

# Proteoma em células do cumulus: identificação de biomarcadores de sucesso para técnicas de reprodução humana assistida



Daniela Paes Almeida Ferreira Braga, <sup>a,b,c</sup> Amanda Souza Setti, <sup>a,c</sup> Edson Guimarães Loturco, <sup>b</sup> Fernanda Bertuccez Cordeiro, <sup>b</sup> Elaine C. Cabral, <sup>d</sup> Erika Ono, <sup>c</sup> Rita Cássia Sávio Figueira, <sup>a</sup> Marcos Eberlin, <sup>e</sup> Edson Borges Jr.<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Fertility – Centro de Fertilização Assistida;

<sup>b</sup> Departamento de Cirurgia, Universidade Federal de São Paulo. – UNIFESP;

<sup>c</sup> Instituto Sapientiae – Centro de Estudos e Pesquisa em Reprodução Humana Assistida;

<sup>d</sup> Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agronômicas. CPQBA – UNICAMP;

<sup>e</sup> Laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massas – IQ - Unicamp

- **Programa:** FAPESP Pesquisa Inovativa em Pequenas Empresas (PIPE)
- **Empresa:** Fertility Medical Group

# Introdução

---

## Letters to the Editor

---

### **BIRTH AFTER THE REIMPLANTATION OF A HUMAN EMBRYO**

Department of  
Obstetrics and Gynecology,  
General Hospital,  
Oldham OL1 2JH

University Physiology Laboratory,  
Cambridge CB2 3EG

P. C. STEPTOE

R. G. EDWARDS

THE LANCET, AUGUST 12, 1978

---

## SHORT REPORT

### **Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte**

GIANPIERO PALERMO   HUBERT JORIS  
PAUL DEVROEY   ANDRE C. VAN STEIRTEGHEM

VOL 340: JULY 4, 1992

THE LANCET

---



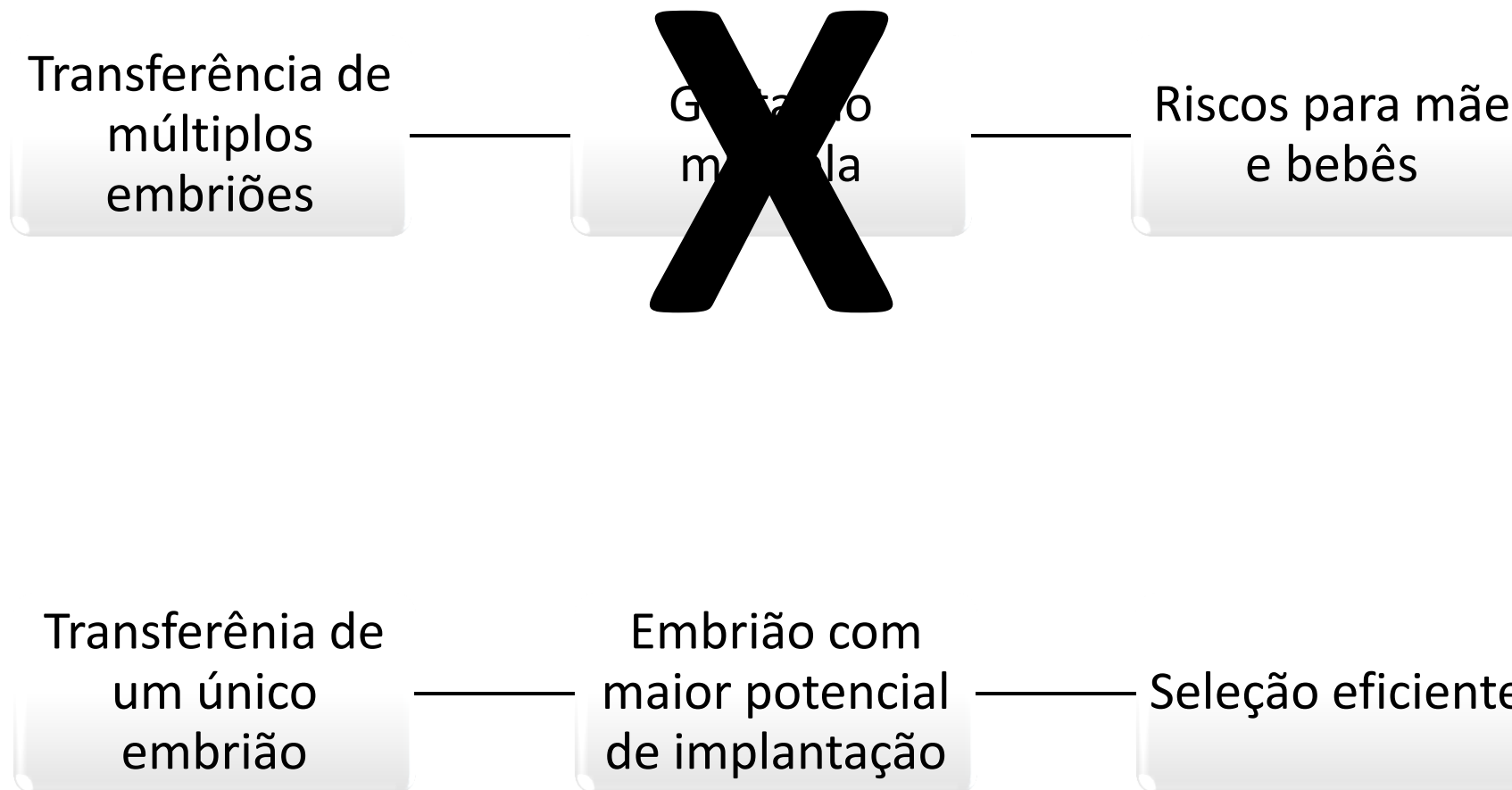
# Introdução

- 70-80% dos embriões produzidos *in vitro* falham em implantar
- 66% dos ciclos falham



	ESHRE	ASRM	RED LARA
Gestação/ ciclo iniciado (%)	29,9	35,0	30,2
Gestação/ transferência (%)	30,9	43,2	33,5

# Introdução



# Introdução

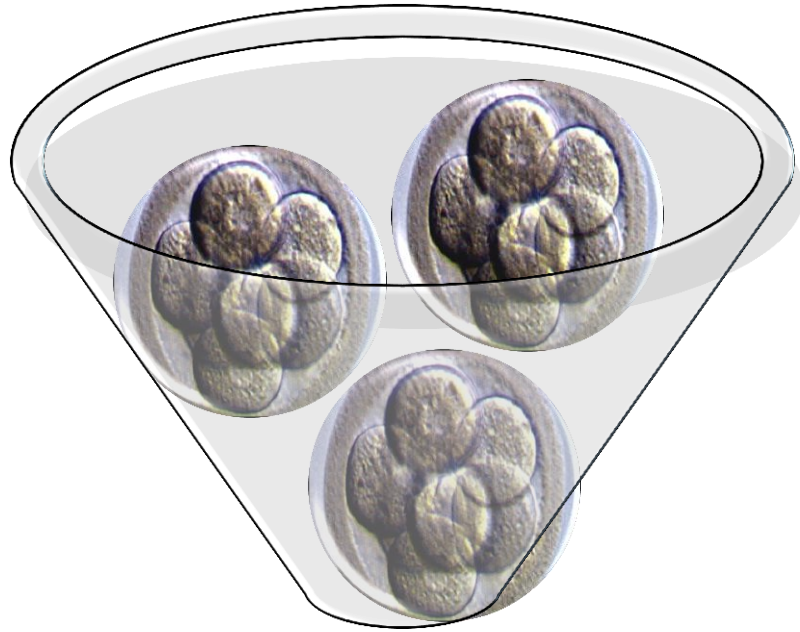
## Cultivo estendido de embrião *in vitro*



- Blastocistos tem maior chance de implatação



# Introdução



- Centro de reprodução assistida: relutantes em adotar o cultivo estendido de embriões
- Identificação das pacientes que podem se beneficiar do cultivo estendido: Fundamental
- Cancelamento do ciclo

# Objetivo:

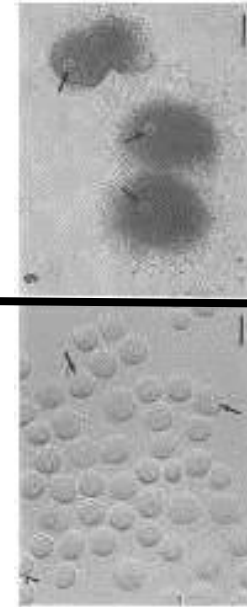
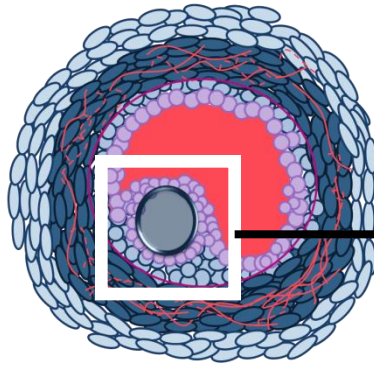
- Analisar o perfil proteômico em células do cumulus (CC) de pacientes submetidas à estimulação ovariana controlada para injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)

# Objetivos Específicos:

- Comparar o perfil proteômico de CCs no grupo de pacientes que tiveram blastocistos e de pacientes que não obtiveram blastocistos no quinto dia de desenvolvimento
- Comparar o perfil proteômico de CCs no grupo de pacientes que tiveram resultado positivo de gestação e daquelas que tiveram resultado negativo

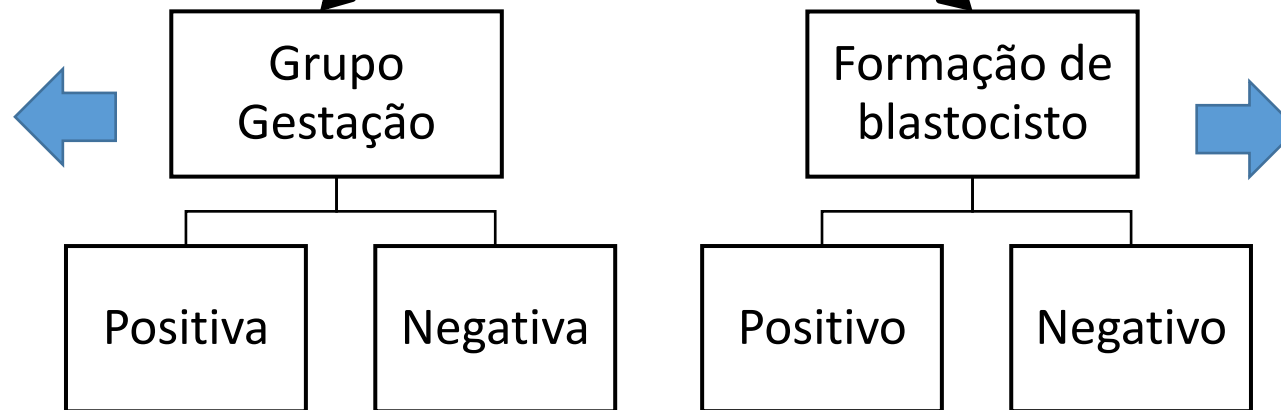


# Delineamento Experimental



Pool de células do cumulus

Presença do saco gestacional e implantação do embrião



Embrião no 5º dia de desenvolvimento (blastocisto)





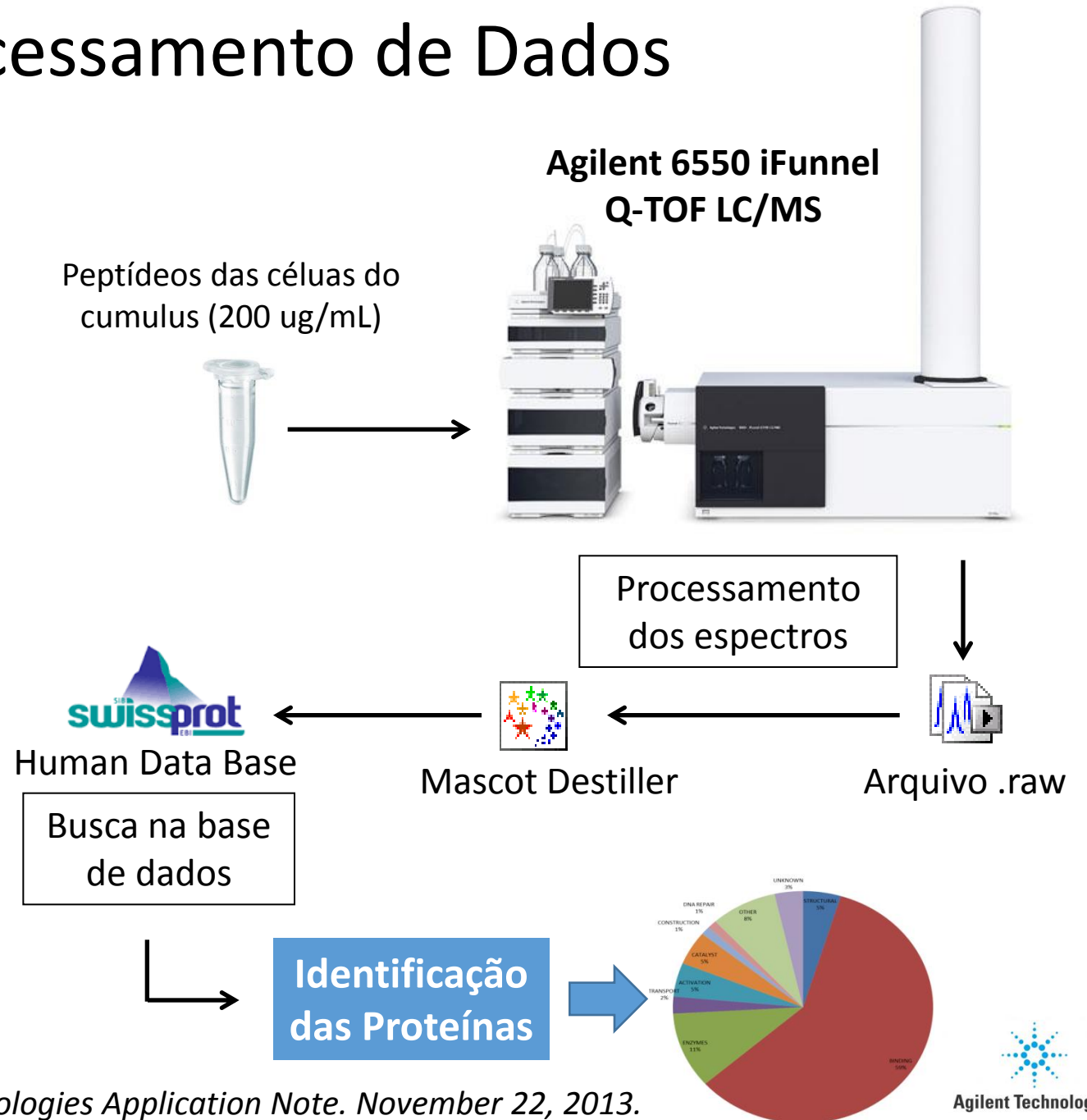
# Preparo de Amostra



A - Eletroforese em gel de poliacrilamida 10%.  
B - Proteínas no gel, após coloração por azul de comassie

# Análise via LC-MS/MS e Processamento de Dados

<b>Espectrometro de massas</b>	<b>Agilent 6550 iFunnel Q-TOF LC/MS</b>
Cromatógrafo líquido	Agilent 1290 Infinity LC System
Coluna HPLC	Agilent POROSHELL 120 EC- C18 2,1 x 100mm 2,7µM
Temperatura da coluna	60°
Fase MoveI (A)	Água com 0,1% de ácido fórmico
Fase MoveI (B)	Acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico
Gradiente	0 min 10% B 20 min 35% B 28 min 90% B 30 min 90%
Fluxo	0,5 mL/min
Volume de injeção	15 uL
Modo de Ionização	Positivo
Fonte de Ionização	Agilent Dual JetStream
Nebulizer	35 psi
Voltagem do Capilar	3.500 V
MS range (m/z)	300-1700
MSMS range (m/z)	50-1700
MS scan rate (espectro/segundo)	8
MSMD scan rate (espectro/segundo)	4
Análise de dados	Dados exportados via Agilent MassHunter Qualitative Analysis B.06 no fomato .mgf

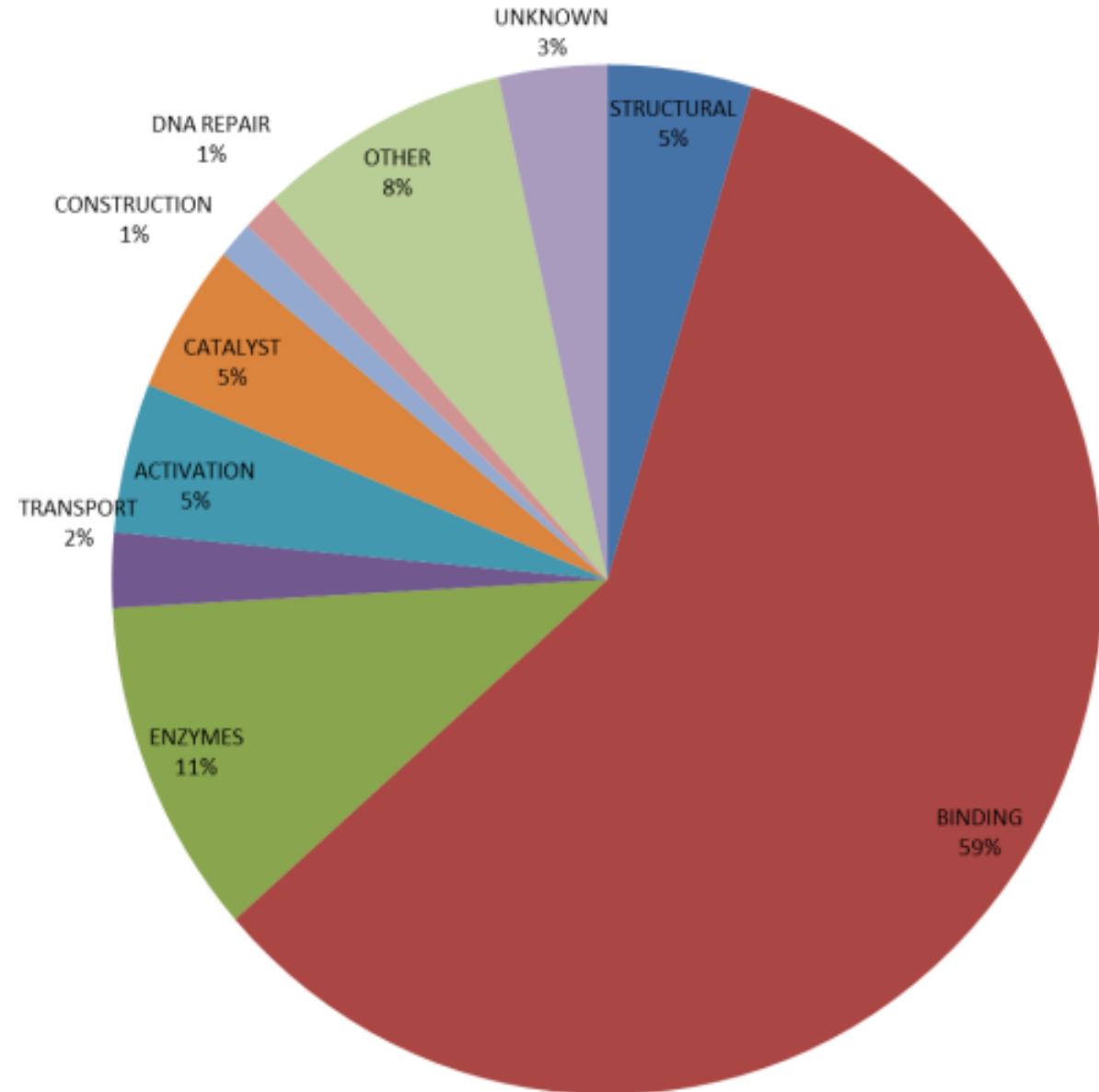


# Resultados

- Chance de formação de blastocisto:

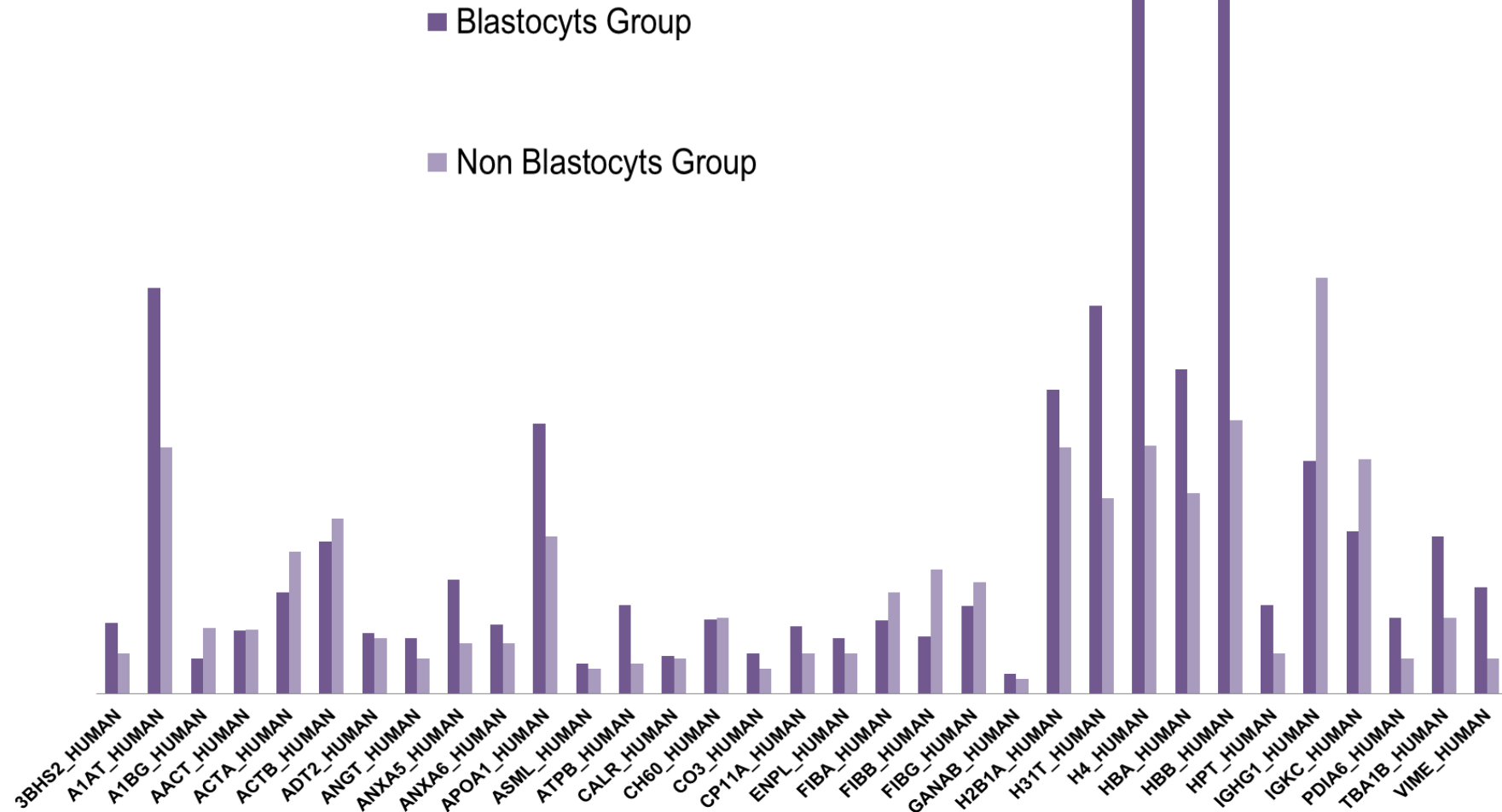
Identificadas 87 proteínas

Distribuição das proteínas identificadas em células do cumulus das pacientes que todos os embriões converteram em blastocistos e das que não obtiveram blastocisto no quinto dia, de acordo com a função.



# Resultados

- Proteínas diferencialmente expresadas entre os grupos

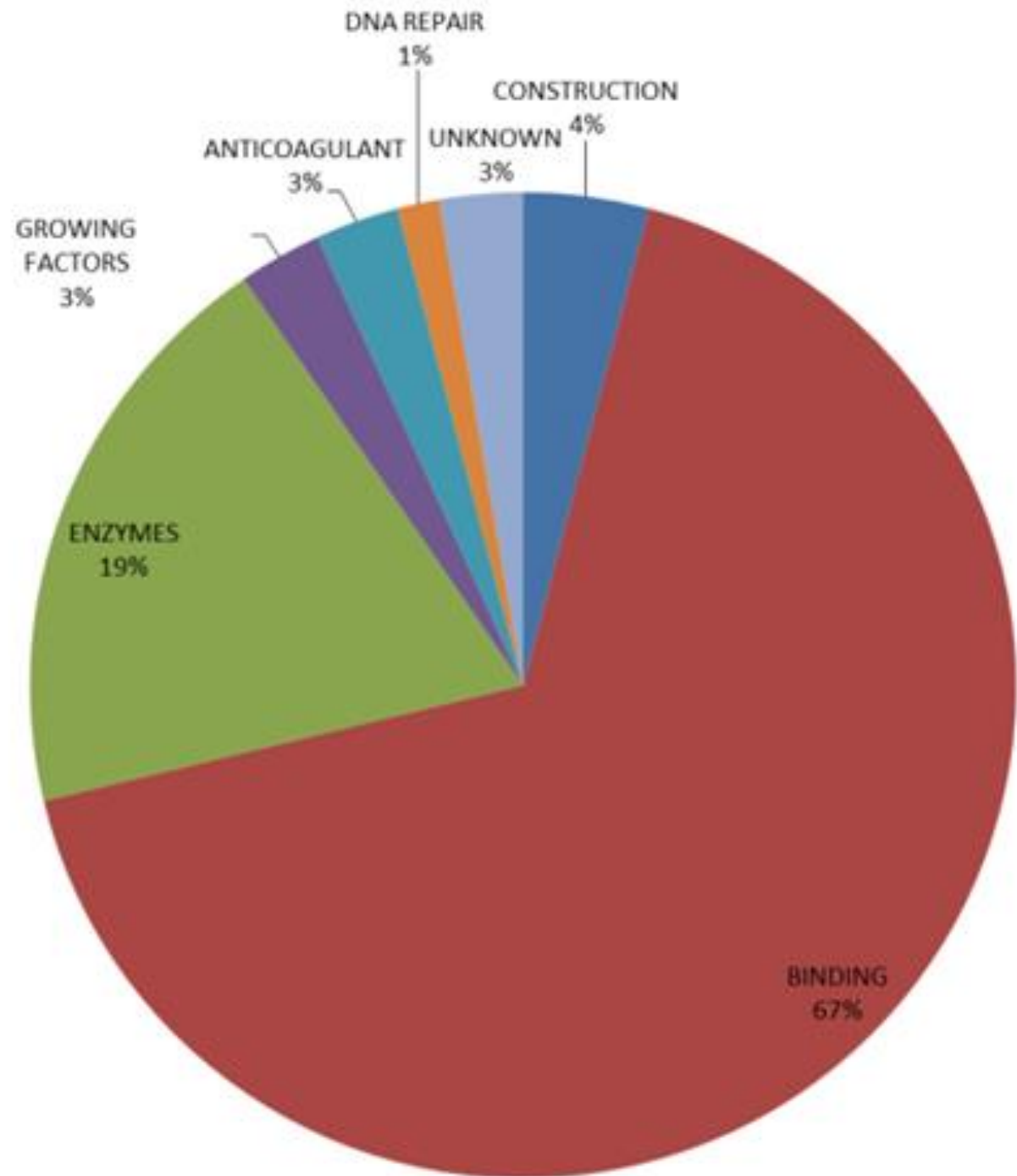


# Resultados

- Chance de formação gestação:

Identificadas 72 proteínas

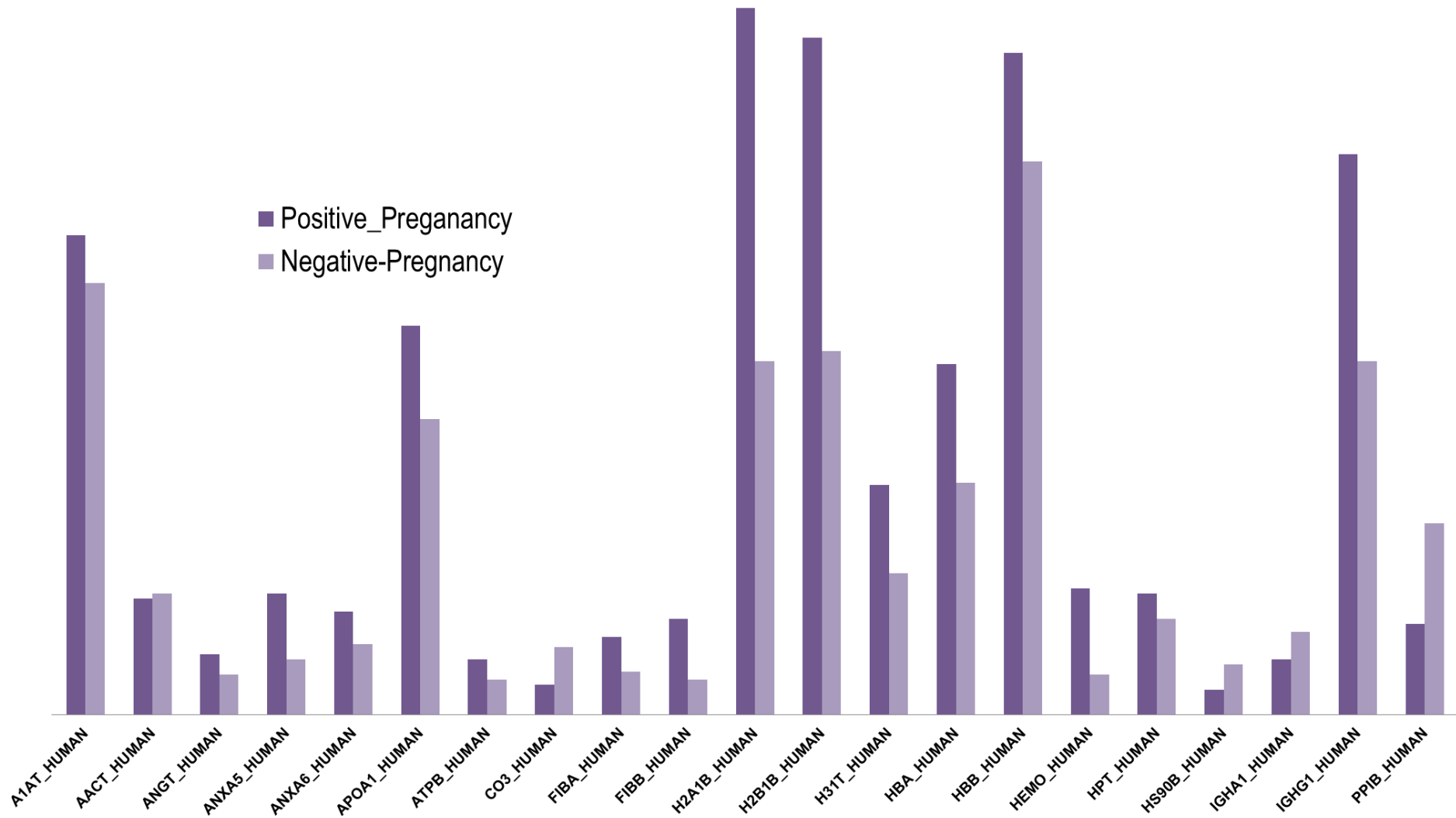
Distribuição das proteínas identificadas em células do cumulus das pacientes engravidaram e das que não engravidaram.





# Resultados

- Proteínas diferencialmente expressas entre os grupos



# Conclusões

- O presente estudo identificou diferentes potenciais marcadores proteicos da formação de blastocisto e resultado de gestação
- Em uma próxima fase, esses marcadores devem ser identificados individualmente nas amostras e a frequência determinada
- Sendo assim, a proteômica de CCs pode ser uma importante ferramenta para auxiliar na seleção de pacientes para programas cultivo estendido de embriões e para determinar o sucesso de gestação



# AGRADECIMENTOS



**Agilent Technologies**



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



**UNICAMP**