

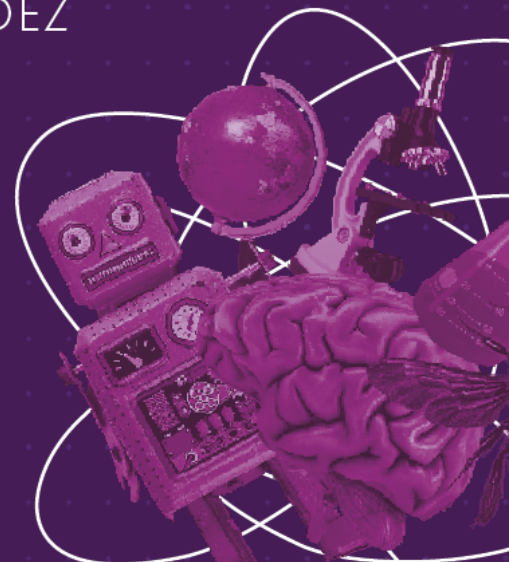
ASSOCIAÇÃO ENTRE PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E MORFOCINÉTICOS, E PLOIDIA DE BLASTOCISTOS HUMANOS

Professor orientador: Bruno Ramalho de Carvalho

Alunas: Bruna Rabello Iglesias e Rebekka Hae Rim Kim

PROGRAMA DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
PIC/CEUB

RELATÓRIOS DE PESQUISA
VOLUME 10 Nº 1- JAN/DEZ
2024



**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - CEUB
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

**BRUNA RABELLO IGLESIAS
REBEKKA HAE RIM KIM**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E
MORFOCINÉTICOS, E PLOIDIA DE BLASTOCISTOS HUMANOS**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica apresentado à Assessoria de Pesquisa e Extensão.
Orientação: Bruno Ramalho de Carvalho

**BRASÍLIA
2025**

DEDICATÓRIA

Dedicamos este trabalho às nossas famílias, pelo apoio constante, a todos que acreditam no poder transformador da ciência e às pacientes, que nos inspiram a pesquisar com propósito e humanidade.

AGRADECIMENTOS

A realização desta pesquisa não seria possível sem o apoio de pessoas e instituições ao longo de todo o processo.

Agradeço, em primeiro lugar, nosso orientador, Dr. Bruno Ramalho, pelo seu acompanhamento atento, pela generosidade em compartilhar conhecimento e pela excelência como profissional e pesquisador.

À Assessoria de Pesquisa do CEUB, meu reconhecimento pela estrutura, incentivo e suporte constante aos alunos de iniciação científica, proporcionando um ambiente propício para o desenvolvimento acadêmico.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF), nossa gratidão pelo financiamento a partir da bolsa de pesquisa concedida à equipe, que viabilizou a dedicação e continuidade do projeto.

À Genesis - Centro de Assistência em Reprodução Humana, agradeço por ter acolhido e viabilizado esta pesquisa com seus recursos humanos e estrutura física, sem os quais não poderíamos alcançar nossos resultados.

E, por fim, nossos agradecimentos mais profundos vão para as pacientes, cuja confiança e participação tornam possível a existência deste estudo. São elas o centro e a motivação maior de toda pesquisa em saúde reprodutiva — em busca de melhores prognósticos, mais qualidade de vida e esperança.

Nada na vida deve ser temido, apenas compreendido. Agora é hora de compreender mais, para que possamos temer menos.

(Marie Curie)

RESUMO

A escolha do embrião a ser transferido é determinante para o sucesso das técnicas de reprodução assistida (TRA). Tradicionalmente baseada em critérios morfológicos estáticos, essa seleção passou a incorporar, recentemente, a fotografia *time-lapse* (TL), que permite avaliar, de forma não invasiva, o desenvolvimento embrionário durante o cultivo em incubadoras de última geração (morfocinética embrionária). Paralelamente, uma das ferramentas amplamente utilizadas para avaliação da saúde embrionária é o teste genético pré-implantacional (PGT), mais especificamente o destinado à detecção de aneuploidias (PGT-A), convencionalmente realizado por meio de biópsia do trofocitotoma e sequenciamento de última geração. É um procedimento invasivo, de alto custo e não isento de riscos. Diante disso, recentes avanços em inteligência artificial (IA) têm explorado a utilização de algoritmos baseados em imagens e parâmetros morfocinéticos para prever, de forma não invasiva, o potencial de implantação embrionária. A literatura, entretanto, busca pelo aprimoramento da IA na previsão de aneuploidias, entre outros desfechos das TRA. O objetivo deste estudo é identificar se existe correlação entre parâmetros morfocinéticos e ploidia de embriões humanos, buscando desenvolver uma estratégia não invasiva de avaliação, que possa prever a existência de anomalias cromossômicas numéricas (aneuploidias), substituindo satisfatoriamente a biópsia do trofocitotoma. Trata-se de um estudo observacional, prospectivo, em que 43 embriões humanos gerados por TRA foram avaliados quanto a divisão celular e formação de blastocistos, a partir de TL, e, posteriormente, destinados ao PGT-A. A pontuação embrionária a partir da ferramenta automatizada de suporte à decisão KIDScore, por meio de algoritmo e programa específicos, também foi avaliada. Os resultados com distribuição normal foram analisados pelo teste de Welch e os com distribuição não paramétrica, pelo teste de Mann-Whitney. As áreas sob as curvas *receiver operating characteristic* (AUC-ROC) foram obtidas com intuito de avaliar a capacidade preditiva de aneuploidia. O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$ em todas as análises. Entre os parâmetros avaliados, o período até a formação completa do blastocisto (tB) e o intervalo entre a identificação inicial da blastocelule e a formação do blastocisto completo (tB - tSB) foram mais curtos para blastocistos euploides. Os respectivos tempos/intervalos médios/medianos (em horas) para embriões euploides e aneuploides foram os seguintes: tB, 101,5 vs. 109,5 ($p = 0,0011$); tB-tSB, 6,1 vs. 11,5 ($p = 0,0327$). O KIDScore também foi significativamente maior entre embriões euploides, quando comparados aos aneuploides (7,5 vs. 5,1, respectivamente, $p = 0,0002$). Identificou-se capacidade preditiva moderada para identificação de embriões aneuploides do parâmetro tB e da pontuação KIDScore: tB, AUC-ROC = 0,7357 (IC95% 0,5887 – 0,8828, $p = 0,0116$); KIDScore AUC-ROC = 0,8370 (IC95% 0,7007 – 0,9734, $p = 0,0003$). Conclui-se que os períodos até formação da blastocelule e do blastocisto completo foram maiores para embriões aneuploides, sugerindo que o desenvolvimento embrionário tardio pode ser mais lento em embriões aneuploides. Se confirmados por estudos com amostra mais significativa, nossos resultados poderão ser usados para a tomada de decisão sobre a realização da biópsia embrionária, evitando-a em embriões com alta probabilidade de euploidia.

Palavras-chave: desenvolvimento embrionário; imagem com lapso de tempo; técnicas de reprodução assistida

SUMÁRIO

1	Introdução	8
1.1	Contextualização da pesquisa	8
1.2	Objetivos	9
2	Fundamentação teórica	10
2.1	Aspectos morfocinéticos relevantes	10
2.2	Uso da inteligência artificial	12
3	Método	13
4	Resultados	15
5	Discussão	15
5.1	Análise dos resultados encontrados	15
5.2	Importância do time-lapse na predição embrionária	16
5.3	Automatização da análise embrionária e inteligência artificial	17
5.4	Impacto clínico na taxa de implantação e gravidez	18
6	Considerações finais	19
	REFERÊNCIAS	20
	ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido	23

1 Introdução

1.1. CONTEXTUALIZAÇÃO DA PESQUISA

A infertilidade é definida como a ausência de gravidez clínica após 12 meses de relações sexuais regulares e desprotegidas ou o comprometimento da capacidade reprodutiva de uma pessoa ou casal, por condições médicas, pessoais ou sociais que possam interferir na procriação, como as doenças que sabidamente interfiram na função reprodutiva, as uniões homoafetivas e a parentalidade independente (ZEGERS-HOCHSCHILD et al., 2017; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2023). Estima-se que cerca de 17,5% da população global seja acometida por essa condição, índice que pode chegar a 20% em alguns países em desenvolvimento, com destaque para as Américas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023). De acordo com o registro mais recente para a América latina, observou-se um aumento expressivo de 30% na busca pelas tecnologias de reprodução assistida (TRA) entre 2020 e 2021 (ZEGERS-HOCHSCHILD et al., 2025), impulsionado por fatores como o adiamento da maternidade, alterações demográficas, mudanças nas configurações familiares e envelhecimento populacional (INHORN & PATRIZIO, 2015; ANDRADE et al., 2023).

As TRA avançaram substancialmente nas últimas décadas, mas a seleção do embrião com maior potencial implantacional ainda é um dos principais desafios na prática. Tradicionalmente baseada em critérios morfológicos estáticos, essa escolha permanece limitada pela subjetividade do avaliador e pela avaliação pontual dos embriões fora do ambiente controlado da incubadora. Nesse contexto, a análise do desenvolvimento embrionário em cultivo a partir da captura sequencial de imagens em incubadoras de última geração – fotografia *time-lapse* (TL) – surge como estratégia promissora para fornecer informações temporais e dinâmicas da evolução de embriões gerados por fertilização *in vitro* (FIV), preservando condições ideais de cultivo e ampliando a capacidade de detecção de eventos sutis (KIESLINGER et al., 2016; ZANINOVIC et al., 2017; MOTATO et al., 2016).

Diversos estudos apontam que tempos específicos de clivagem celular e intervalos entre estágios de desenvolvimento se relacionam à competência embrionária, à ploidia e aos desfechos clínicos (HOJNIK et al., 2016; MILEWSKI et al., 2016a; TVRDONOVA et al., 2021; MINASI et al., 2016; PATEL et al., 2016; MOTATO et al., 2016). Embriões que possuem 46 cromossomos organizados em 23 pares (euploides)

tendem a apresentar divisões mais regulares e rápidas, enquanto padrões anômalos – como clivagens diretas e multinucleação – associam-se a piores resultados indicando embriões aneuploides ou com mosaicismos (FERRARETTO et al., 2021; DESAI et al., 2018; COTICCHIO et al., 2018; GOODMAN et al., 2016). Parâmetros tardios, como o tempo até morulação (tM) e blastulação (tB), também têm sido explorados, indicando que marcos atingidos precocemente podem refletir melhor qualidade de trofoectoderma e maiores taxas de implantação (RIENZI et al., 2019; MOTATO et al., 2016). Outros achados morfológicos finos, como cordões citoplasmáticos e a capacidade de reexpansão pós-descongelamento, acrescentam camadas de informação potencialmente úteis para predição do desfecho reprodutivo em um ciclo de TRA (EASTICK et al., 2022; COELLO et al., 2017; HUANG et al., 2019). Ainda assim, o uso isolado de dados morfocinéticos pode ser insuficiente, reforçando a necessidade de integrá-los a outras variáveis clínicas e genéticas (MILEWSKI et al., 2016a; MARTIN et al., 2021; HO et al., 2018). Apesar dos avanços, não há consenso ainda sobre quais parâmetros morfocinéticos e quais modelos preditivos realmente se traduzem em melhores desfechos clínicos, especialmente quando comparados aos resultados do teste pré-implantacional para aneuploidias (PGT-A). Enquanto alguns trabalhos reportam incremento nas taxas de implantação e gravidez com a incorporação de dados obtidos por TL e escores automatizados (KIESLINGER et al., 2016; APARICIO-RUIZ et al., 2016; MOTATO et al., 2016), outros apontam associações apenas moderadas ou dependentes do contexto clínico e do perfil dos pacientes (COELLO et al., 2017; RIENZI et al., 2019; MARTIN et al., 2021).

1.2. OBJETIVO

Identificar se há correlação entre os parâmetros morfológicos e morfocinéticos, com ênfase na clivagem precoce, e a ploidia de blastocistos humanos, verificando a capacidade de marcadores temporais e do algoritmo de pontuação em predizer euploidia, contribuindo para o entendimento crítico do valor incremental da morfocinética – isolada e integrada – na tomada de decisão clínica.

2 Fundamentação teórica

A evolução das TRA tem impulsionado a busca por métodos mais eficazes na seleção embrionária. Dentre essas estratégias, destaca-se a análise morfocinética associada à fotografia TL, que permite a observação contínua do desenvolvimento embrionário.

2.1. ASPECTOS MORFOCINÉTICOS RELEVANTES

A avaliação dinâmica do desenvolvimento embrionário durante o cultivo tem sido investigada para a predição dos desfechos reprodutivos em TRA. O conceito de morfocinética se refere aos eventos de divisão celular desde o zigoto até o estágio de blastocisto, acompanhados por meio da fotografia TL acoplada a incubadoras de última geração, que permitem o acompanhamento não-invasivo dos marcos evolutivos embrionários. Segundo Hojnik e colaboradores (2016), a identificação desses parâmetros pode permitir a seleção de embriões com maior potencial de implantação.

Entre os principais marcadores identificados, destacam-se o tempo até a clivagem em duas células (t_2), três células (t_3), quatro células (t_4) e 5 células (t_5), que refletem a cadência das primeiras mitoses embrionárias sugerindo que embriões com tempos reduzidos tendem a ser euploides e, conseqüentemente, ter melhores desfechos clínicos (MILEWSKI et al, 2016b; TVRDONOVA et al, 2021; MOTATO et al, 2016). Além disso, intervalos entre essas divisões, como a diferença entre t_2 e t_5 (t_5-t_2), também têm sido associados à ploidia embrionária, sendo que embriões euploides geralmente apresentam divisões mais regulares e previsíveis (TVRDONOVA et al, 2021; MINASI et al, 2016). Patel e colaboradores (2016) destacaram a importância do monitoramento do tempo entre divisões celulares específicas (t_2 , $cc3$ e t_5-t_2) mostrando que embriões euploides exibem padrões morfocinéticos distintos dos aneuploides, apesar de ainda não conseguirem substituir a avaliação cromossômica pelo PGT-A.

Ainda no contexto de divisões celulares, Ferraretto e colaboradores (2021) observaram que anomalias como clivagens diretas e multinucleação interferem nos tempos morfocinéticos e estão relacionados a piores desfechos. Milewski e colaboradores (2016a), por sua vez, apontam que o uso isolado de dados

morfocinéticos, pode ser limitado, ainda que haja correlações importantes entre certos tempos de clivagem e desfechos clínicos positivos. Parâmetros mais tardios como tempo até morulação (tM) e tempo até blastulação (tB) também se mostraram relevantes. Embriões que atingem esses marcos em tempos mais curtos tendem a apresentar maior qualidade de trofoectoderma e maiores taxas de implantação (RIENZI et al, 2019; MOTATO et al, 2016).

Eastick e colaboradores (2022) complementaram a análise morfocinética com a exploração de potenciais biomarcadores como cordões citoplasmáticos, observados em 77% dos blastocistos, sendo essas estruturas associadas à maior taxa de formação de blastocistos expandidos, sugerindo uma possível relação com qualidade embrionária e desenvolvimento favorável. Outros autores avaliaram a capacidade de reexpansão dos blastocistos após a criopreservação, indicando que esse processo pode refletir a qualidade morfocinética prévia (COELLO et al, 2017; HUANG et al, 2019). Além disso, enquanto embriões aneuploides tendem a ter atrasos nos marcos de desenvolvimento, embriões mosaico apresentam um perfil morfocinético variável com sobreposição de tempos de alguns marcos com embriões aneuploides mas também com os euploides, indicando uma assinatura morfocinética distinta para esse grupo (MARTIN et al, 2021). Ho e colaboradores (2018) complementam essa perspectiva ao associar o tempo de blastulação com diferenças no conteúdo mitocondrial dos embriões, sugerindo que a morfocinética também pode refletir o estado metabólico embrionário, corroborando a ideia de que parâmetros bioquímicos pode ser espelhos da competência embrionária e estão associados aos padrões observados pela fotografia TL (QUINN et al, 2022; BARRIE et al, 2021)..

Modelos e escores preditivos tem sido construídos se baseando nestes parâmetros. Um estudo construiu um parâmetro derivado da análise de componentes principais (ScPCA) a partir da combinação linear de 6 variáveis morfocinéticas relacionadas a tempos de divisão celular (t2, t3, t4 e t5) e níveis de fragmentação (cc2 e s2) junto à idade materna sendo que o menor resultado está associado a um sucesso implantacional maior (MILEWSKI et al., 2016b), corroborando, por fim, a hipótese de que um embrião cuja morfocinética estabelece padrões de desenvolvimento a intervalos de tempo menores pode ter a euploidia pressuposta.

2.2. USO DA INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

Devido à alta complexidade dos dados analisados, ferramentas automatizadas e modelos de inteligência artificial (IA) têm sido incorporados para reduzir a variabilidade interobservador e aprimorar o poder preditivo na seleção embrionária. Algoritmos baseados em aprendizado de máquina e aprendizado profundo vêm sendo treinados com conjuntos de dados morfocinéticos e clínicos extensos, exibindo desempenhos encorajadores na identificação de euploidia e viabilidade (HUANG, 2021; BARNES et al., 2023; DIAKIW et al., 2022). Plataformas comerciais e escores derivados exclusivamente de informações obtidas por TL demonstraram benefícios quando comparados a morfologia convencional (KIESLINGER et al., 2016; KOVACS et al., 2018; QUINN et al., 2022; BARRIE et al., 2021). Contudo, permanece o consenso de que a robustez desses algoritmos depende de bases de dados bem anotadas, representativas e integradas a variáveis clínicas relevantes (MILEWSKI et al., 2016b).

Dentre os modelos preditivos, a Vitrolife AB, fabricante do sistema EmbryoScope/EmbryoViewer™, comercializa o KIDScore® (Known Implantation Data Score) como um algoritmo de probabilidade de sucesso implantacional a partir de variáveis morfológicas e morfocinéticas obtidas por TL.

3 Método

Estudo observacional, prospectivo, a partir dos filmes gerados por fotografia TL, dos parâmetros morfológicos e morfocinéticos de blastocistos humanos (estágio de desenvolvimento atingido entre o quarto e o sétimo dia de desenvolvimento em cultivo) gerados por FIV, com injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) ou não, em ciclos de TRA previamente destinados ao PGT-A, realizados no GENESIS Centro de Assistência em Reprodução Humana, um centro privado de reprodução assistida, em Brasília, Distrito Federal, entre 1º de outubro de 2024 e 31 de março de 2025.

Foram avaliados 43 embriões humanos, monitorados por sistema time-lapse, correlacionando parâmetros morfocinéticos-chave e o escore KIDScore com o resultado do PGT-A.

Ao longo do cultivo embrionário, realizado em incubadora de última geração, modelo EmbryoScope Plus® (Vitrolife A/S, Dinamarca), foram registrados os seguintes tempos/intervalos: t2 (tempo para atingir duas células), t3 (tempo para atingir três células), t4 (tempo para atingir quatro células), t5 (tempo para atingir cinco células), t8 (tempo para atingir três células), tSC (tempo para compactação), tSB (tempo para o início da blastulação), tB (tempo de formação do blastocisto completo), cc2 (t3-t2) (segundo ciclo de clivagem, tempo entre 2 e 3 células), cc3(t5-t3) (terceiro ciclo de clivagem, tempo entre 3 e 5 células), t5-t2 (tempo total entre 2 e 5 células), s2 (t4-t3) (sincronia da clivagem, tempo entre 3 e 4 células), s3 (t8-t5) (sincronia da clivagem, tempo entre 3 e 4 células), tSC-t8 (tempo entre 8 células e início de compactação), tB-tSB (tempo entre início e formação completa do blastocisto). A pontuação embrionária a partir da ferramenta automatizada de suporte à decisão KIDScore, por meio de algoritmo e programa específicos, também foi avaliada.

No presente estudo, o KIDScore foi gerado automaticamente pelo *software* da incubadora e correlacionado ao resultado cromossômico para verificar seu poder preditivo.

As análises estatísticas foram realizadas por meio do *software* GraphPad Prism 10, versão 10.3.1 (GraphPad Software, LLC, Boston, MA, USA). Os resultados com distribuição normal foram analisados pelo teste de Welch e os com distribuição não paramétrica, pelo teste de Mann-Whitney. As áreas sob as curvas *receiver operating characteristic* (AUC-ROC) foram obtidas para os parâmetros morfocinéticos

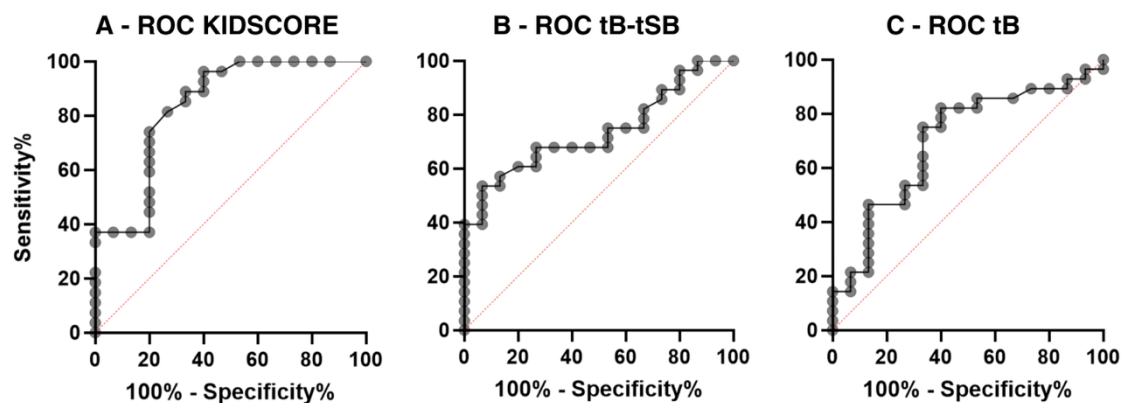
significativos, com intuito de avaliar a capacidade preditiva de aneuploidia dos mesmos. O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$ em todas as análises.

O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário de Brasília – CEUB (Certificado de Apresentação de Apreciação Ética – CAAE n. 81250324.4.0000.0023, parecer n. 7.098.683), e todas as pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido autorizando a utilização dos dados (ANEXO A).

4 Resultados

Entre os parâmetros morfocinéticos avaliados, o período até a formação completa do blastocisto (tB) e o intervalo entre a identificação inicial da blastocele e a formação do blastocisto completo (tB - tSB) mostraram associação significativa com a ploidia, sendo mais curtos para blastocistos euploides. Os respectivos tempos/intervalos médios/medianos para embriões euploides e aneuploides foram os seguintes: tB, 101,5 horas vs. 109,5 horas ($p = 0,0011$); tB-tSB, 6,1 horas vs. 11,5 horas ($p = 0,0327$). A pontuação embrionária a partir da ferramenta KIDScore também foi significativamente maior entre embriões euploides, quando comparados aos aneuploides (7,553 vs. 5,144, respectivamente, $p = 0,0002$). As áreas sob curvas ROC (AUC-ROC) identificaram uma capacidade preditiva moderada para identificação de embriões aneuploides do parâmetro tB e da pontuação KIDScore: tB, AUC-ROC = 0,7357 (IC95% 0,5887 – 0,8828, $p = 0,0116$); KIDScore AUC-ROC = 0,8370 (IC95% 0,7007 – 0,9734, $p = 0,0003$) (FIGURA 1).

Figura 1 - Curvas Receiver Operator Characteristic (ROC), para predição de ploidia embrionária, de acordo com a ferramenta KIDScore® (A) e os tempos tB-tSB (B) e tB (C).



Fonte: autoria própria (2025).

5 Discussão

5.1. ANÁLISE DOS RESULTADOS ENCONTRADOS

Os achados deste estudo mostram que o tempo até a formação completa do blastocisto (tB) e o intervalo entre a identificação inicial da blastocle e a formação do blastocisto completo (tB–tSB) foram significativamente menores nos embriões euploides (tB: 101,5 h vs. 109,5 h; $p = 0,0011$ | tB–tSB: 6,1 h vs. 11,5 h; $p = 0,0327$), em consonância com a literatura que associa marcos temporais mais precoces à maior competência embrionária e melhores desfechos clínicos (MOTATO et al., 2016; TVRDONOVA et al., 2021; MINASI et al., 2016). A meta-análise recente sobre morfologia/morfocinética e aneuploidia também relatou atraso sistemático em múltiplos parâmetros em embriões aneuploides, reforçando que tempos tardios de clivagem ou blastulação refletem alterações cromossômicas (BAMFORD et al., 2022). Esses resultados sugerem que tB e, de maneira ainda pouco explorada, tB–tSB, podem ser marcadores temporais úteis na triagem inicial da euploidia. O desempenho preditivo moderado observado (AUC-ROC tB = 0,7357; IC95% 0,5887–0,8828; $p = 0,0116$) é coerente com trabalhos que identificaram correlações significativas, porém não absolutas, entre variáveis morfocinéticas isoladas e ploidia/implantação, alertando para o risco de superestimar a acurácia de um único marcador temporal (MILEWSKI et al., 2016a; MARTIN et al., 2021; COTICCHIO et al., 2018).

O KIDScore, por sua vez, apresentou valores significativamente maiores nos euploides (7,553 vs. 5,144; $p = 0,0002$) e melhor desempenho preditivo (AUC-ROC = 0,8370; IC95% 0,7007–0,9734), corroborando a literatura que indica vantagem de escores com múltiplas variáveis e/ou modelos de IA treinados em grandes bases de dados (KIESLINGER et al., 2016; KOVACS et al., 2018; HUANG, 2021; BARNES et al., 2023; DIAKIW et al., 2022; MILEWSKI et al., 2016b). Ainda assim, diferenças de protocolo, incubadoras e definição de marcos limitam atualmente extrapolações como a substituição de testes como o PGT-A por escores morfocinéticos.

5.2. IMPORTÂNCIA DO TIME-LAPSE NA PREDIÇÃO EMBRIONÁRIA

A tecnologia TL na rotina de laboratórios de fertilização in vitro (FIV) revolucionou a forma de acompanhar o desenvolvimento ao permitir a captura de

imagens contínuas sem a necessidade de retirar embriões da incubadora. Essa abordagem mantém um ambiente estável e permite uma análise precisa da cinética celular do desenvolvimento do embrião, superando as limitações da microscopia convencional (KIESLINGER et al, 2016; MONTATO et al, 2016; ZANINOVIC et al, 2017).

Um dos principais benefícios do uso do TL está na identificação de eventos morfocinéticos sutis, como clivagens anormais, reversões de divisão, multinucleações e bloqueios no ciclo celular, que outrora passavam despercebidos (FERRARETTO et al, 2021; DESAI et al, 2018; COTICCHIO et al, 2018; GOODMAN et al, 2016). Ferrareto (2021) evidenciou que anomalias precoces como clivagens diretas e multinucleação foram captadas com precisão por meio da análise contínua, estando associadas a taxas mais baixas de implantação de maior chance de aneuploidia. Desai (2018) observou que 41,6% dos embriões com clivagens atípicas ainda eram euploides, mas apresentavam desempenho inferior, sugerindo que o acompanhamento contínuo pode oferecer informações valiosas mesmo em embriões geneticamente normais.

Além da detecção de anomalias, o TL também permite mapear janelas ideais de tempo para cada estágio de desenvolvimento, o que contribui na classificação embrionária (PATEL et al, 2016; KOVACS et al, 2018; MILEWSKI et al, 2016a). Kovacs (2018), desenvolveram um escore baseado exclusivamente em parâmetros obtidos pelo TL utilizando parâmetros morfológicos e morfocinéticos para distinguir embriões com maior probabilidade de sucesso de implantação, com boa taxa de sucesso. Milewski (2016b) observou que embriões que atingiam os marcos do desenvolvimento dentro de faixas temporais ideais tinham maior probabilidade de implantação, reforçando o valor preditivo dessa ferramenta.

Outros usos do TL incluem análises morfocinéticas após o degelo em embriões criopreservados (COELLO et al, 2017), valor preditivo de potencial implantacional em embriões considerados morfológicamente inferiores mas com bons parâmetros morfocinéticos (QUINN et al, 2022; Kieslinger et al., 2016), impacto das diferenças de cultivo embrionário entre a embriologia comum e o sistema de incubadora (WU et al, 2016) e novos parâmetros do desenvolvimento celular ainda pouco descritos, como onda citoplasmática e cone de fertilização (COTICCHIO et al, 2018).

Portanto, a adoção do TL na FIV representa não apenas uma melhoria técnica no monitoramento embrionário bem como um avanço na compreensão do desenvolvimento in vitro.

5.3. AUTOMATIZAÇÃO DA ANÁLISE EMBRIONÁRIA E INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

O aumento da complexidade dos dados gerados pela tecnologia time-lapse e pela análise morfocinética tem impulsionado a adoção de métodos automatizados e ferramentas baseadas em inteligência artificial (IA) no contexto da FIV. Esses sistemas visam reduzir a variabilidade Inter observador e fornecer classificações embrionárias mais objetivas, consistentes e escaláveis (MOTATO et al, 2016). Um modelo preditivo baseado em IA para estimar o sucesso implantacional a partir da análise do desenvolvimento embrionário em tempo real pode apoiar a decisão clínica no avanço das ferramentas para escolha embrionária (DIAKIW et al., 2022). Modelos mais recentes de IA vêm sendo treinados com conjuntos amplos de dados morfocinéticos e clínicos. Segundo Huang (2021), o modelo desenvolvido a partir de aprendizado profundo (*deep learning*) denominado EPA (*Euploid Prediction Algorithm*) alcançou uma área sob a curva de 0,84 na predição de embriões euploides. Outro modelo, STORK-A, também baseado em aprendizado profundo, integrou dados clínicos maternos com imagens embrionárias e demonstrou predição promissora da viabilidade embrionária (BARNES et al, 2023). Os autores destacam que a sinergia entre a avaliação estática e a dinâmica permite uma abordagem mais robusta, particularmente útil na seleção do único embrião a ser transferido em protocolos de transferência única (SET). Kieslinger et al. (2016) utilizou a plataforma Eeva™, um modelo de inteligência artificial a partir de dados morfocinéticos obtidos por time-lapse, que, quando comparada à avaliação morfológica tradicional, resultou em gravidez de embriões de menor qualidade morfológica, indicando uma capacidade da ferramenta em distinguir embriões com um alto potencial de desenvolvimento. Milewski (2016a) ressalta a necessidade de alimentar os algoritmos com bases de dados robustas e bem anotadas, complementada com as variáveis clínicas mais relevantes, para se construir ferramentas com valor preditivo real.

5.4. IMPACTO CLÍNICO NA TAXA DE IMPLANTAÇÃO E GRAVIDEZ

A utilização de ferramentas morfocinéticas e tecnologias de imagem contínua na seleção embrionária tem sido associada a desfechos clínicos favoráveis, especialmente no que se refere ao aumento das taxas de implantação e gravidez clínica. Embora os parâmetros morfológicos convencionais continuem a ser utilizados, diversos estudos apontam que a incorporação de dados morfocinéticos pode melhorar a precisão na seleção dos embriões com maior potencial de sucesso (KIESLINGER et al., 2016; APARICIO-RUIZ et al., 2016). Segundo Motato (2016), em uma amostra de mais de 3.000 embriões, os algoritmos de classificação automatizada baseados em dados morfocinéticos foram mais eficazes na predição do desenvolvimento até blastocisto e na escolha dos embriões que resultaram em gravidez. Esse ganho de acurácia tem implicações clínicas importantes, sobretudo em pacientes com número limitado de embriões disponíveis. Rienzi et al. (2019) identificaram que tempos mais curtos de morulação (tM) e blastulação (tB) estiveram associados à melhor qualidade do trofotoderma, camada essencial para a interação com o endométrio e o sucesso da implantação. Coello et al. (2017) demonstraram que a reexpansão precoce do blastocisto após o aquecimento foi um preditor positivo de implantação, o que ressalta o valor do monitoramento contínuo mesmo em etapas posteriores ao cultivo inicial.

6 Considerações finais

Embora os tempos entre a primeira divisão celular e a compactação não tenham apresentado correlação com a ploidia, os períodos até formação da blastocele e do blastocisto completo foram maiores para embriões aneuploides. Isso sugere que o desenvolvimento embrionário tardio pode ser mais lento em embriões com alteração cromossômica numérica. Se confirmados por estudos com amostra mais significativa, nossos resultados poderão ser usados para a tomada de decisão sobre a realização da biopsia embrionária, evitando-a em embriões com alta probabilidade de euploidia.

Nesse cenário, análises prospectivas que correlacionem variáveis morfocinéticas específicas e escores automatizados com ploidia embrionária permanecem essenciais para refinar protocolos de seleção e orientar o uso racional dessas tecnologias na rotina laboratorial.

Entretanto, as particularidades do desenho (amostra reduzida, ausência de desfechos clínicos tardios, como nascimento vivo) limitam a generalização dos resultados. Cabe dizer que esse estudo prevê continuidade até outubro de 2026, totalizando 24 meses de coleta de dados e que, com maior amostra, espera-se ratificar os achados ora demonstrados, inclusive prevendo o desenvolvimento, a partir desses, de ferramentas de inteligência artificial para análise de amostras futuras.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. C.; FERRIANI, R. A.; NAVARRO, P. A. Fatores associados à infertilidade: como prevenir. In: FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA - FEBRASGO. Manejo inicial da paciente infértil pelo ginecologista. São Paulo: FEBRASGO, 2023. cap. 2.

APARICIO-RUIZ, B.; BASILE, N.; PÉREZ-ALBAL, S. et al. Automatic time-lapse instrument is superior to single-point morphology for selecting viable embryos: retrospective study in oocyte donation. *Fertility and Sterility*, 2016.

BAMFORD, T.; BARRIE, A.; MONTGOMERY, S. et al. Morphological and morphokinetic associations with aneuploidy: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, v. 28, n. 5, p. 656–686, 2022.

BARNES, J.; BRENDEL, M.; GAO, V. R. et al. A non-invasive artificial intelligence approach for the prediction of embryo ploidy: a retrospective model development and validation study. *The Lancet Digital Health*, 2023.

BARRIE, A.; MCDOWELL, G.; TROUP, S. An investigation into the effect of potential confounding patient and treatment parameters on human embryo morphokinetics. *Fertility and Sterility*, 2021.

COELLO, A.; MESEGUER, M.; GALÁN, A. et al. Analysis of the morphological dynamics of blastocysts after vitrification/warming: defining new predictive variables of implantation. *Fertility and Sterility*, 2017.

COTICCHIO, G.; MIGNINI RENZINI, M.; NOVARA, P. V. et al. Focused time-lapse analysis reveals novel aspects of human fertilization and suggests new parameters of embryo viability. *Human Reproduction*, 2018.

DESAI, N.; GOLDBERG, J.; ASTRUC, M. et al. Are cleavage anomalies, multinucleation, or specific cell cycle kinetics observed with time-lapse imaging predictive of embryo developmental capacity or ploidy? *Fertility and Sterility*, 2018.

DIAKIW, S. M.; HALL, J. M. M.; VERMILYEA, M. D. et al. Development of an artificial intelligence model for predicting embryo implantation on blastocyst images from multiple imaging systems during IVF. *Human Reproduction*, 2022.

EASTICK, J.; VENETIS, C.; COOKE, S. et al. Detailed analysis of cytoplasmic strings in human blastocysts: new insights. *Zygote*, 2022.

FERRARETTO, X.; HAMMAS, K.; LLABADOR, M.-A. et al. Early embryo development anomalies identified by time-lapse system: prevalence and impacting factors. *Reproductive BioMedicine Online*, 2021.

GOODMAN, L. R.; GOLDBERG, J.; GMUR, D. et al. Does the addition of time-lapse morphokinetics in the selection of embryos for transfer improve pregnancy rates? A randomized controlled trial. *Fertility and Sterility*, 2016.

HO, J. R.; ARRACH, N.; RHODES-LONG, K. et al. Blastulation timing is associated with differential mitochondrial content in euploid embryos. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 2018.

HOJNIK, N.; VLAISAVLJEVIC, V.; KOVACIC, B. Morphokinetic characteristics and developmental potential of in vitro cultured embryos from natural cycles in patients with poor ovarian response. *BioMed Research International*, 2016.

HUANG, T. T. F.; HUANG, D. H.; HWANG, H. J. et al. Early blastocyst expansion in euploid and aneuploid human embryos: evidence for a non-invasive and quantitative marker for embryo selection. *Reproductive BioMedicine Online*, 2019.

HUANG, B.; TAN, W.; LI, Z. et al. An artificial intelligence model (Euploid Prediction Algorithm) can predict embryo ploidy status based on time-lapse data. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2021.

INHORN, M. C.; PATRIZIO, P. Infertility around the globe: new thinking on childlessness, gender, and reproductive technologies. *Reproductive BioMedicine Online*, 2015.

KIESLINGER, D. C.; DE GHESELLE, S.; LAMBALK, C. B. et al. Embryo selection using time-lapse analysis (Early Embryo Viability Assessment) compared with standard morphology: a prospective two-center pilot study. *Human Reproduction*, 2016.

KOVACS, P.; MATYAS, S.; FORGACS, V. et al. Non-invasive embryo evaluation and selection using time-lapse monitoring: results of a randomized controlled study. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2018.

MARTÍN, Á.; RODRIGO, L.; BELTRÁN, D. et al. The morphokinetic signature of mosaic embryos: evidence in support of their own genetic identity. *Fertility and Sterility*, 2021.

MILEWSKI, R.; CZERNIECKI, J.; KUCZYŃSKA, A. et al. Morphokinetic parameters as a source of information concerning embryo developmental and implantation potential. *Ginekologia Polska*, 2016a.

MILEWSKI, R.; MILEWSKA, A. J.; KUCZYŃSKA, A. et al. Do morphokinetic data sets inform pregnancy potential? *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 2016b.

MINASI, M. G.; COLASANTE, A.; FIORE, C. et al. Correlation between aneuploidy, standard morphology evaluation and morphokinetic parameters in 1730 biopsied blastocysts: a consecutive case series study. *Human Reproduction*, 2016.

MOTATO, Y.; SANTOS, M. J. de los; RODRÍGUEZ, M. I. et al. Morphokinetic analysis and embryonic prediction for blastocyst formation through an integrated time-lapse system. *Fertility and Sterility*, 2016.

PATEL, D. V.; SHAH, P. B.; KOTDAWALA, A. P. et al. Morphokinetic behavior of euploid and aneuploid embryos analyzed by time-lapse in EmbryoScope. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 2016.

PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE; AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. Definition of infertility: a committee opinion. *Fertility and Sterility*, [S.l.], v. 120, n. 6, p. 1170, 2023.

QUINN, M. M.; MARSH, P.; (outros). A deep dive into the morphokinetics and ploidy of low-quality blastocysts. *Assisted Reproduction*, 2022.

RIENZI, L. et al. Time of morulation and trophoctoderm quality are predictors of live birth after euploid blastocyst transfer: a multicenter study. *Fertility and Sterility*, 2019.

TVRDONOVA, K.; BELASKOVA, S.; (outros). Differences in morphokinetic parameters and incidence of multinucleations in human embryos of genetically normal, abnormal and euploid embryos leading to clinical pregnancy. *Journal of Clinical Medicine*, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Infertility prevalence estimates, 1990–2021. Geneva: WHO, 2023.

WU, Y.-G.; LAZZARONI-TEALDI, E.; WANG, Q. et al. Different effectiveness of closed embryo culture system with time-lapse monitoring for poor-prognosis patients: a prospectively randomized pilot study. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2016.

ZANINOVIC, N.; IRANI, M.; (outros). Assessment of embryo morphology and developmental dynamics by time-lapse microscopy: is there a relation to implantation and ploidy? *Fertility and Sterility*, 2017.

ZEGERS-HOCHSCHILD, F. et al. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2017. *Fertility and Sterility*, 2017.

ZEGERS-HOCHSCHILD, F.; CROSBY, J. A.; MUSRI, C.; PETERMANN-ROCHA, F.; MARTINEZ, G.; NAKAGAWA, H.; MORENTE, C.; ROQUE, A.; PALMA-GOVEA, A. Assisted reproductive technologies in Latin America: the Latin American Registry, 2021. *JBRA Assisted Reproduction*, [S.l.], v. 29, n. 1, p. 167-190, 2025.

ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Projeto de Pesquisa: Associação entre parâmetros morfológicos e morfocinéticos, e ploidia de blastocistos humano

Instituição do/a ou dos/(as) pesquisadores(as)/Instituição Proponente: Bruno Ramalho Reprodução Humana, Centro Universitário de Brasília, Genesis Centro de Assistência em Reprodução Humana

Pesquisador(a) responsável:

Bruno Ramalho de Carvalho, professor da Graduação em Medicina, especialista em Reprodução Assistida (RQE 15521), Centro Universitário de Brasília

Pesquisadores assistentes:

Bruna Rabello Iglesias, Maria Eduarda Bonavides Amaral, Íris Oliveira Cabral, Luiz Carlos Pinheiro Junior, Bruno Silva Sá

Você está sendo convidada a participar do projeto de pesquisa acima citado. O texto abaixo apresenta todas as informações necessárias sobre o que estamos fazendo.

O nome deste documento que você está lendo é Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Antes de decidir se deseja participar (de livre e espontânea vontade) você deverá ler e compreender todo o conteúdo. Ao final, caso decida participar, você será solicitada a assiná-lo e receberá uma via do mesmo.

Antes de assinar, faça perguntas sobre tudo o que não tiver entendido bem. A equipe deste estudo responderá às suas perguntas a qualquer momento (antes, durante e após o estudo).

Natureza e objetivos do estudo

- Você está sendo convidado a participar desta pesquisa que tem o(s) objetivo(s) avaliar se existe alguma **associação entre os parâmetros morfocinéticos embrionários vistos pelo time-lapse (Embryoscope) e os resultados do teste genético pré-implantação para pesquisa de aneuploidias (PGT-A).**

Procedimentos do estudo

- Sua participação consiste em **autorizar a análise dos dados clínicos do seu**

tratamento de reprodução assistida, de forma anônima (sem sua identificação).

- O procedimento é **avaliar se existe associação entre os tempos dos eventos do desenvolvimento embrionário e a saúde genética do embrião (ploidia), com vistas a ampliar o conhecimento científico e melhorar a assistência, no futuro, em casos semelhantes ao seu.**
- A pesquisa será realizada nos **dados de prontuário da clínica Bruno Ramalho Reprodução Humana e da clínica Genesis Centro de Assistência em Reprodução Humana**, e resultará em trabalho de conclusão de curso da pesquisadora Bruna Iglesias (Graduação em Medicina, **Centro Universitário de Brasília**), de quem o pesquisador responsável é professor e orientador.

Riscos e benefícios

- Este estudo **não implica riscos adicionais a você ou aos seus embriões**. Não haverá intervenção ou modificação do seu tratamento.
- Caso esse procedimento possa gerar algum tipo de constrangimento, você não precisa realizá-lo, ou poderá interromper sua participação a qualquer momento.
- Com sua participação nesta pesquisa você contribuirá com o **conhecimento científico sobre o desenvolvimento embrionário e sua relação com a saúde genética de embriões, com potencial de melhorar a orientação médica em casos semelhantes ao seu.**

Participação, recusa e direito de se retirar do estudo

- Sua participação é voluntária. Você não terá nenhum prejuízo se não quiser participar.
- Você poderá se retirar desta pesquisa a qualquer momento, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis.
- Conforme previsto pelas normas brasileiras de pesquisa com a participação de seres humanos, você não receberá nenhum tipo de compensação financeira pela sua participação neste estudo.

Confidencialidade

- Seus dados serão manuseados somente pelos pesquisadores e não será permitido o acesso a outras pessoas.
- Os dados e instrumentos utilizados ficarão guardados sob a responsabilidade de **Bruno Ramalho de Carvalho**, com a garantia de manutenção do sigilo e confidencialidade, e arquivados por um período de 5 anos; após esse tempo serão destruídos.
- Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros e/ou revistas científicas. Entretanto, ele mostrará apenas os resultados obtidos como um todo, **sem revelar seu nome ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade.**

Se houver alguma consideração ou dúvida referente aos aspectos éticos da pesquisa,

entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário de Brasília – CEP/UniCEUB, que aprovou esta pesquisa, pelo telefone 3966-1511 ou pelo e-mail cep.uniceub@uniceub.br. O horário de atendimento do CEP-UniCEUB é de segunda a quinta: 09h às 12h30 e 14h30 às 18h30.

O CEP é um grupo de profissionais de várias áreas do conhecimento e da comunidade, autônomo, de relevância pública, que tem o propósito de defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e de contribuir para o desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

Também entre em contato para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo.

Ao assinar abaixo, você confirma que leu as afirmações contidas neste termo de consentimento, que foram explicados os procedimentos do estudo, que teve a oportunidade de fazer perguntas, que está satisfeito com as explicações fornecidas e que decidiu participar voluntariamente deste estudo. Uma via será entregue a você e a outra será arquivada pelo pesquisador responsável.

Caso tenha qualquer dúvida sobre a pesquisa, incluindo os danos possíveis, entre em contato com o pesquisador responsável **Bruno Ramalho de Carvalho**, no telefone (61) 98150-0056 ou pelo e-mail bruno.ramalho@ceub.edu.br.

Eu, **[nome da paciente]**, inscrita no Cadastro de Pessoa Física (CPF) sob o número **[cpf da paciente]**, após receber a explicação completa dos objetivos e dos procedimentos envolvidos na pesquisa, **concordo voluntariamente em fazer parte do mesmo e autorizo que os dados de meu tratamento sejam usados**, de forma anônima, para as análises pretendidas.

Brasília, **[data]**.

NOME DA PACIENTE

ASSINATURA – DR. BRUNO RAMALHO DE CARVALHO

Telefone: (61) 98150-0056/99167-8437

E-mail: bruno.ramalho@ceub.edu.br/ramalho.b@gmail.com