

Você conhece as publicações mais recentes sobre transferência de embriões em mosaico?

A presença de mosaicismo tanto em tratamentos de fertilização in vitro quanto em gestações naturais é pouco frequente, com **prevalência que varia entre 0,2-0,4% das gestações**.

As atuais plataformas de sequenciamento de nova geração (NGS) utilizadas em programas de PGT-A são altamente sensíveis e, quando utilizadas para analisar biópsias de trofotoderma (TE) embrionária, são capazes de identificar a presença de mosaicismo (mistura de células euploides e aneuploides).

No entanto, a incidência de mosaicismo relatada pelos diferentes laboratórios é altamente variável, oscilando entre 2% e 40%, o que afeta o número de embriões euploides considerados viáveis para transferência.

Essa variabilidade entre laboratórios é causada por:

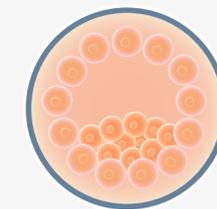
- **Variabilidade biológica das biópsias TE**, como o número e a qualidade das células biopsiadas.
- **Variabilidade técnica da análise NGS**, onde uma alta dispersão ou ruído não pode ser distinguido do verdadeiro mosaicismo.
- **Variabilidade dos critérios analíticos** para a classificação do mosaicismo.

Por esta razão, é importante antes de implementar um protocolo NGS em um laboratório de diagnóstico clínico, realizar uma **VALIDAÇÃO ANALÍTICA INTERNA** para identificar corretamente as biópsias com resultados sugestivos de mosaicismo.

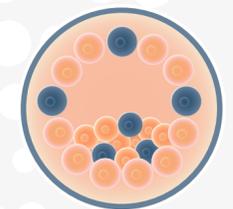
Para validar um protocolo NGS semiautomatizado para PGT-A, precisamos:

- **Definir a resolução da plataforma NGS** que permite detectar deleções/duplicações parciais e estabelecer os limiares para identificar a presença de mosaicismo.
- **Criar um pipeline automático de bioinformática e algoritmo de diagnóstico**, para evitar a subjetividade ligada à visualização de dados genômicos.

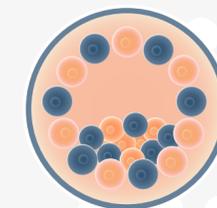
Com base em nossa validação analítica do PGT-A, estabelecemos os seguintes limites para identificar a presença de mosaicismo:



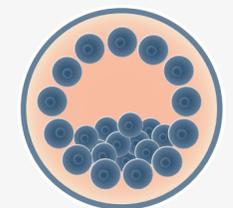
Embrião Euploide
<30% aneuploidia



Mosaico de baixo grau
30-50% aneuploidia



Mosaico de alto grau
50-70% aneuploidia



Embrião Aneuploide
>70% aneuploidia



Article

Optimized NGS Approach for Detection of Aneuploidies and Mosaicism in PGT-A and Imbalances in PGT-SR

Carmen M. García-Pascual^{1,2,*†}, Luis Navarro-Sánchez^{1,†}, Roser Navarro¹, Lucía Martínez¹, Jorge Jiménez¹, Lorena Rodrigo¹, Carlos Simón^{1,3,4,5} and Carmen Rubio^{1,2}



Você conhece as publicações mais recentes sobre transferência de embriões em mosaico?

O mosaicismo cromossômico embrionário tem sido um dos tópicos mais quentes na comunidade ART nos últimos anos.

Com o uso das plataformas NGS no PGT-A, laboratórios e clínicas passaram a relatar a presença de mosaicismo. Na ausência de estudos que demonstrassem o valor preditivo positivo ou negativo do prognóstico reprodutivo de embriões transferidos com esse diagnóstico, os embriões mosaicos foram descartados até o momento ou transferidos como última opção.

Nossa incidência média de mosaicismo é (ver gráfico 1).

Esses dados sugerem que apenas cerca de 4% de todos os embriões serão diagnosticados como portadores de mosaicismo de baixo grau (<50%) e precisarão de aconselhamento genético adicional se forem considerados para transferência.

Alguns estudos recentes sugerem que embriões com mosaicismo de baixo grau (<50%) têm maior potencial reprodutivo do que embriões aneuploides, mas menores taxas de implantação e maior risco de aborto do que embriões euploides.

(Viotti et al., 2021)

O estudo não seletivo de Capalbo et al., 2021 mostra que embriões com mosaicismo de baixo grau (<50%) têm um potencial reprodutivo equivalente ao de embriões euploides. Assim, e de acordo com as novas recomendações da ESHRE e PGDIS, os embriões com mosaicismo de baixo grau devem ser considerados para transferência da mesma forma que os embriões euploides, priorizando de acordo com a sua morfologia.

(Capalbo et al., 2021; PGDIS Position Statement on the Transfer of Mosaic Embryos 2021; ESHRE Good practice recommendations on Chromosomal Mosaicism 2021)

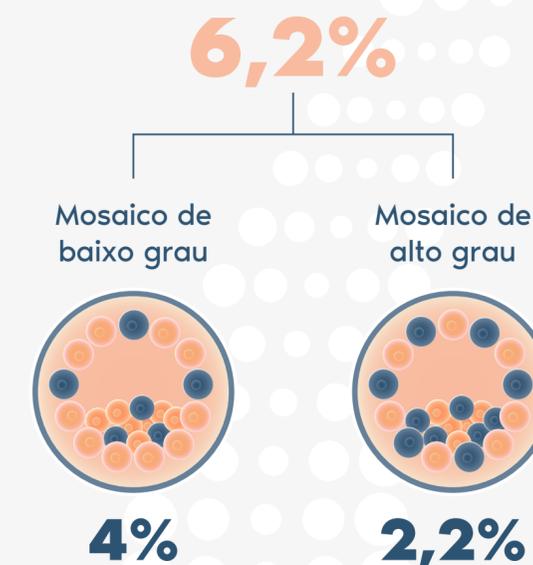
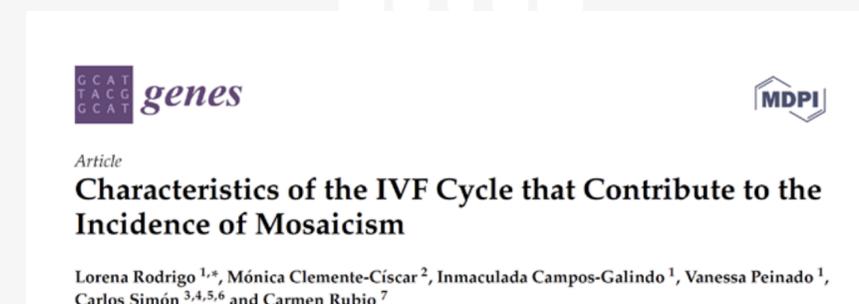


Gráfico 1

Redefinindo o potencial reprodutivo de embriões em mosaico

Please cite this article in press as: Capalbo et al., Mosaic human preimplantation embryos and their developmental potential in a prospective, non-selection clinical trial, The American Journal of Human Genetics (2021), <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2021.11.002>

ARTICLE

Mosaic human preimplantation embryos and their developmental potential in a prospective, non-selection clinical trial

Antonio Capalbo,^{1,*} Maurizio Poli,¹ Laura Rienzi,² Laura Girardi,¹ Cristina Patassini,¹ Marco Fabiani,¹ Danilo Cimadomo,² Francesca Benini,³ Alessio Farcomeni,⁴ Juliana Cuzzi,⁵ Carmen Rubio,^{6,7} Elena Albani,⁸ Laura Sacchi,⁸ Alberto Vaiarelli,² Matteo Figliuzzi,¹ Necati Findikli,^{9,10} Onder Coban,¹¹ Fazilet K. Boynukalin,¹² Ivan Vogel,¹³ Eva Hoffmann,¹³ Claudia Livi,³ Paolo E. Levi-Setti,⁸ Filippo M. Ubaldi,² and Carlos Simón^{6,7,14,15}

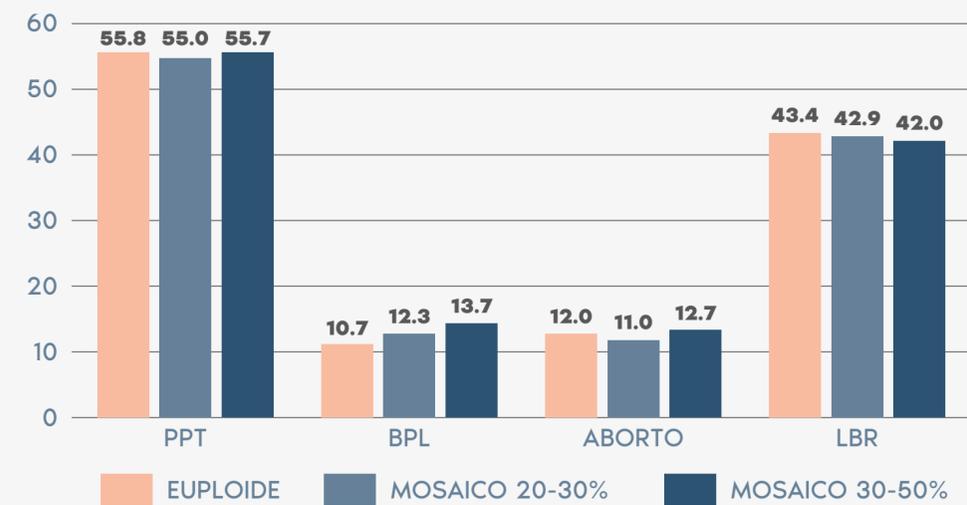
OS RESULTADOS CLÍNICOS FORAM ANALISADOS EM TRÊS GRUPOS DE ACORDO COM A CATEGORIA DO EMBRIÃO TRANSFERIDO:



VALIDAÇÃO CLÍNICA

Abaixo detalhamos nosso estudo não seletivo de transferência de embriões com níveis de mosaicismos abaixo do limite de 50%. Neste estudo, todos os embriões com níveis de mosaicismos abaixo de 50% foram relatados como euploides e a transferência foi priorizada entre eles com base em sua morfologia. Podemos considerar este estudo como a primeira validação clínica realizada sobre o potencial reprodutivo de embriões com níveis leves ou moderados de mosaicismos. Após a transferência dos embriões, os pacientes foram acompanhados e após conhecimento dos resultados da transferência,

Principais Resultados clínicos (897 SETs)



PPT: Positive Pregnancy Test (Test de gravidez positivo)
BPL: Biochemical Pregnancy Loss (Aborto bioquímico)
LBR: Live Birth Rate (Taxa de nascido vivo)
SET: Single Embryo Transfer (Transferência de embrião único)

estes foram analisados em três grupos com base no grau de mosaicismos observado (grupos A, B e C).

RESULTADOS:

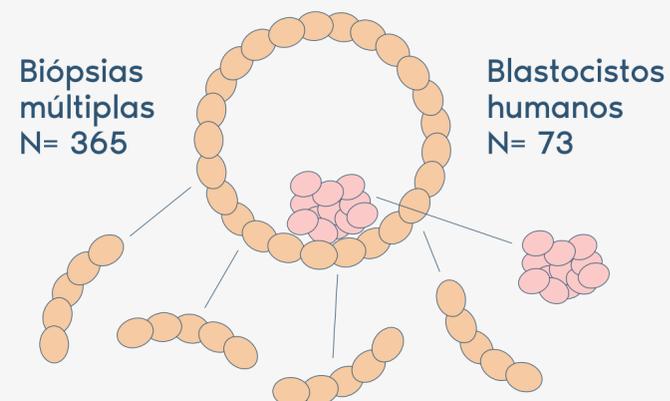
Os resultados reprodutivos foram semelhantes nos três grupos analisados (euploide, mosaicismos 20-30% e mosaicismos 30-50%). O monitoramento de gestações de <50% de embriões em mosaico não mostrou risco aumentado para a gravidez (aborto espontâneo/anormalidades estruturais e de desenvolvimento fetal) ou para o bebê em relação à transferência de embriões euploides.

Com este estudo não seletivo, conseguimos demonstrar o potencial reprodutivo de embriões mosaicos de baixo grau quando selecionados para transferência de maneira não seletiva e mascarada. Isso lhe dá maior valor científico do que estudos retrospectivos anteriores.

A transferência de embriões com mosaicismos <50% é uma opção relativamente segura para a prole

Redefinindo o potencial reprodutivo de embriões em mosaico

Por outro lado, em um grupo de blastocistos foram realizadas múltiplas biópsias adicionais de TE e massa celular interna. A comparação dos resultados obtidos mostrou que a porcentagem de massa celular interna com resultados normais foi semelhante para os embriões diagnosticados inicialmente como euploides, mosaico 20-30% e mosaico 30-50%.



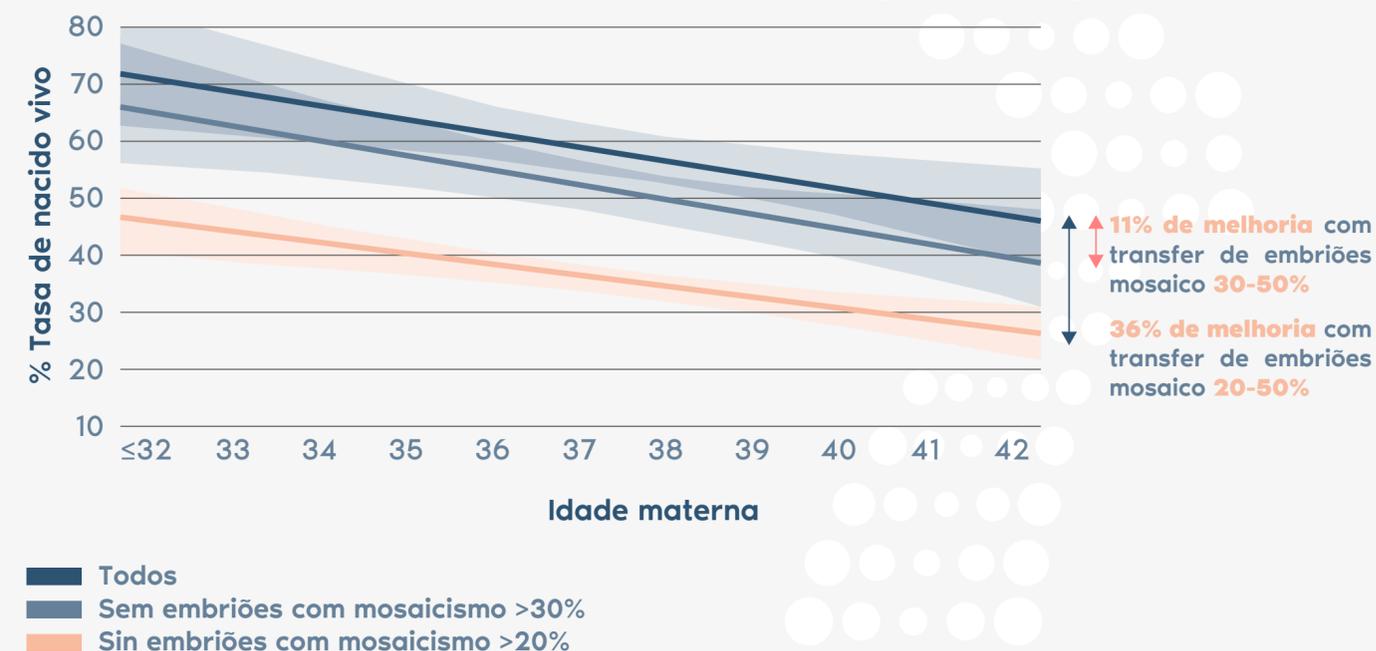
Esses resultados sugerem que o número intermediário de cópias (<50%) nas biópsias de ET pode ser devido a variações técnicas ou ao mosaicismo confinado a uma pequena porção do ET, sem envolvimento da massa celular interna ou gravidez.

	MCI Normal				MCI Anormal			
	Normal	Mosaico	Aneuploide	Outros	Normal	Mosaico	Aneuploide	Outros
Euploide	99,6% (6.082)	0,2% (17)	99,6% (3)	0,0% (0)	99,6% (6.082)	0,0% (0)	0,0% (0)	0,0% (0)
Mosaico bajo grado	99,3% (147)	0,6% (1)	0,0% (0)	0,0% (0)	99,3% (147)	0,0% (0)	0,0% (0)	0,0% (0)
Mosaico medio grado	95,5% (43)	92,2% (1)	95,5% (1)	0,0% (0)	95,5% (43)	0,0% (0)	0,0% (0)	1,8% (1)
Mosaico alto grado	15,0% (3)	20,0% (4)	0,0% (0)	0,0% (0)	15,0% (3)	0,0% (0)	0,0% (0)	65,0% (13)
Aneuploide	1,9% (2)	0,0% (0)	0,0% (0)	0,0% (0)	1,9% (2)	0,0% (0)	0,0% (0)	98,0% (103)

Resultados de las biopsias de TE de referencia

Resultados de outras biopsias de TE

Teoricamente, descartar embriões com 20-50% de mosaicismo para transferência implicaria uma **redução geral de 36% na taxa cumulativa de nascidos vivos. Nos casos em que foram descartados embriões com 30-50% de mosaicismo, essa redução seria de apenas 11%.**



De acordo com as novas recomendações da ESHRE – PGDIS

Este estudo fornece novas evidências de que embriões com mosaicismo <50% têm potencial reprodutivo e riscos gestacionais semelhantes aos embriões euploides, e podem ser considerados para transferência.