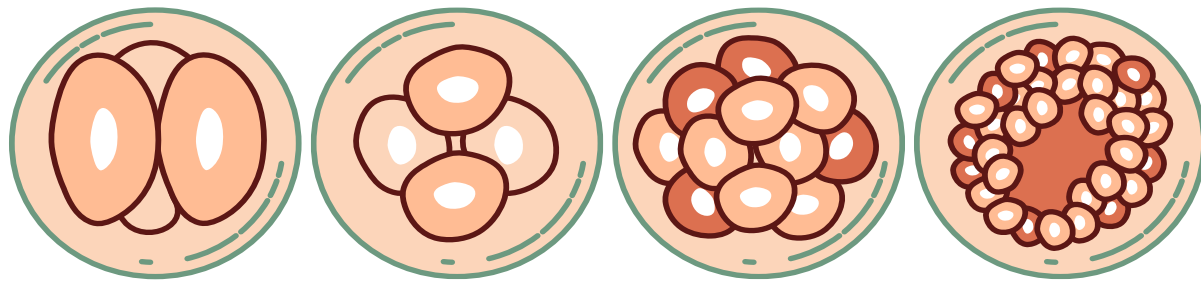
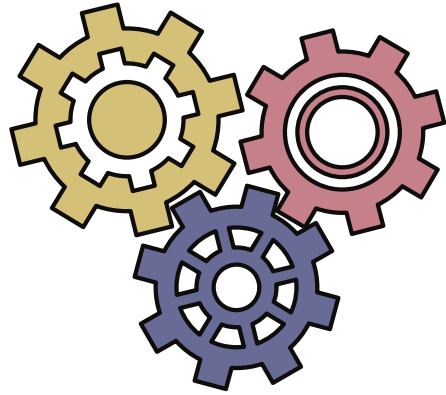
- Antagonista do GnRH
- FSH
- hCG recombinante



E2

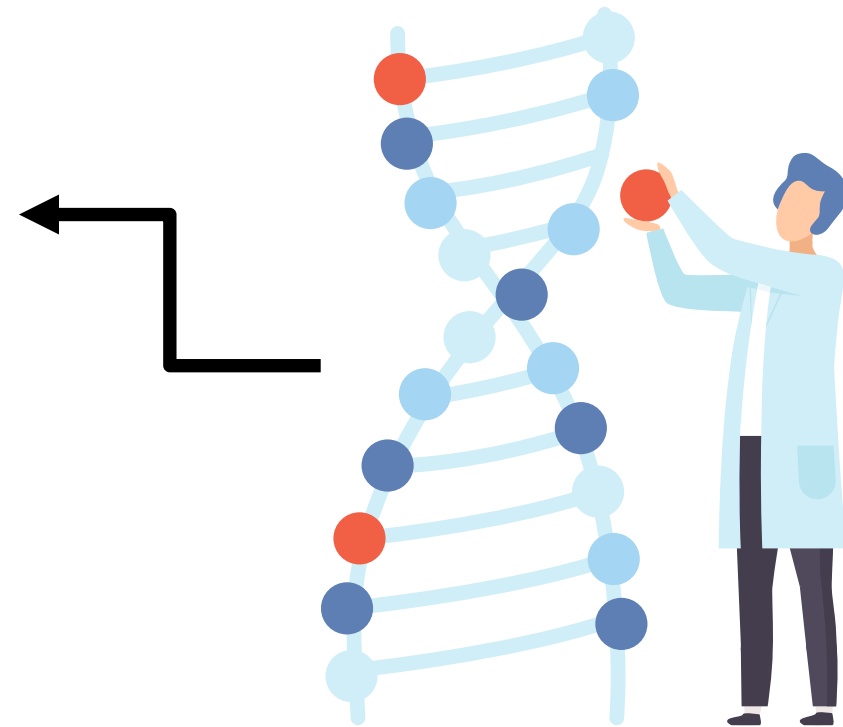


1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22



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



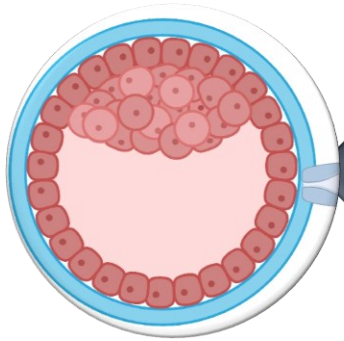
Após a coleta, os oócitos foram incubados, desnudados e avaliados quanto ao grau de maturação nuclear.



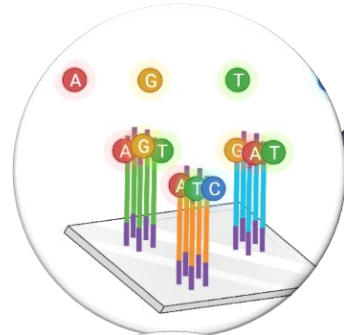
Os oócitos que liberaram o primeiro corpúsculo polar foram injetados (Palermo et al., 1992)



Embriões cultivados até o quinto dia



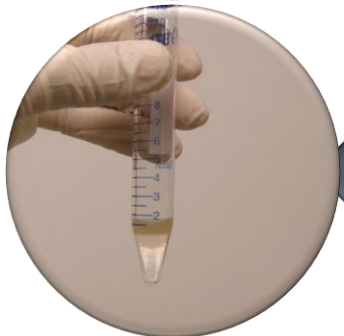
No quinto dia, foi feita a biopsia e as células do trofoectoderma foram retiradas



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

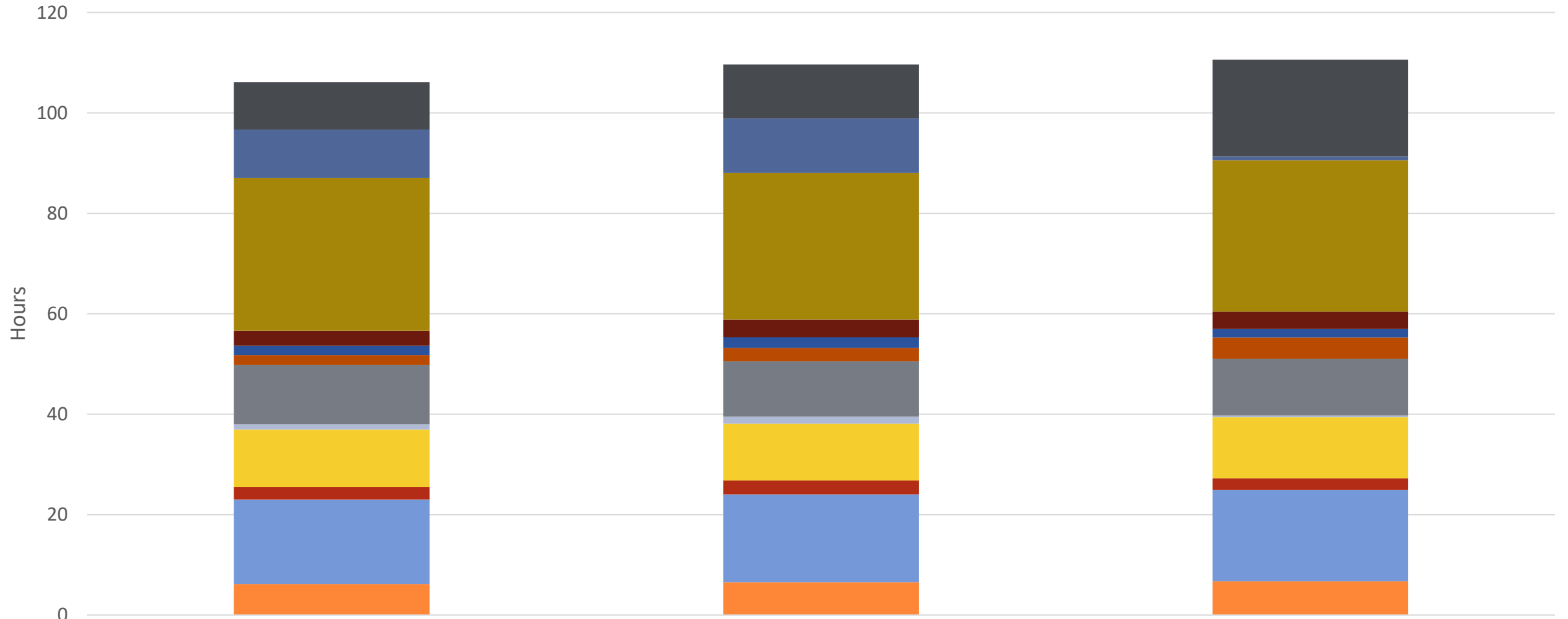


Amostras seminais foram avaliadas de acordo com os padrões de normalidade estabelecidos pela OMS



Amostras seminais foram preparadas por gradiente de centrifugação

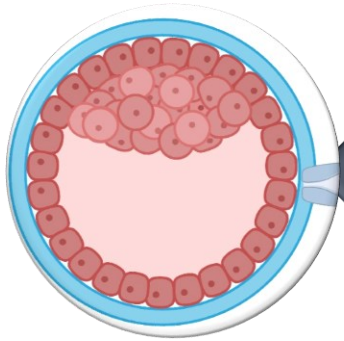
Comparação dos eventos morfofocinéticos em embriões, euploides, aneuploides e mosaicos de maneira cumulativa



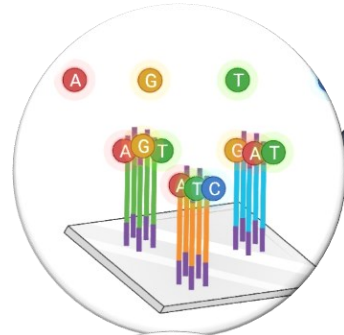
Result NGS

- tPNa
- tPNf
- t2
- t3
- t4
- t5
- t6
- t7
- t8
- tM
- tSB
- tB





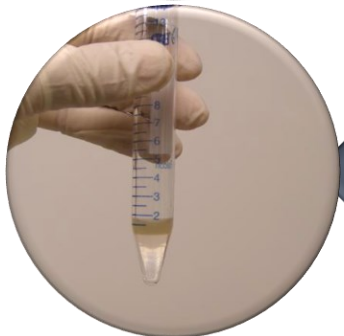
No quinto dia, foi feita a biopsia e as células do trofoectoderma foram retiradas



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