Uso de espermatozoides epididimários em ciclos de fertilização in vitro avaliados pelo sistema de cultivo timelapse: embriões mais lentos e com maiores taxas de multinucleação e padrões anormais de divisão celular

Edson Borges Jr., Daniela Paes de Almeida Ferreira Braga, Amanda Setti, Rodrigo Rosa Provenza, Assumpto Iaconelli Jr.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

OBJETIVO

MATERIAL E MÉTODO

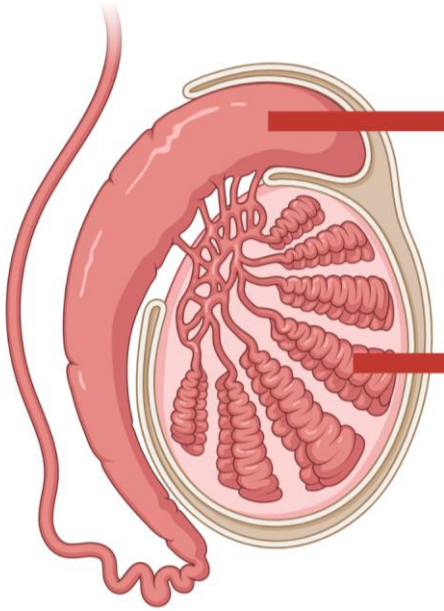
RESULTADOS

CONCLUSÃO

FERTILITY

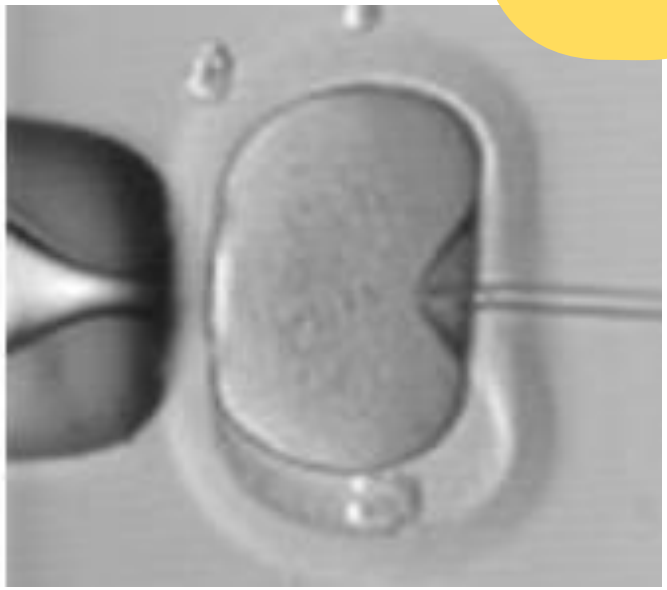
Ishikawa, 2012

Ejaculado



Epidídimo

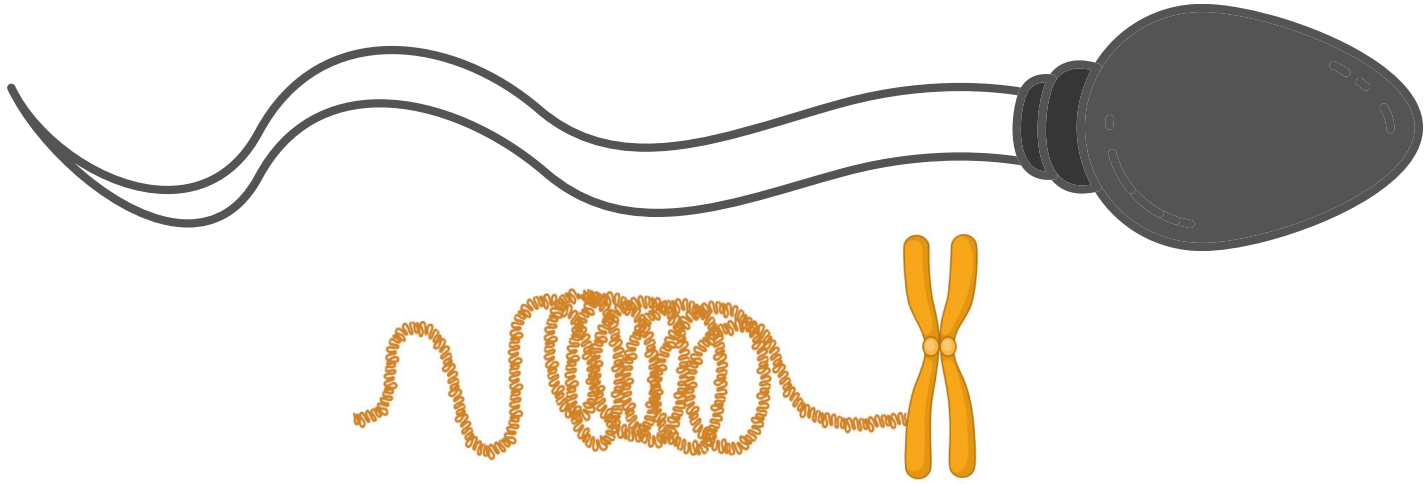
Testículo

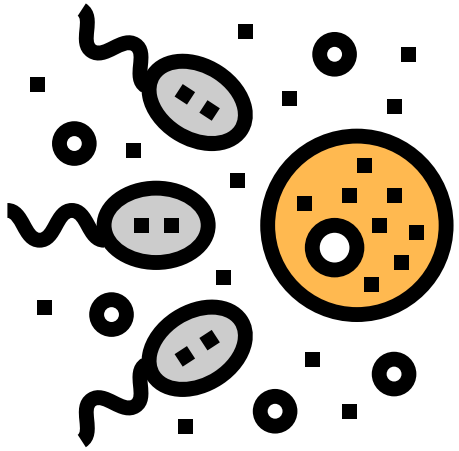


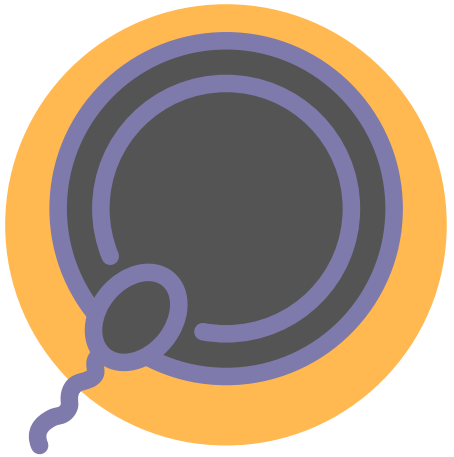
FERTILITY

Naru et al.,. 2008

Castillo, J., et al., Hum Reprod Update.2018







FERTILITY

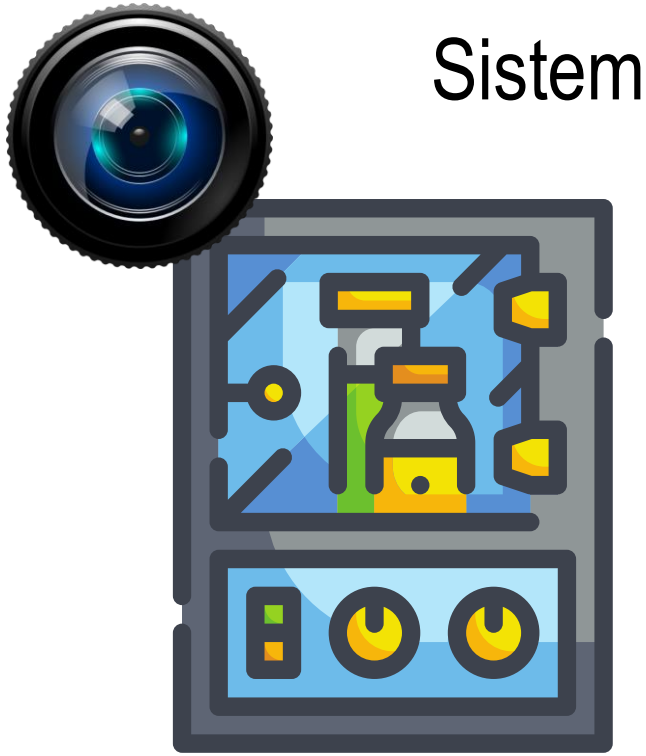
Fatores paternos influenciam a regulação epigenética da fertilização e do desenvolvimento embrionário.

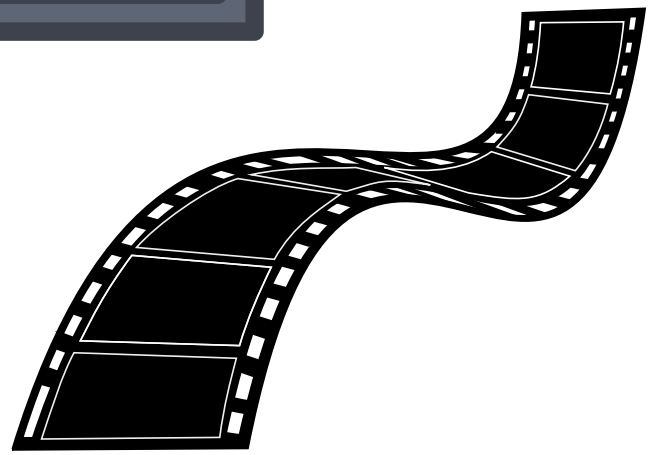
Origem do espermatozoide

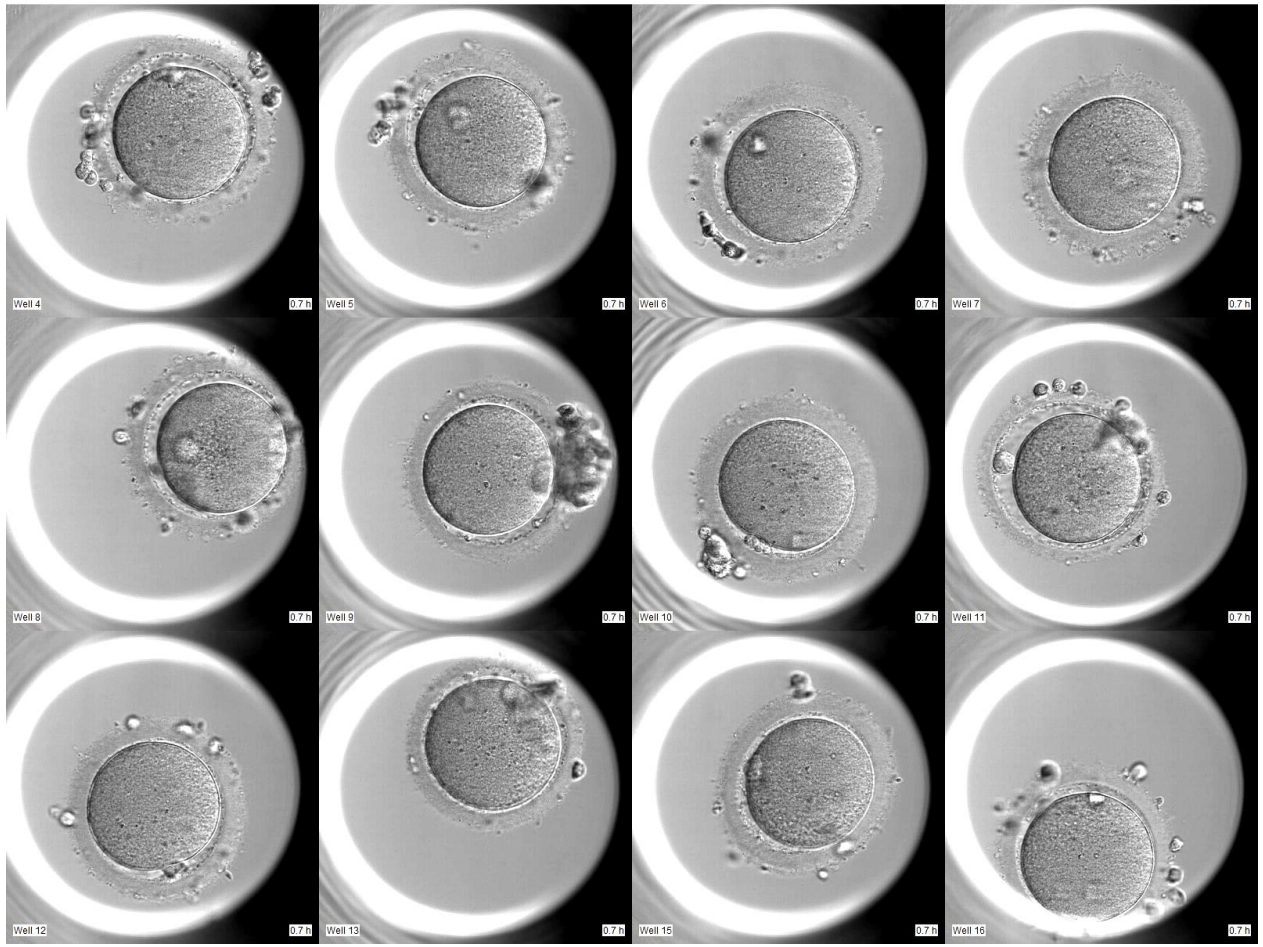
FERTILITY

Bartolacci et al. 2018, Chapuis et al. 2017, Mazzilli et al. 2017, Setti et al. 2020, Borges 2018.

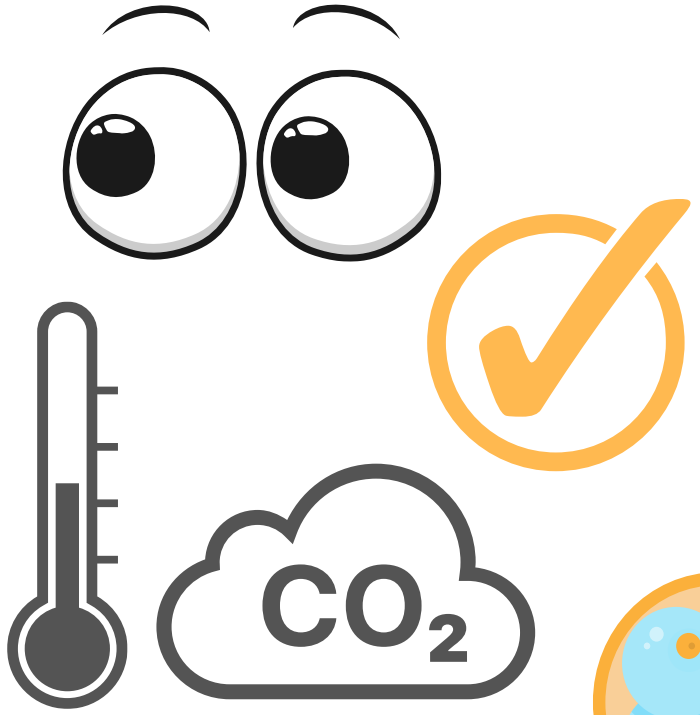
Sistema de cultivo com monitoramento por *time-lapse*



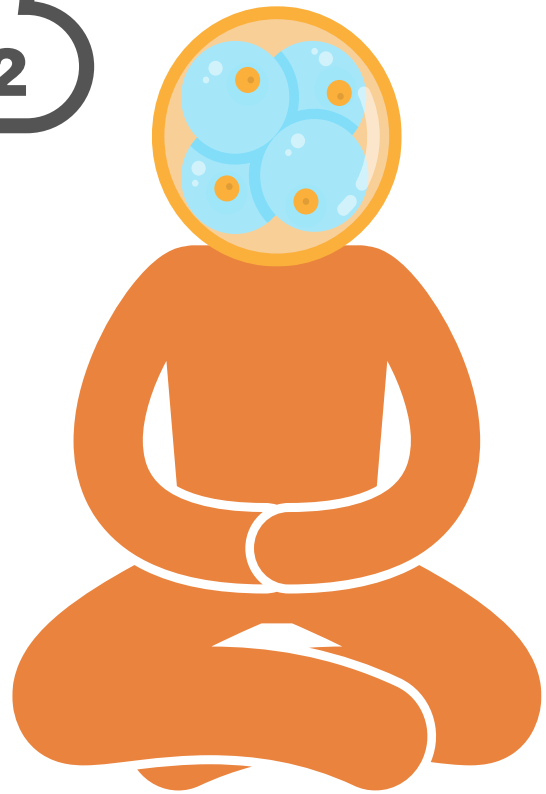




Messeger, 2012

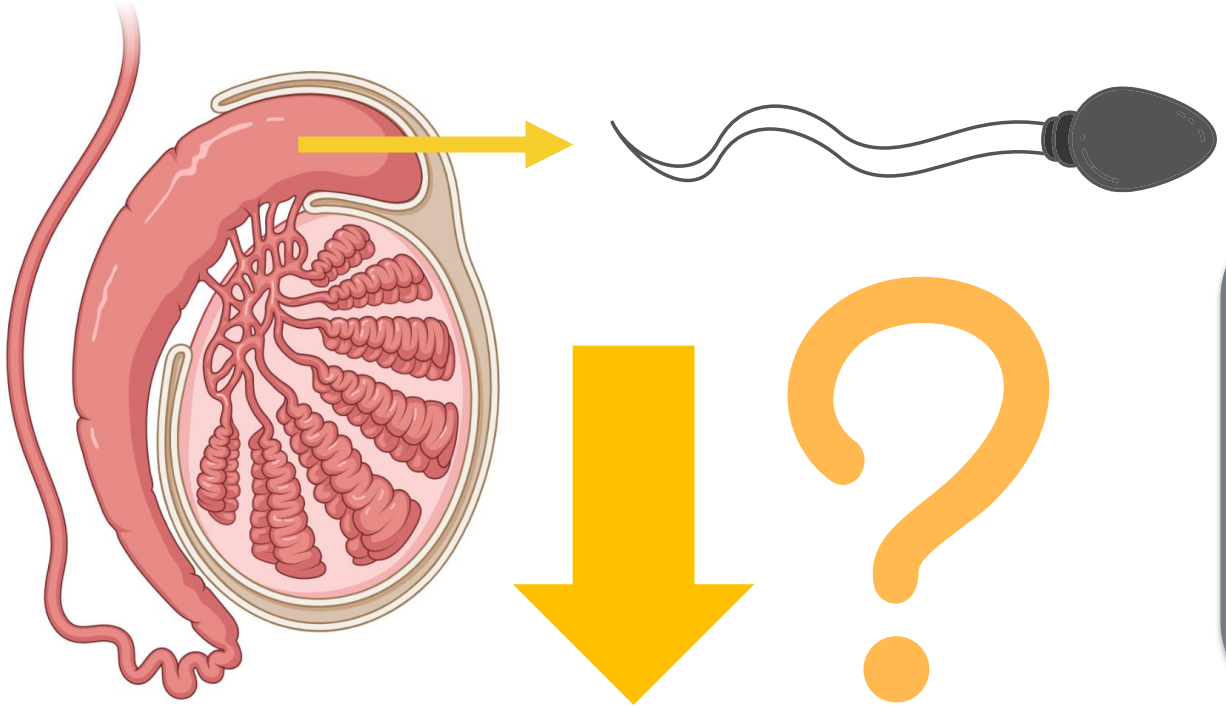


Observação não invasiva de parâmetros morfocinéticos em condições de cultivo estável, sem perturbar o embrião

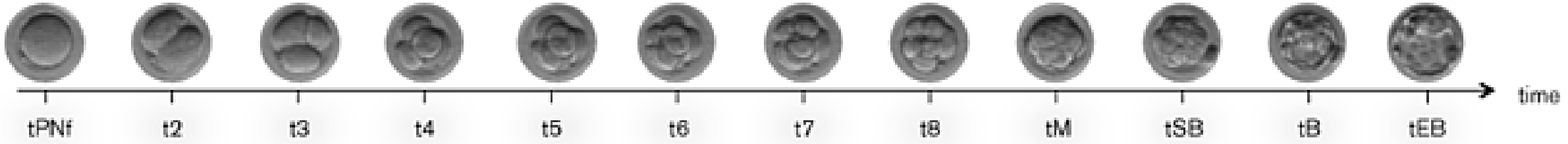


Permite o desenvolvimento de algorítmos para a seleção de embriões para transferência e predição da implantação embrionária

FERTILITY



Entretanto, o impacto do uso de espermatozoides provenientes do epidídimo na morfocinética embrionária foi pouco estudado



FERTILITY

OBJETIVO

INTRODUÇÃO ✓

OBJETIVO

MATERIAL E MÉTODO

RESULTADOS

CONCLUSÃO

O objetivo do presente estudo foi determinar se a origem do espermatozoide impacta os resultados clínicos, a morfocinética embrionária e as incidências de padrões anormais de clivagem e multinucleação.

MATERIAL E MÉTODO

INTRODUÇÃO ✓

OBJETIVO ✓

MATERIAL E MÉTODO

RESULTADOS

CONCLUSÃO

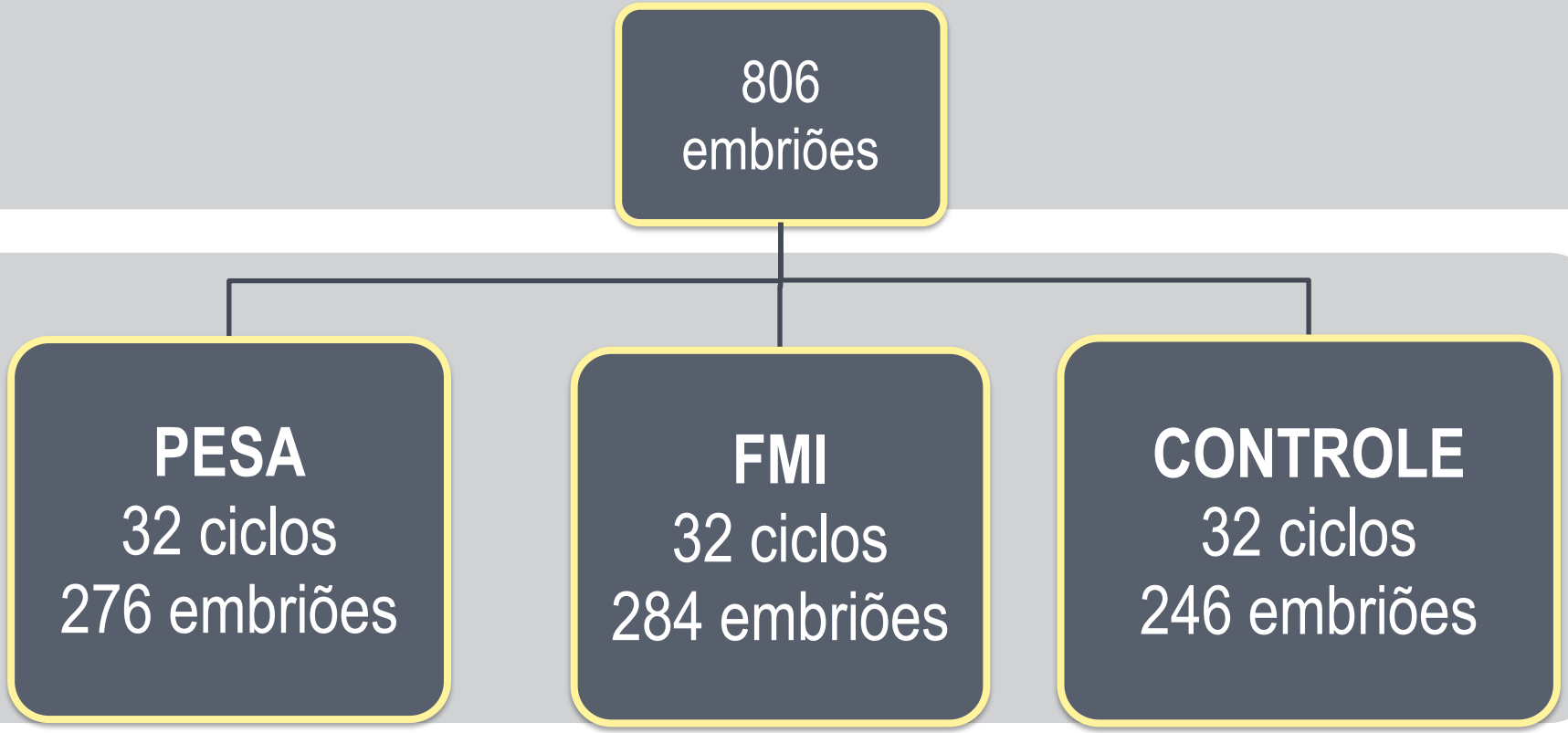
Coorte

Janeiro /2019–
Dezembro/2020

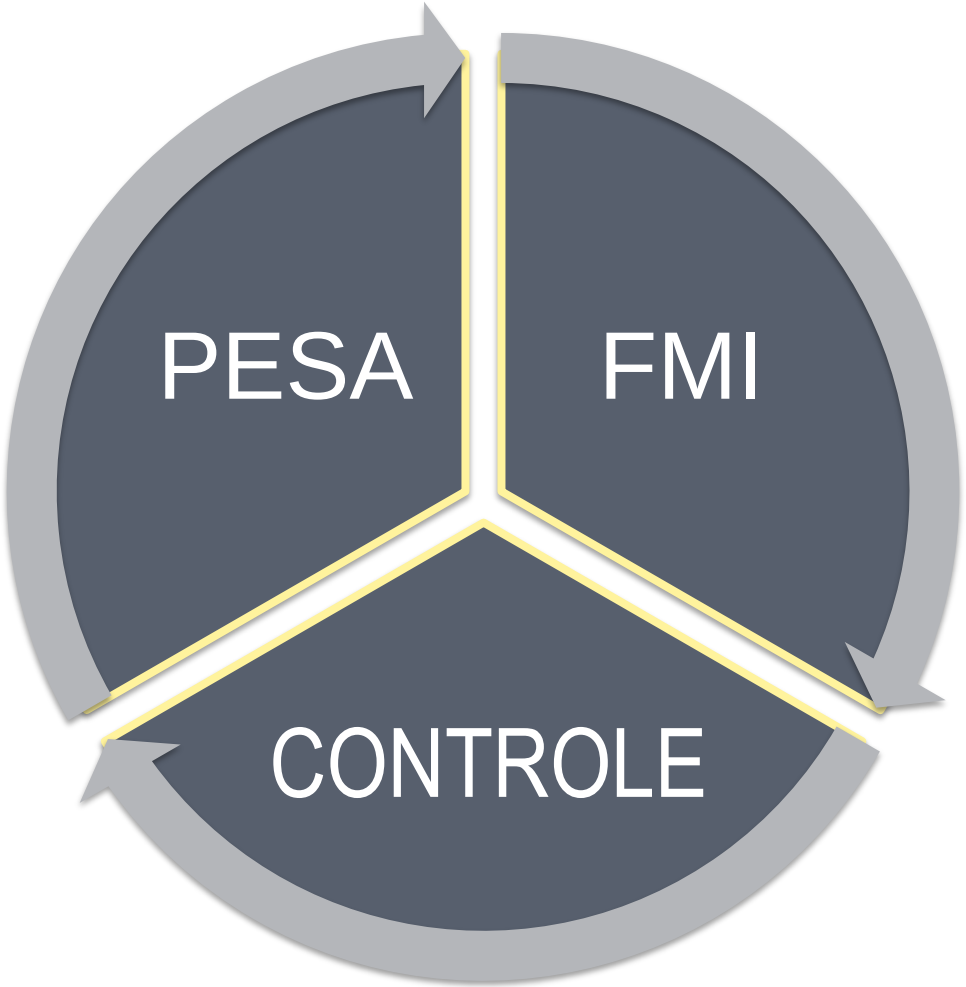
Embriões cultivados
em STL até D5

96 ciclos de ICSI

Pareamento por idades materna e paterna, número de óvulos recuperados e protocolo de EOC



FERTILITY



Tempo de variáveis morfocinéticas

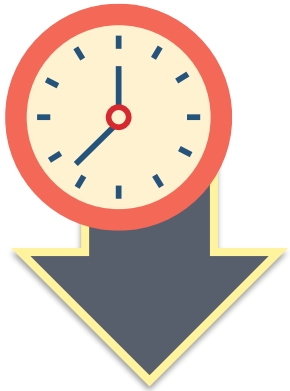
Incidência de multinucleação

Incidência de clivagens anormais

KIDScore D 5

FERTILITY

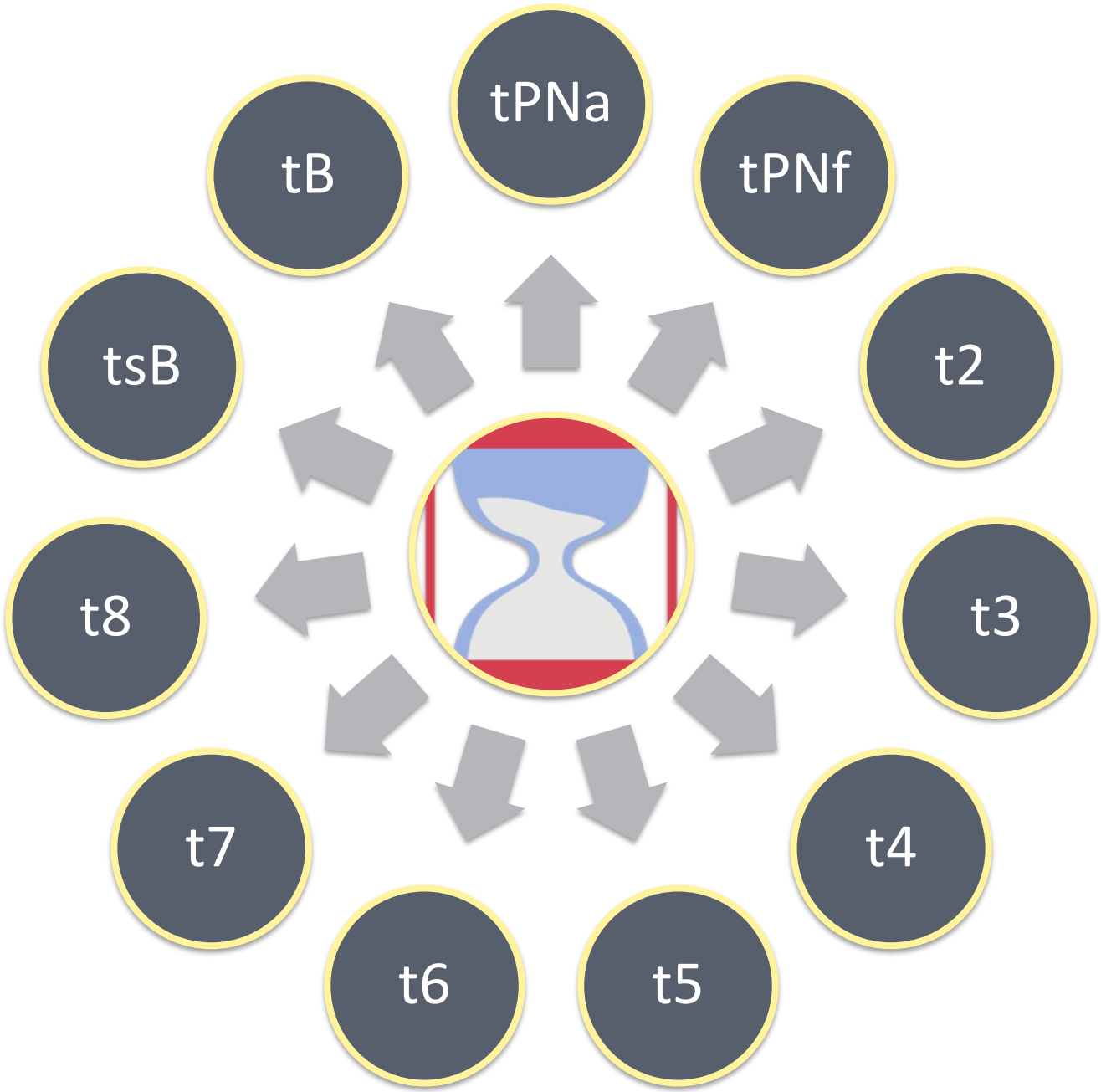
11 planos focais



A cada 10 minutos

Durações do segundo (t3-t2) e terceiro (t5-t3) ciclos celulares (cc2 e cc3)

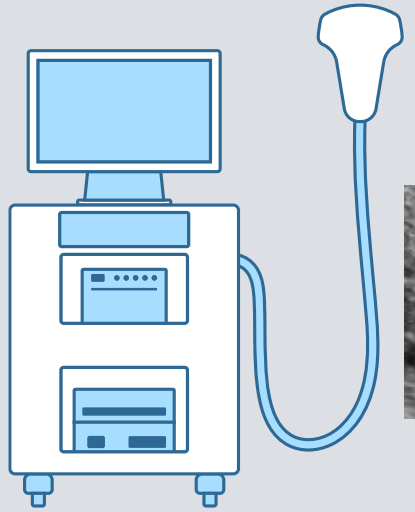
Tempo para completar as divisões síncronas s1 (t2-tPNf), s2 (t4-t3) e s3 (t8-t5)



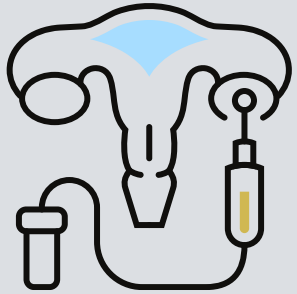
Antagonista do GnRH

FSH

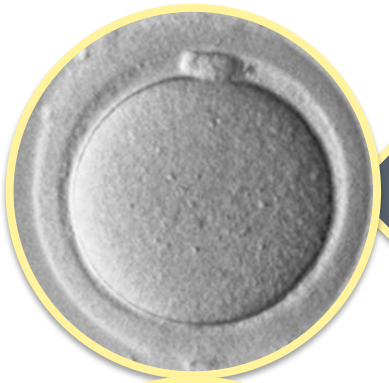
hCG recombinante



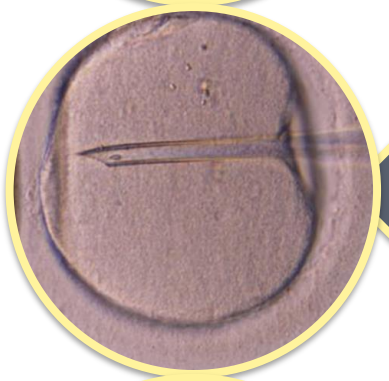
E2



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



Após a coleta, os oócitos foram incubados, denudados e avaliados quando 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 de desenvolvimento

RESULTADOS

INTRODUÇÃO ✓

OBJETIVO ✓

MATERIAL E MÉTODO ✓

RESULTADOS

CONCLUSÃO

Resultados da comparação de dados morfocinéticos iniciais de embriões dos grupos PESA, FMI e Controle

Variáveis	PESA (n= 32)	FMI (n=32)	Controle (n=32)	Valor de p
tPNa (hrs.)	6,7 ± 0,1 [a]	6,1 ± 0,1 [b]	5,9 ± 0,1 [b]	<0,001
tPNf (hrs.)	24,0 ± 0,1 [a]	23,9 ± 0,2 [a,b]	22,0 ± 0,5 [b]	<0,001
t2 (hrs.)	27,0 ± 0,2 [a]	25,1 ± 0,2 [b]	24,2 ± 0,2 [c]	<0,001
t3 (hrs.)	36,7 ± 0,3 [a]	35,5 ± 0,3 [b]	34,4 ± 0,3 [c]	<0,001
t4 (hrs.)	39,2 ± 0,3 [a]	39,3 ± 0,2 [a]	36,7 ± 0,8 [b]	<0,001
t5 (hrs.)	47,4 ± 0,5 [a]	48,1 ± 0,5 [a]	44,6 ± 0,6 [b]	<0,001
t6 (hrs.)	52,1 ± 0,3	51,7± 0,4	50,0 ± 1,1	0,180
t7 (hrs.)	54,8 ± 0,3	54,7 ± 0,5	53,2 ± 1,2	0,439
t8 (hrs.)	60,7 ± 0,7 [a]	57,0 ± 0,7 [b]	54,7 ± 0,8 [b]	<0,001

tPNa – tempo para aparecimento do PN. tPNf – tempo para desaparecimento do PN. t2, t3, t4, t5, t6, t7 e t8 – tempo para a formação de 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 células.

Resultados da comparação de dados morfocinéticos iniciais de embriões dos grupos PESA, FMI e Controle

Variáveis	PESA (n= 32)	FMI (n=32)	Controle (n=32)	Valor de p
tPNa (hrs.)	6,7 ± 0,1 [a]	6,1 ± 0,1 [b]	5,9 ± 0,1 [b]	<0,001
tPNf (hrs.)	24,0 ± 0,1 [a]	23,9 ± 0,2 [a,b]	22,0 ± 0,5 [b]	<0,001
t2 (hrs.)	27,0 ± 0,2 [a]	25,1 ± 0,2 [b]	24,2 ± 0,2 [c]	<0,001
t3 (hrs.)	36,7 ± 0,3 [a]	35,5 ± 0,3 [b]	34,4 ± 0,3 [c]	<0,001
t4 (hrs.)	39,2 ± 0,3 [a]	39,3 ± 0,2 [a]	36,7 ± 0,8 [b]	<0,001
t5 (hrs.)	47,4 ± 0,5 [a]	48,1 ± 0,5 [a]	44,6 ± 0,6 [b]	<0,001
t6 (hrs.)	52,1 ± 0,3	51,7± 0,4	50,0 ± 1,1	0,180
t7 (hrs.)	54,8 ± 0,3	54,7 ± 0,5	53,2 ± 1,2	0,439
t8 (hrs.)	60,7 ± 0,7 [a]	57,0 ± 0,7 [b]	54,7 ± 0,8 [b]	<0,001

tPNa – tempo para aparecimento do PN. tPNf – tempo para desaparecimento do PN. t2, t3, t4, t5, t6, t7 e t8 – tempo para a formação de 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 células.

Resultados da comparação de dados morfocinéticos tardios de embriões dos grupos PESA, FMI e Controle

Variáveis	PESA (n= 32)	FMI (n=32)	Controle (n=32)	Valor de p
tM (hrs.)	95,0 ± 0,9 [a]	86,7 ± 0,9 [b]	83,3 ± 1,1 [c]	<0,001
tsB (hrs.)	99,5 ± 1,5	98,3 ± 0,8	97,8 ± 2,2	0,739
tB (hrs.)	109,3 ± 0,7	108,3 ± 0,5	106,3 ± 1,6	0,222

tM – tempo para morulação. tsB – tempo para início da blastulação. tB – tempo para blastulação completa.

FERTILITY

Resultados da comparação de dados morfocinéticos tardios de embriões dos grupos PESA, FMI e Controle

Variáveis	PESA (n= 32)	FMI (n=32)	Controle (n=32)	Valor de p
tM (hrs.)	95,0 ± 0,9 [a]	86,7 ± 0,9 [b]	83,3 ± 1,1 [c]	<0,001
tsB (hrs.)	99,5 ± 1,5	98,3 ± 0,8	97,8 ± 2,2	0,739
tB (hrs.)	109,3 ± 0,7	108,3 ± 0,5	106,3 ± 1,6	0,222

tM – tempo para morulação. tsB – tempo para início da blastulação. tB – tempo para blastulação completa.

FERTILITY

Resultados da comparação dos tempos para se completar os ciclos celulares e as divisões síncronas em embriões dos grupos PESA, FMI e Controle

Variávies	PESA (n= 32)	FMI (n=32)	Controle (n=32)	Valor de p
cc2 (hrs.)	10,5 ± 0,2	10,6 ± 0.1	10,4 ± 0,5	0,634
cc3 (hrs.)	11,9 ± 0.4 [a]	11,3 ± 0,4 [a,b]	10,3 ± 0,4 [b]	0,013
s1 (hrs.)	2,9 ± 0,2 [a]	2,7 ± 0.0 [b]	2.6 ± 0.0 [b]	0,343
s2 (hrs.)	2,4 ± 0,21	2,0 ± 0,14	1,2 ± 0,52	0,05
s3 (hrs.)	3,0 ± 0,1 [a]	2,7 ± 0,1 [b]	2,4 ± 0,1 [b]	<0,001

cc2 – duração do segundo ciclo celular (t3-t2). cc3 – duração do terceiro ciclo celular (t3-t2). s1 – tempo para completer as divisões sincrônicas t2-tPNf. s2 – tempo para completer as divisões sincrônicas t4-t3. s3 - – tempo para completer as divisões sincrônicas t8-t5.

FERTILITY

Resultados da comparação dos tempos para se completar os ciclos celulares e as divisões síncronas em embriões dos grupos PESA, FMI e Controle

Variávies	PESA (n= 32)	FMI (n=32)	Controle (n=32)	Valor de p
cc2 (hrs.)	10,5 ± 0,2	10,6 ± 0.1	10,4 ± 0,5	0,634
cc3 (hrs.)	11,9 ± 0.4 [a]	11,3 ± 0,4 [a,b]	10,3 ± 0,4 [b]	0,013
s1 (hrs.)	2,9 ± 0,2 [a]	2,7 ± 0.0 [b]	2.6 ± 0.0 [b]	0,343
s2 (hrs.)	2,4 ± 0,21	2,0 ± 0,14	1,2 ± 0,52	0,05
s3 (hrs.)	3,0 ± 0,1 [a]	2,7 ± 0,1 [b]	2,4 ± 0,1 [b]	<0,001

cc2 – duração do segundo ciclo celular (t3-t2). cc3 – duração do terceiro ciclo celular (t3-t2). s1 – tempo para completer as divisões sincrônicas t2-tPNf. s2 – tempo para completer as divisões sincrônicas t4-t3. s3 - – tempo para completer as divisões sincrônicas t8-t5.

FERTILITY

Resultados da comparação das incidências de multinucleação e clivagem anormal, resultado do KIDScore D-5 em embriões dos grupos PESA, FMI e Controle

Variávies	PESA (n= 32)	FMI (n=32)	Controle (n=32)	Valor de p
Multinucleação (%)	23,2 [a]	2,8 [b]	3,7 [b]	<0,001
Clivagem anormal (%)	11,1 [a]	11,3 [a]	4,3 [b]	0,001
KIDScore D-5	3,1 [a]	5,4 [b]	5,6 [b]	<0,001

KIDScore D-5 - nota atribuida a partir de dados de implantação conhecida para embriões transferidos no quinto dia.

FERTILITY

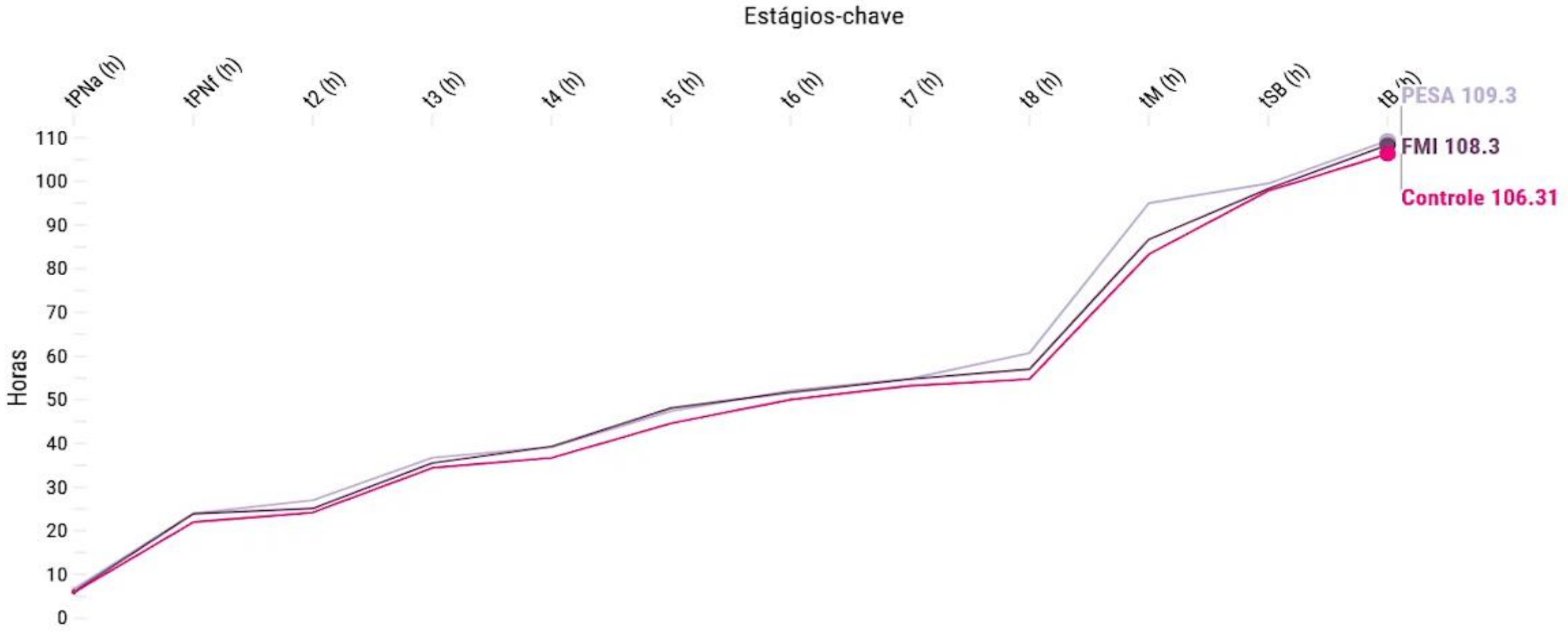
Resultados da comparação das incidências de multinucleação e clivagem anormal, resultado do KIDScore D-5 em embriões dos grupos PESA, FMI e Controle

Variávies	PESA (n= 32)	FMI (n=32)	Controle (n=32)	Valor de p
Multinucleação (%)	23,2 [a]	2,8 [b]	3,7 [b]	<0,001
Clivagem anormal (%)	11,1 [a]	11,3 [a]	4,3 [b]	0,001
KIDScore D-5	3,1 [a]	5,4 [b]	5,6 [b]	<0,001

KIDScore D-5 - nota atribuida a partir de dados de implantação conhecida para embriões transferidos no quinto dia.

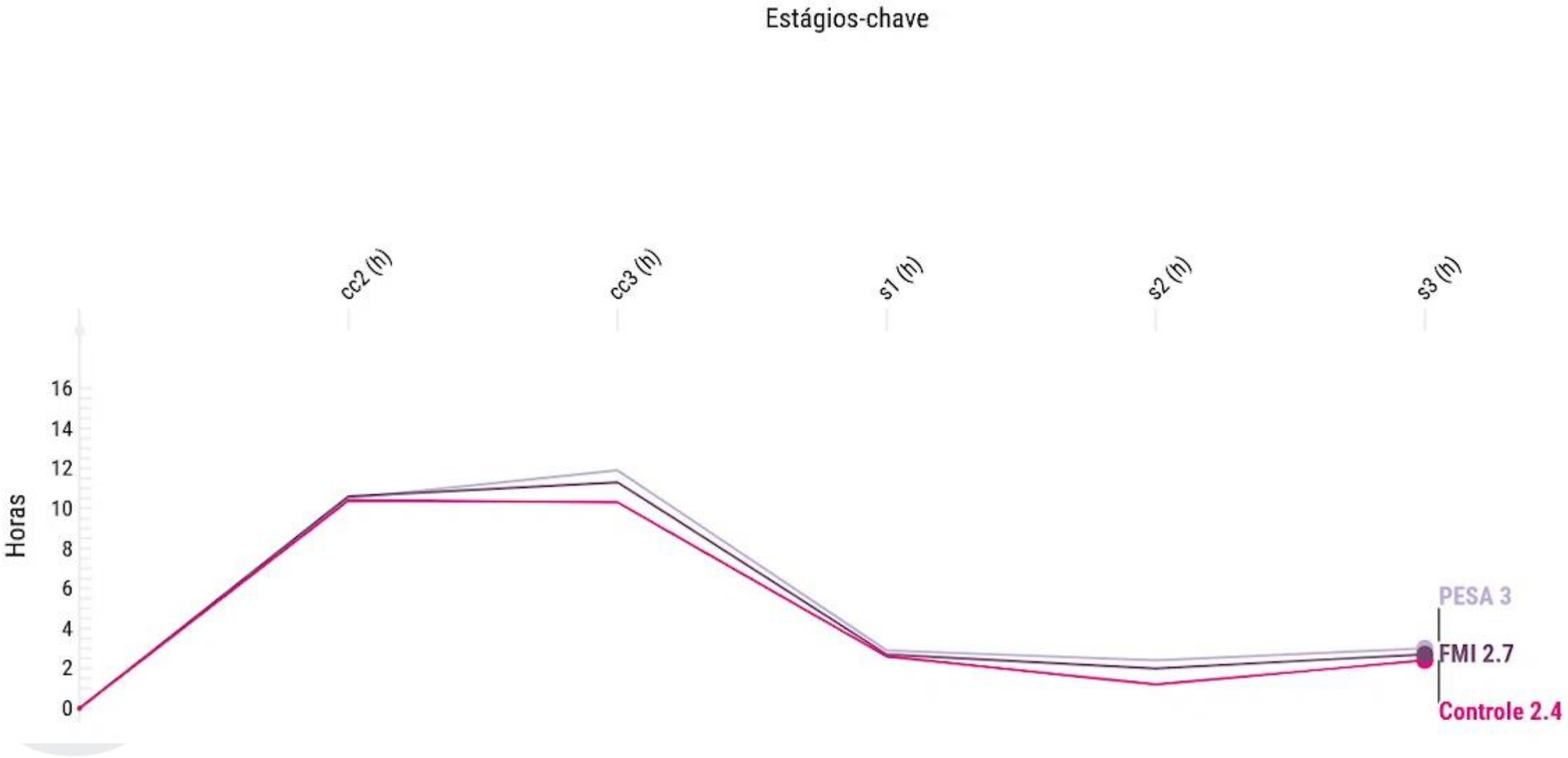
FERTILITY

Comportamento dos embriões dos grupos PESA, FMI e Controle em relação a eventos morfocinéticos iniciais e tardios



FERTILITY

Comportamento dos embriões dos grupos PESA, FMI e Controle em relação a ciclos celulares e divisões sincrônicas



CONCLUSÃO

INTRODUÇÃO ✓

OBJETIVO ✓

MATERIAL E MÉTODO ✓

RESULTADOS ✓

CONCLUSÃO

- ✓ O uso de espermatozoides provenientes dos epidídimos está correlacionado com clivagens celulares mais lentas, as quais parecem se corrigir até o momento da formação do blastocisto.

- ✓ Entretanto, os embriões apresentam maiores taxas de multinucleação e padrões anormais de clivagem, quando comparados àqueles derivados de amostras seminais de parceiros sem fator masculino de infertilidade.

FERTILITY

EQUIPE

Direção
Assumpto Iaconelli Jr.
Edson Borges Jr.

Laboratório de FIV
Kelly C. Pinheiro
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

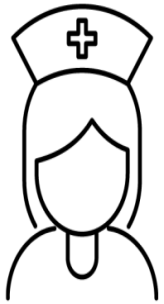
Corpo Clínico
Barbara Brigati
Carla Iaconelli
Edward Carrilho
Fernanda Montenegro
Graziela C. C.Carvalho
Mauro Bibancos
Natalia G.Tannous
Paula Ferreiro Vieira
Mario Firmino

Pisicologia
Rose M. Melamed

Anestesiologia
Marcelo Torres

Nutrição
Gabriela Halpern

EQUIPE

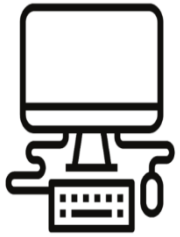


Enfermagem
Larissa Rodrigues Gonçalves
Maria Regina S. da Silva
Rosieli Patricia A. da Silva
Vera Lucia Alves
Ariele Raiane B. Araujo
Gabriela Lima Almeida
Stefany N. Coelho

Farmácia
Maria das N. Fernandes

Administration
Margaret Meira
Fabiana Garcia

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



Informática
Marcelo Alexandre Baptista