

# ESTUDO COMPARATIVO DAS TAXAS DE DESENVOLVIMENTO E QUALIDADE DE BLASTOCISTOS CULTIVADOS EM INCUBADORAS VERTICAIS DE BAIXA TENSÃO DE OXIGÊNIO E TENSÃO ATMOSFÉRICA.

VI Congresso Cearense de Ginecologia e Obstetrícia, 1ª edição, de 22/07/2021 a 24/07/2021  
ISBN dos Anais: 978-65-89908-46-3

**MATOS; Darlete Lima <sup>1</sup>, DIÓGENES; Daniel Diógenes<sup>2</sup>, SERIO; Lilian Maria Serio<sup>3</sup>, CAVALCANTI; Karla Rejane <sup>4</sup>, MARTINS; Fabrício Sousa <sup>5</sup>**

## RESUMO

As condições de cultivo embrionário durante os procedimentos de reprodução assistida são de grande importância para garantir a viabilidade embrionária e o sucesso da fertilização in vitro. Condições laboratoriais subótimas estão relacionadas à baixa qualidade e desenvolvimento embrionário (Swain et. al, 2016). Fatores como pH, temperatura, osmolaridade (Swain, 2014), composição do meio de cultura, número de embriões cultivados por volume de meio e a atmosfera gasosa dentre inúmeros outros, tem reflexo direto nesse desenvolvimento in vitro (Gardner e Kelley, 2017). Nos últimos anos, muitos estudos tem procurado entender melhor o efeito negativo da concentração do oxigênio atmosférico (20%) na cultura do embrião, sendo demonstrado que a essa concentração em que os embriões são rotineiramente cultivados comprometeria inúmeros parâmetros, dentre eles a taxa de blastulação (Gardner e Kelley, 2017). O oxigênio atmosférico impõe efeitos negativos significativos à fisiologia molecular e celular do embrião e aumenta ainda mais a sua sensibilidade, o deixando mais vulnerável a outros agentes estressantes do laboratório (Gardner, 2015). A atmosfera gasosa onde gametas e embriões são expostos durante a manipulação in vitro difere muito das condições in vivo que é tipicamente 2-8% no oviduto e útero, em diferentes espécies (Fischer e Bavister, 1993), ou seja, muito menor comparada à tensão de O<sub>2</sub> comumente utilizada nos laboratórios que é de 20% (Ottosen et al., 2006; Meintjes et al., 2009). Essa alta concentração levaria a produção das espécies reativas de oxigênio (EROS) gerando o estresse oxidativo (Goto et al., 1993; Wang et al., 2002). O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a formação e remoção de agentes oxidantes no organismo, decorrentes da geração de oxigênio (EROS) (Andrade et al., 2010), ou seja, a produção de EROS é superior à eficiência dos mecanismos endógenos protetores (Wang et al., 2002). As EROS podem se originar dentro dos gametas e embriões ou do ambiente onde estão localizados e a manipulação in vitro é uma situação que favorece a sua geração, por apresentar diversas variáveis, como luz alta e concentrações de oxigênio (Guerin, 2001). Entre os efeitos nocivos das EROS aos embriões, está o desenvolvimento embrionário interrompido ou retardado, redução da viabilidade embrionária (Wang et al., 2002; Troung et al., 2016) fragmentação embrionária e apoptose (Kovacic; Vlaisavljevic, 2008; Yhang et al, 1998.) Alguns desses danos são consequências da peroxidação dos fosfolípidios da membrana e à alteração de grande parte dos tipos de moléculas celulares. Estudos em animais têm demonstrado que a cultura de embriões em baixas concentrações de O<sub>2</sub> melhora o desenvolvimento embrionário in vitro e os resultados de gravidez quando comparado com culturas semelhantes nas concentrações atmosféricas de O<sub>2</sub> (Karja et al., 2004; Leoni et al., 2007). Em revisão, Wale e Gardner (2016) sugeriram que a cultura de embriões em baixas concentrações de oxigênio melhoram as taxas de sucesso de fertilização in vitro, levando ao aumento de nascidos vivos, sendo isso demonstrado em várias espécies (Karja et al., 2004; Yuan et al., 2003; Thompson et al., 1990; Kovacic; Vlaisavljevic, 2008; Kovacic, 2010). Kovacic e Vlaisavljevic (2008) e Ciray et al. (2009) verificaram melhora na taxa de blastulação, mostrando que a baixa concentração de oxigênio durante o período de cultura melhorou o rendimento total de blastocistos e a qualidade do embrião no dia 5. Dumoulin et al. (1999) não verificaram efeito adverso na fertilização ou estágios iniciais do desenvolvimento, mas observaram influência positiva na formação de um número maior de blastocistos. Meintjes et al. (2009) relataram um aumento de 30,7 a 42,9% para taxa de implantação e 42,6 a 57,4% para nascidos vivos, taxa em 20 e 5% de oxigênio, respectivamente. Resultado semelhante também foi visto por Catt e Henman, 2000 que ainda mencionaram melhoras na taxa de gravidez e parto. Da mesma forma, Waldenstroem et al. (2009) relataram um aumento de 10% na taxa de nascidos vivos. Minimizar o estresse ambiental induzido na fertilização in vitro laboratório é crucial na criação de um sistema de cultura otimizado para o desenvolvimento embrionário e para alcançar melhores resultados reprodutivo. O tipo de incubadora utilizado nesses procedimentos pode ter uma profunda relação sobre a recuperação de temperatura e concentração gasosa, com efeitos na qualidade do blastocisto humano (Fujiwara et al., 2007, Swain, 2014). Os danos causados pelos radicais livres ao desenvolvimento embrionário in vitro pode ser pela redução dos níveis

<sup>1</sup> Fertilbaby Ceará, dadamatos@hotmail.com

<sup>2</sup> Fertilbaby Ceará, dadamatos@hotmail.com

<sup>3</sup> Fertilbaby Ceará, dadamatos@hotmail.com

<sup>4</sup> Fertilbaby Ceará, karlaleca@hotmail.com

<sup>5</sup> Fertilbaby Ceará, martinsf.fabriciosousa@gmail.com

de O<sub>2</sub> da incubadora (Meintjes, et al 2009), entrando em cena as incubadoras trigas que vem ganhando destaque por melhorar as taxas reprodutivas por meio da redução da tensão de O<sub>2</sub> e consequente estresse oxidativo. Com os avanços tecnológicos, uma variedade de incubadoras são utilizados para regular o ambiente interno e cada uma tem benefícios e desvantagens isso deve ser considerado ao selecionar uma unidade (Swain, 2014). O objetivo desse trabalho foi avaliar, retrospectivamente, se houve diferença na taxa de desenvolvimento de blastocistos e na proporção de blastocistos de alta qualidade em incubadoras verticais de baixa tensão de O<sub>2</sub> (5%) e O<sub>2</sub> atm. Casos de 120 pacientes foram analisados. Após o procedimento de injeção intracitoplasmática do espermatozoide no óvulo, as amostras retornavam para cultivo em incubadora com tensão de oxigênio ambiental. Com cerca de 72 h de cultivo as amostras passavam por troca de meio de cultura e eram divididas para cultivo prolongado (até 120h) em incubadoras verticais com diferentes tensões de oxigênio. Metade das amostras seguiu em cultivo usando uma fase gasosa contendo oxigênio atmosférico (20%) e a outra metade em cultivo contendo oxigênio reduzido (5%). No dia 5 de desenvolvimento foi verificado quantos embriões de cada incubadora chegaram ao estágio de desenvolvimento de blastocisto e qual a proporção de blastocistos de boa qualidade. Nesse estudo não foi detectada diferença significativa da taxa de desenvolvimento de blastocisto e nem da proporção de blastocistos de boa qualidade entre as incubadoras verticais com diferentes tensões de oxigênio. A não diferença nas taxas pesquisadas entre as incubadoras verticais de tensões diferentes de oxigênio pode estar relacionado a incapacidade dessas incubadoras maiores recuperarem rapidamente a estabilidade durante o uso, mostrando insatisfatória para a finalidade a qual se propõe, dessa forma, faz-se necessário considerar fatores tanto técnicos quanto práticos ao selecionar uma incubadora, já que a decisão de usar concentração baixa de O<sub>2</sub> em cultivos embrionários implica mudanças necessárias nas práticas de laboratório com importantes repercussões econômicas e nos casos dos sistemas de baixa tensão os equipamentos verticais não se mostraram satisfatório em nosso estudo não trazendo benefício ou melhoras significativas de taxas que justificassem os impactos econômicos. atmosférico (20%).

**PALAVRAS-CHAVE:** tensão de oxigênio, incubadora trigas, cultivo embrionário