

**ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E SAÚDE HUMANA**

**JAMILLE RIBEIRO DE SANTANA**

**O EFEITO DA ENDOMETRITE CRÔNICA NA MATURAÇÃO OOCITÁRIA E NO  
DESENVOLVIMENTO E QUALIDADE DO EMBRIÃO EM CICLOS DE  
FERTILIZAÇÃO IN VITRO: UM ESTUDO DE CASO-CONTROLE**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Salvador - Bahia**

**2025**

**JAMILLE RIBEIRO DE SANTANA**

**O EFEITO DA ENDOMETRITE CRÔNICA NA MATURAÇÃO OOCITÁRIA E NO  
DESENVOLVIMENTO E QUALIDADE DO EMBRIÃO EM CICLOS DE  
FERTILIZAÇÃO IN VITRO: UM ESTUDO DE CASO-CONTROLE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em nome do curso da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública como requisito parcial para obtenção do título de Mestra em Medicina e Saúde Humana.

Orientadora: Profa. Dra. Milena Bastos Brito

Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Nardini Cecchino

Salvador - Bahia  
2025

S232 Santana, Jamille Ribeiro de.

O efeito da endometrite crônica na maturação oocitária e no desenvolvimento e qualidade do embrião em ciclos de fertilização in vitro: um estudo de caso-controle / Jamille Ribeiro de Santana. – Salvador, 2025  
61f.; il.

Orientador: Milena Bastos Brito  
Mestrado em Medicina e Saúde Humana – Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

1. Medicina. 2. Endometrite. 3. Pediatria. 4. Embrião. I. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública – EBMSP. II. Milena Bastos Brito. III. Título.

CDU 61

**JAMILLE RIBEIRO DE SANTANA**

**“O EFEITO DA ENDOMETRITE CRÔNICA NA MATUREZA OOCITÁRIA  
E NO DESENVOLVIMENTO E QUALIDADE DO EMBRIÃO EM CICLOS DE  
FERTILIZAÇÃO IN VITRO: UM ESTUDO DE CASO-CONTROLE.”**

Dissertação apresentada à Escola  
Bahiana de Medicina e Saúde  
Pública, como requisito parcial para  
a obtenção do Título de Mestre em  
Medicina e Saúde Humana.

Salvador, 28 de abril de 2025.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dra. Atson Carlos de Souza Fernandes  
Doutor em Morfologia  
Escola Bahiana de Medicina e Saúde pública, EBMSF

---

Dr. Gustavo Nunes de Oliveira Costa  
Doutor em Saúde Coletiva  
Universidade Salvador, UNIFACS

---

Dra. Tayná El Cury Silva  
Doutora em Medicina Molecular  
Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas

Dedico este trabalho científico aos meus pais Prof. Dr. Edivan Borges de Santana e Dra. Silvania Ribeiro Barros de Santana, ao meu irmão, Matheus Ribeiro de Santana, e à minha dinda, Célia Cardoso Cajazeira, que sempre estiveram comigo. Amo muito vocês. Ao Pró-Reitor, Prof. Dr. Atson Carlos de Souza Fernandes, ao meu Coorientador Prof. Dr. Gustavo Nardini Cecchino, ao Dr. Rodrigo da Rosa Filho, à Equipe Mater Prime e Mater Lab e amigos.

## RESUMO

**Introdução:** A Endometrite Crônica (EC) é uma doença inflamatória persistente no endométrio, causada por agentes bacterianos ou corpos estranhos, como dispositivos intrauterinos. Essa condição produz uma alteração edematosa na camada superficial do endométrio, prejudica a receptividade endometrial e pode resultar em infertilidade, falhas recorrentes de implantação e/ou perdas gestacionais. **Objetivo:** investigar se a presença de EC influencia na maturação oocitária e no desenvolvimento e qualidade embrionária em pacientes submetidas à fertilização *in vitro* (FIV) com injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI). **Metodologia:** Trata-se de um estudo retrospectivo de caso-controle pareado, que incluiu 70 pacientes entre 28 e 46 anos de idade, submetidas a ciclos de FIV com injeção intracitoplasmática de espermatozoide no período entre abril de 2018 e setembro de 2023, e à biópsia endometrial com teste molecular para detecção de EC. As pacientes foram divididas em dois grupos: presença de EC (caso; n=35) e ausência de EC (controle; n=35). Os oócitos, zigotos e embriões foram classificados de acordo com o Consenso de Istambul e o Sistema de classificação de blastocistos de Gardner. Os embriões do terceiro dia (D3) foram classificados em boa ou baixa qualidade, conforme o Consenso da ASEBIR (*Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción*). A qualidade dos blastocistos foi categorizada pelo sistema simplificado de pontuação de embriões SART. **Resultados:** Foram coletados 472 oócitos no grupo sem EC e 435 oócitos no grupo com EC ( $p = 0,343$ ). A maturação dos oócitos em metáfase II foi de 73% no grupo de mulheres sem EC e 72% no grupo de mulheres com EC ( $p = 0,544$ ). As taxas de fertilização foram de 83% e 81% ( $p = 0,767$ ), respectivamente. A proporção de embriões no D3 nos dois grupos foi idêntica (99%;  $p = 0,158$ ). Desses embriões de D3, 81% do grupo sem EC apresentaram boa qualidade, enquanto isto aconteceu em 74% no grupo com EC ( $p = 0,227$ ). A taxa de blastocistos formados (5º e 6º dia) foi de 60% no grupo sem EC e 53% no grupo com EC ( $p = 0,040$ ). Entre os blastocistos formados, 42% de boa qualidade no grupo controle versus 40% no grupo casos ( $p = 0,535$ ), enquanto 48% versus 47% apresentaram qualidade moderada ( $p = 0,995$ ), e 9% e 12% qualidade ruim ( $p = 0,607$ ), respectivamente. **Conclusão:** a EC demonstrou não comprometer a maturação oocitária nem a qualidade e o desenvolvimento embrionário no contexto de FIV com ICSI.

**Palavras-Chave:** Endometrite. Qualidade. Desenvolvimento. Oócito. Embrião.

## ABSTRACT

**Introduction:** Chronic Endometritis (CE) is a persistent inflammatory disease of the endometrium, caused by bacterial agents or foreign bodies such as intrauterine devices. This condition leads to edematous alterations in the superficial layer of the endometrium, impairing endometrial receptivity and potentially resulting in infertility, recurrent implantation failure, and/or pregnancy loss. **Objective:** To investigate whether the presence of Chronic Endometritis influences oocyte maturation, as well as embryonic development and quality, in patients undergoing in vitro fertilization (IVF) with intracytoplasmic sperm injection (ICSI). **Methodology:** This is a retrospective matched case-control study including 70 patients, aged between 28 and 46 years, who underwent IVF cycles with ICSI between April 2018 and September 2023, and endometrial biopsy for molecular testing to detect CE. Patients were divided into two groups: those with CE (case group; n=35) and those without CE (control group; n=35). Oocytes, zygotes, and embryos were classified according to the Istanbul Consensus and the Gardner blastocyst grading system. Day 3 (D3) embryos were categorized as either good or poor quality based on the ASEBIR (Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción) consensus. Blastocyst quality was assessed using the simplified embryo grading system by SART. **Results:** A total of 472 oocytes were retrieved in the CE-negative group and 435 in the CE-positive group ( $p = 0,343$ ). Oocyte maturation to metaphase II was 73% in the CE-negative group and 72% in the CE-positive group ( $p = 0,544$ ). Fertilization rates were 83% and 81%, respectively. The proportion of D3 embryos in both groups was identical (99%;  $p = 0,158$ ). Among these D3 embryos, 81% in the CE-negative group were of good quality, compared to 74% in the CE-positive group ( $p = 0,227$ ). The blastocyst formation rate (Day 5 and 6) was 60% in the CE-negative group and 53% in the CE-positive group ( $p = 0,040$ ). Among the formed blastocysts, 42% were of good quality in the control group and 40% in the CE-positive group ( $p = 0,535$ ), while 48% vs. 47% were of moderate quality ( $p = 0,995$ ), and 9% vs. 12% were of poor quality ( $p = 0,607$ ), respectively. **Conclusion:** CE did not compromise oocyte maturation, nor embryonic quality and development in the context of IVF with ICSI.

**Keywords:** Endometritis. Quality. Development. Oocyte. Embryo.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALICE - Análise de Endometrite Crônica Infecciosa  
AMH - Hormônio anti-mülleriano  
ASEBIR - Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción  
CD138 - Syndecan-1  
CD14 - Cluster de diferenciação 14  
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa  
DIU – Dispositivo intrauterino  
EC – Endometrite Crônica  
FIV – Fertilização in vitro  
ICSI – Injeção intracitoplasmática de espermatozoide  
GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofina  
hCG - Gonadotrofina coriônica humana  
MCI – Massa celular interna  
LH – Hormônio luteinizante  
LPS – Lipopolissacarídeo  
MD-2 – Fator de diferenciação mieloide-2  
NGS - Next-Generation Sequencing  
PGT-A – Teste genético pré-implantacional para aneuploidia  
PPOS - Estimulação ovariana com uso de progestágenos  
RT-PCR - Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase  
SART - Society for Assisted Reproductive Technology  
TE – Trofotoderma  
TLR 4 – Receptor Toll-like 4  
TRA – Tratamento de reprodução assistida  
UI – Unidades internacionais

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	9
1.1 Hipótese	11
<b>2 OBJETIVO</b>	12
2.1 Objetivo geral	12
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b>	13
3.1 Endometrite Crônica	13
3.2 Endometrite Crônica e a reprodução humana assistida	14
3.3 Pesquisas <i>in vitro</i> experimentais em animais mamíferos de grande porte contaminados e induzidos pela Endometrite Crônica	16
<b>4 METODOLOGIA</b>	20
4.1 Desenho de estudo	20
4.2 Local e período do estudo	20
4.3 População do estudo e definição da amostra	20
4.4 Critérios de inclusão e exclusão	20
4.5 Instrumentos de pesquisa	21
4.6 Definição e análise das variáveis	21
4.7 Classificações utilizadas pela pesquisadora	24
4.8 Definições das classificações	24
4.9 Definição e diagnóstico laboratorial da Endometrite Crônica	27
4.10 Análise estatística	28
4.11 Aspectos éticos	28
<b>5 RESULTADOS</b>	29
<b>6 DISCUSSÃO</b>	33
<b>7 CONCLUSÃO</b>	37
<b>REFERÊNCIAS</b>	38
<b>APÊNDICES</b>	45
Apêndice A	45
Apêndice B	46
Apêndice C	47
Apêndice D	48
Abstract E	50
<b>ANEXOS</b>	51
Anexo A	51
Anexo B	52

<b>Anexo C</b>	53
<b>Anexo D</b>	54
<b>Anexo E</b>	55
<b>Anexo F</b>	56
<b>Anexo G</b>	57
<b>Anexo H</b>	58
<b>Anexo I</b>	59

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, aspectos relacionados à microbiota uterina têm despertado crescente interesse no âmbito da medicina reprodutiva, como é o caso da Endometrite Crônica (EC). Essa condição é uma doença inflamatória persistente do revestimento endometrial, caracterizada por alterações edematosas na camada superficial do endométrio, alta densidade de células estromais, maturação dissociada entre epitélio e estroma, além da infiltração de plasmócitos estromais no endométrio<sup>1</sup>. A EC está associada à redução da receptividade endometrial, resultando em infertilidade ou perdas gestacionais, devido a padrões anormais de microbiota endometrial, alterações em subconjuntos de linfócitos e, conseqüentemente, um microambiente uterino inadequado para a implantação e desenvolvimento embrionário<sup>2</sup>.

A patogênese da EC está relacionada às alterações qualitativas e quantitativas no microbioma endometrial, com proliferação anormal de microrganismos, principalmente bactérias gram-negativas e intracelulares, como *Enterococcus faecalis*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Chlamydia*, *Escherichia coli* e *Streptococcus ssp.*<sup>3</sup>. Além disso, fatores como leiomiomas submucosos, pólipos ou uso de dispositivos intrauterinos (DIU) também podem contribuir para o desenvolvimento da EC<sup>4</sup>. Na maioria dos casos, as mulheres afetadas são assintomáticas ou oligossintomáticas, podendo apresentar sangramento uterino anormal, dispareunia, desconforto pélvico e leucorreia. A EC não é facilmente identificada através de exame ginecológico ou exame ultrassonográfico, devido à ausência de marcadores específicos<sup>4</sup>, embora possa estar associada a um endométrio fino com áreas hiperecóticas<sup>5</sup>. Por essas razões, o diagnóstico da EC muitas vezes ocorre incidentalmente durante a investigação de distúrbios ginecológicos, como infertilidade, dor pélvica crônica<sup>6</sup> ou amenorréia secundária<sup>7</sup>.

A histeroscopia desempenha um papel fundamental no diagnóstico da EC, permitindo a identificação de alterações endometriais sugestivas, como a presença de micro pólipos focais ou difusos, edema estromal, hiperemia focal, padrão em “morango” e/ou manchas hemorrágicas. Contudo, a biópsia endometrial com análise histológica continua sendo a principal ferramenta diagnóstica, onde a detecção de plasmócitos no estroma endometrial é o marcador diagnóstico central, apesar de ser inespecífico<sup>8,9</sup>.

Estudos recentes demonstraram que a coloração tradicional com hematoxilina e eosina podem não ser suficientemente precisa para identificar plasmócitos devido às semelhanças morfológicas com fibroblastos. A coloração imuno-histoquímica para CD138 mostrou-se mais confiável, reduzindo a variabilidade intra e inter observador entre patologistas na detecção de plasmócitos. Atualmente, essa técnica é amplamente utilizada para a avaliação de EC<sup>8</sup>, mas apresenta limitações, como a falta de padronização nos valores de referências e nas práticas de controle de qualidade, podendo resultar em laudos com falsos positivos ou negativos<sup>7</sup>. Por isso, ferramentas diagnósticas mais modernas, como a análise de DNA bacteriano por transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase ( RT-PCR), têm ganhado destaque, oferecendo maior precisão e confiabilidade no diagnóstico da EC<sup>7</sup>.

Apesar dos avanços, os estudos sobre a EC permanecem escassos, deixando uma lacuna no entendimento sobre os reais impactos dessa condição, especialmente na população de mulheres inférteis. Sendo assim, a presente pesquisa busca investigar a relação entre a EC e a qualidade de oócitos e embriões em mulheres submetidas a tratamentos de reprodução assistida de alta complexidade.

Nas últimas décadas, a EC tem ganhado notoriedade no meio científico devido à sua potencial associação com problemas reprodutivos. Ampliar o conhecimento sobre essa condição é fundamental para o avanço da medicina reprodutiva. Portanto, este estudo é relevante ao avaliar o impacto da EC na qualidade oocitária, na morfologia e no desenvolvimento embrionário, contribuindo para uma melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos dessa condição e suas possíveis consequências nos tratamentos de fertilização *in vitro* com injeção intracitoplasmática de espermatozoide (FIV-ICSI).

Até o momento não foram encontrados nas fontes pesquisadas, trabalhos científicos que associem EC à qualidade de oócitos e desenvolvimento embrionário em seres humanos, apenas estudos experimentais *in vitro* de materiais biológicos provenientes de animais grandes porte, por isso, trata-se de um estudo inédito, servindo como base para futuras investigações.

## 1.1 Hipótese

A Endometrite Crônica afeta a qualidade e quantidade dos oócitos e embriões nos ciclos de fertilização *in vitro*.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

Investigar se a presença de Endometrite Crônica influencia na maturação oocitária e no desenvolvimento e qualidade embrionária em pacientes submetidas à fertilização *in vitro*.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Endometrite Crônica

A Endometrite Crônica (EC) é uma inflamação persistente do revestimento da cavidade interna uterina. No entanto, como o trato genital superior é anatomicamente um *continuum*, o processo inflamatório frequentemente envolve tanto a mucosa endocervical quanto a endossalpingeana. Na maioria dos casos, a EC é causada por alterações no microbioma endometrial normal, decorrentes da proliferação de patógenos bacterianos<sup>2</sup>. Entretanto, outras causas também estão associadas, como leiomiomas submucosos, pólipos ou corpos estranhos (por exemplo, dispositivos intrauterinos - DIUs)<sup>4</sup>.

Os sintomas da EC geralmente são leves e inespecíficos, incluindo sangramento uterino disfuncional, dor pélvica e dispareunia, embora a maioria das pacientes seja assintomática. Estudos recentes indicam que a EC interfere em gestações espontâneas e induzidas por tratamento de reprodução assistida (TRA), sendo associada a infertilidade, falhas de TRA, abortos recorrentes, falhas repetidas de implantação embrionária e outras complicações obstétricas<sup>10</sup>. Evidências sugerem que episódios anteriores de sangramento menstrual prolongado, histórico de abortos ou obstrução tubária estejam associados à patogênese da EC e configuram fatores de risco independentes para EC<sup>10</sup>. Dados da literatura apontam que a EC pode prejudicar a reprodução ao alterar a receptividade endometrial e interferir na fecundação. No contexto da EC, a receptividade endometrial comprometida resulta de múltiplas alterações, incluindo transformações estruturais na superfície endometrial e na arquitetura da mucosa<sup>1</sup>, podendo evoluir para fibrose, cicatrizes e calcificações<sup>5</sup>.

É importante destacar que a EC é caracterizada principalmente pela presença da inflamação. Apesar de os achados histopatológicos serem bem definidos e classificados, a via fisiopatológica ainda não está completamente elucidada<sup>6</sup>. Estudos concordam, no entanto, que a EC exerce um efeito prejudicial na implantação e no desenvolvimento inicial do embrião, tanto em gestações naturais quanto em gestações induzidas por TRA<sup>3</sup>.

Nos últimos anos, a EC tem despertado crescente interesse na medicina reprodutiva. Um estudo relatou os efeitos da EC e da antibioticoterapia nos

resultados reprodutivos da fertilização *in vitro* (FIV) como o tratamento da inflamação, principalmente em pacientes que sofreram abortos<sup>11</sup>. No entanto, ainda não está claro como o tratamento com antibióticos altera o perfil microbiano endometrial em pacientes com EC<sup>8</sup>.

A implantação embrionária é resultado de uma complexa interação entre o embrião e o endométrio. Diferentes vias de sinalização participam desse processo, e um endométrio funcional é essencial para o sucesso da implantação. Nesse contexto, a EC pode alterar a capacidade endometrial de alcançar uma implantação bem sucedida<sup>12</sup>.

A secreção alterada de citocinas induz mudanças no recrutamento de leucócitos, afetando a contratilidade uterina, a decidualização do endométrio, sua receptividade e vascularização<sup>13</sup>. A EC compromete a receptividade do endométrio devido a um padrão anormal de infiltração linfocitária, resultando em um microambiente endometrial inadequado<sup>3</sup>.

O uso da histopatologia através da detecção de plasmócitos em amostras endometriais é uma das principais ferramentas no diagnóstico de EC<sup>14</sup>. A expressão do marcador CD138, normalmente observada na superfície de células epiteliais maduras, também foi detectada em tecidos estromais em desenvolvimento. Embora útil, o exame bacteriológico local isolado geralmente não é suficiente para o diagnóstico de EC<sup>15</sup>.

Tecnologias mais modernas, como o teste RT-PCR, têm sido utilizadas para otimizar o diagnóstico da EC. Esse teste permite a detecção qualitativa e quantitativa do RNA bacteriano associado à doença, oferecendo maior precisão diagnóstica<sup>16</sup>.

### **3.2 Endometrite Crônica e a reprodução humana assistida**

Estudos relevantes demonstraram que a incidência de EC em pacientes inférteis varia de 0,2 a 46%<sup>17</sup>, enquanto sua prevalência oscila entre 2,8–56,8%<sup>18</sup>. Dados recentes indicam uma associação significativa entre EC e falha reprodutiva. A EC foi identificada em até 30% das pacientes com falhas repetidas de implantação após FIV, em até 28% das pacientes com infertilidade sem causa aparente e em até 12% das pacientes com abortos recorrentes inexplicados<sup>17</sup>. Além disso, a EC é altamente prevalente entre mulheres inférteis sem diagnóstico prévio (de 40,7 a 55,7%), falhas recorrentes em ciclos de FIV (de 13,95 a 57,55%) e perdas

gestacionais precoces e recorrentes (de 42,9 a 56%)<sup>19</sup>. Um estudo recente reforça que a EC é um achado comum em mulheres com falhas repetidas de implantação embrionária<sup>20</sup>.

Outro estudo demonstrou que a EC foi detectada em 30,3% das pacientes com falhas repetidas de implantação, concluindo que, diante dessas falhas, a EC deve ser investigada<sup>10</sup>. Além disso, mulheres diagnosticadas com EC apresentaram menores taxas de implantação (11,5%) após um ciclo de FIV<sup>17</sup>. Um número crescente de estudos aponta que a EC compromete a implantação embrionária e reduz as taxas de gravidez<sup>2</sup>.

Um estudo retrospectivo<sup>21</sup> evidenciou que a EC representa um fator de risco independente para aborto espontâneo, levando a redução na taxa de parto a termo e nascido vivo em pacientes inférteis. A EC induz alterações na janela de implantação, afeta a sincronização entre o embrião e o endométrio e influencia diretamente as taxas de implantação e gravidez. A inflamação da decídua, frequentemente associada à EC, tem sido relacionada ao aumento da taxa de abortos espontâneos<sup>21</sup>.

Outro achado relevante é que, em 85,7% dos casos, foram observadas alterações vasculares semelhantes aos vasos de paredes espessas nos eixos vasculares de pólipos endometriais, enquanto a EC sem alterações vasculares ocorre em apenas 7,3% dos casos<sup>22</sup>. Além disso, mulheres com EC apresentam padrões ondulatórios de contrações uterinas tanto na fase periovulatória quanto na fase lútea média. Essa contratilidade uterina anômala e a “irritabilidade” da parede endometrial no momento da implantação podem prejudicar a receptividade, contribuindo para os sintomas clínicos da EC<sup>23</sup>.

A EC ainda representa um desafio diagnóstico. O marcador CD138 apresenta sensibilidade de 66,7% e especificidade de 48,9% para detecção de plasmócitos em biópsias endometriais. Esses valores são semelhantes aos encontrados em estudos que avaliaram a coloração imuno-histoquímica do Syndecan-1 (CD138) de biópsias endometriais em mulheres com perdas gestacionais repetidas. Embora o CD138 ofereça maior sensibilidade para o diagnóstico da EC em comparação com a coloração por hematoxilina e eosina, sua especificidade ainda é considerada baixa<sup>24</sup>. Recentemente, novas tecnologias baseadas em biologia molecular têm sido desenvolvidas para aprimorar o diagnóstico da EC. Entre elas, destacam-se plataformas de pesquisa microbiana endometrial que usam extração de DNA e RT-

PCR para a detecção direta de patógenos causadores de EC. Um exemplo é a análise de Endometrite Crônica Infecciosa (teste de ALICE da empresa Igenomix<sup>□</sup>)<sup>25</sup>.

Estudos conduzidos por Inmaculada Moreno *et al.* (2022)<sup>26</sup> buscaram analisar a associação entre o microbioma endometrial e a infertilidade, utilizando um teste semelhante ao ALICE. Esse método envolve a coleta de uma biópsia de tecidos e/ou fluídos endometriais, extração de DNA e amplificação do gene ribossômico 16S via RT-PCR. Sete das 9 regiões hipervariáveis (V2, V3, V4, V6, V7, V8 e V9) são preparadas em bibliotecas e sequenciadas por *Next-Generation Sequencing* (NGS), atingindo sensibilidade e especificidade superiores a 90%. Essa abordagem possibilita análises mais precisas da variabilidade bacteriana e um diagnóstico mais assertivo de EC<sup>26</sup>.

### **3.3 Pesquisas *in vitro* experimentais em animais mamíferos de grande porte contaminados e induzidos pela Endometrite Crônica**

Modificações no eixo hipotálamo-hipófise-ovariano em animais mamíferos de grande porte:

Estudos demonstraram que a EC pode impactar significativamente o eixo hipotálamo-hipófise-ovariano, resultando em disfunções hormonais. Peter *et al.* (1989)<sup>27</sup>, relataram que a redução da pulsatilidade do hormônio luteinizante (LH) pode desregular esse eixo, levando a modificações estruturais e morfológicas nos ovários, inibindo o crescimento folicular. Outros estudos confirmaram essa relação, destacando que mediadores inflamatórios da EC afetam diretamente a fisiologia do eixo reprodutivo<sup>28, 29</sup>.

Fisiopatogenia de origem bacteriana na produção de LPS no processo de maturação oocitária na EC em animais mamíferos de grande porte:

As bactérias gram negativas estão frequentemente associadas à EC<sup>30</sup> e produzem toxinas que formam “poros” nas células do endométrio, desencadeando processos inflamatórios<sup>31</sup>. Essas inflamações, mediadas por prostaglandinas, citocinas e lipopolissacarídeo (LPS), atingem os ovários através da circulação sanguínea, prejudicando a produção hormonal, a esteroidogênese<sup>32,33</sup>, a maturação oocitária e ovulação. Como consequência, ocorrem disfunções ovarianas, redução da fertilidade e abortos recorrentes<sup>34-39</sup>.

Lipopolissacarídeos e a relação com a resistência bacteriana e o marcador de inflamação na EC em animais mamíferos de grande porte:

Os lipopolissacarídeos são moléculas de lipídios e açúcares, e são conhecidos como lipoglicanos. São componentes da membrana externa de bactérias gram negativas<sup>40</sup> e representam um importante marcador de infecção precoce. A interação dos LPS com receptores Toll-like 4 (TLR4) desencadeia uma intensa resposta inflamatória<sup>41</sup>. Além disso, os LPS formam uma barreira de permeabilidade que dificulta a ação de vários antibióticos<sup>42</sup>. Muitas bactérias produzem biofilmes, levando a apresentarem fenótipo resistente *in vivo* a várias drogas e antibióticos convencionais, aumentando a sobrevivência das mesmas<sup>43</sup>. O LPS apresenta um processo de montagem na membrana interna bacteriana, com consequente translocação para a superfície destas células<sup>44</sup>.

O LPS é o principal componente da célula bacteriana e fator de virulência, exercendo um efeito potente nas células do hospedeiro. Ele classifica as bactérias nos sorogrupos, como marcador específico de bactérias gram negativas<sup>45</sup>. Considerado uma endotoxina que se liga aos receptores de superfície celular notadamente o CD14, MD-2 e TLR4, os quais provocam uma secreção de citocinas pós inflamatórias<sup>46</sup>.

A EC ocorre no útero<sup>47</sup>, porém as artérias e veias uterinas transportam produtos bacterianos e mediadores inflamatórios do útero para os ovários<sup>48</sup>, resultando em alterações das suas funções como a desaceleração do crescimento folicular, prejudicando a ovulação e alterando a cronologia do ciclo ovariano<sup>47</sup>. Estudos indicam que agentes infecciosos podem permanecer no útero e ovários mesmo após o tratamento da doença, contribuindo para a infertilidade<sup>49</sup>. Os mediadores inflamatórios localizados no útero, especificamente no endométrio, seguem em direção ao fluido folicular e se concentram nos mesmos<sup>50</sup>. Conseqüentemente, uma diminuição na qualidade do fluido folicular, interfere na função ovariana, e conseqüentemente na fertilidade<sup>51,52</sup>, tendo sido também observado a colonização microbiana e alteração de citotocinas<sup>53</sup>.

O LPS e ações sobre o folículo ovariano em animais mamíferos de grande porte:

A secreção de LPS pelas bactérias provocam um efeito direto no folículo<sup>54,55</sup>.

Fatores como luteólise parcial devido ao LH reduzido, diminuição nos níveis de estradiol pelo folículo e de progesterona pelo corpo lúteo, mesmo em quadros leves<sup>50</sup>, leva a uma diminuição do crescimento folicular, não maturação do oócito, entre outros problemas<sup>56</sup>. Segundo Herath *et al.* (2007)<sup>57</sup>, assim como no endométrio, foram encontrados macrófagos na parede dos folículos e no corpo lúteo, confirmando a migração de células imunes nos casos de EC.

Células da granulosa oocitária e receptores inflamatórios da Endometrite Crônica em animais mamíferos de grande porte:

As células da granulosa desempenham um papel crucial na detecção de infecções bacterianas, uma vez que expressam receptores como TLR4, conjunto com cluster de diferenciação 14 (CD14) e o fator de diferenciação mielóide-2 (MD-2). A ativação desses receptores reduz a produção de estradiol<sup>51,58,59</sup> e desencadeia uma resposta imune contra as bactérias gram negativas<sup>63</sup>. Esse processo interfere na

meiose oocitária<sup>60</sup> alterando o transcriptoma das células da granulosa mesmo após a resolução da doença<sup>49</sup>. Segundo Bromfield & Sheldon (2011)<sup>60</sup>, a maturação do complexo cumulus oophorus necessária para a ovulação também é perturbada, induzindo a expansão do cumulus na ausência de sinalização de gonadotrofinas.

Endometrite Crônica e alterações oocitária em animais mamíferos de grande porte:

Por se tratar de uma doença crônica, de tempo prolongado, a inflamação persistente promove danos aos gametas e zigotos, conseqüentemente aos ciclos reprodutivos<sup>61</sup>. Durante a gametogênese, a meiose é interrompida na metáfase II, prejudicando a formação do núcleo, citoplasma oocitário, ovulação, fertilização e divisões celulares pré-embriônicas<sup>60,62,63,64</sup>.

A EC pode alterar o ambiente uterino e a função ovariana<sup>65,66</sup>, diminuindo a qualidade e quantidade de oócitos, com menos zigotos clivados que desenvolvem até o estágio de mórula<sup>47</sup>. A presença de LPS interfere na maturação do oócito e no seu desenvolvimento, aumentando a falha na quebra da vesícula germinativa e formação anormal do fuso, extrusão do primeiro corpúsculo polar, e metilação do DNA, favorecendo a apoptose<sup>60,67,68</sup>.

Existem diferentes abordagens para tratar a EC, mas é preciso que haja

tempo perdurável para restaurar a qualidade dos oócitos e folículos, já que a EC repercute de forma negativa na qualidade dos oócitos e pode deixar sequelas<sup>47</sup>.

Endometrite Crônica desenvolvimento embrionário em animais de grande porte:

A EC pode comprometer o desenvolvimento embrionário desde o estágio de mórula até a formação do blastocisto<sup>47</sup>, afetando inclusive sua sobrevivência devido a um aumento no índice de apoptose secundário à multinucleação<sup>50,62</sup>. Segundo Kodaman *et al.* (2004)<sup>68</sup>, a presença de fluídos inflamatórios nas trompas e no endométrio interferem na interação embrião-endométrio, dificultando a implantação. Dessa forma, a doença reduz significativamente a viabilidade embrionária e compromete a eficiência reprodutiva dos animais afetados.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Desenho de estudo**

Trata-se de um estudo piloto, observacional, longitudinal, quantitativo, retrospectivo de caso-controle, pareado e que investigou se há uma associação entre a Endometrite Crônica e o impacto na maturação do oócito e desenvolvimento e qualidade do embrião.

O tamanho da amostra foi determinado por amostragem de conveniência, a partir dos prontuários disponíveis. O alto custo do teste molecular (teste de ALICE) e o fato do teste não ser coberto por planos de saúde, ainda é um fator limitante de acesso ao teste considerado de alta precisão, o que restringe o tamanho amostral.

### **4.2 Local e período do estudo**

A coleta de dados foi realizada na Clínica Mater Prime e no Laboratório de Reprodução Humana Assistida Mater Lab, ambos localizados na cidade de São Paulo no período de 16 de dezembro de 2023 e 14 de março de 2024.

### **4.3 População do estudo e definição da amostra**

Foram incluídas 70 mulheres (35 sem Endometrite Crônica e 35 com Endometrite Crônica) entre 28 e 46 anos que foram submetidas ao teste ALICE entre junho de 2018 a novembro de 2023 e à fertilização *in vitro* com injeção intracitoplasmática de espermatozoides entre abril de 2018 e setembro de 2023, com o objetivo de avaliar a maturação oocitária e desenvolvimento e qualidade dos embriões de mulheres com e sem a patologia.

### **4.4 Critérios de inclusão e exclusão**

Os critérios de inclusão estabelecidos para o grupo de Endometrite Crônica foram mulheres entre 28 e 46 anos de idade que realizaram a fertilização *in vitro* com injeção intracitoplasmática de espermatozoide; Oócitos, embriões e blastocistos homólogos; Embriões a fresco e pacientes com o diagnóstico positivo para Endometrite Crônica pelo teste molecular (teste de ALICE) após biópsia endometrial.

No grupo sem Endometrite Crônica foram selecionadas mulheres entre 28 e

46 anos de idade que realizaram a fertilização *in vitro* com injeção intracitoplasmática de espermatozoide; Oócitos, embriões e blastocistos homólogos; Embriões a fresco e pacientes com o diagnóstico para Endometrite Crônica descartado pelo teste molecular (teste de ALICE) após biópsia endometrial.

Os critérios de exclusão determinados para os dois grupos analisados foram prontuários incompletos; Pacientes com intervalo de tempo com mais um ano entre o diagnóstico de Endometrite Crônica e fertilização *in vitro* com injeção intracitoplasmática de espermatozoide; Oócitos, embriões e blastocistos desvitrificados e blastocistos em estágios iniciais (classificados como B1 e B2 - visto que não são utilizados de rotina nem para transferência de embrião e nem para criopreservação ou biópsia embrionária).

#### **4.5 Instrumentos de pesquisa**

Os dados foram extraídos pela pesquisadora a partir dos prontuários e laudos digitais disponibilizados, contendo informações sobre o teste de ALICE, os quais foram armazenados no software Redcap, transferidos para o Excel versão 2504 e, posteriormente, exportados para o software SPSS para análise.

#### **4.6 Definição e análise das variáveis**

Definição das variáveis:

As variáveis selecionadas para o estudo envolveram dados clínicos/ginecológicos relacionados à fertilidade e dados laboratoriais do processo de FIV, sendo eles:

Dados clínicos/ginecológicos: Dosagem de hormônio anti-mülleriano (AMH) - exame de sangue para avaliar a reserva ovariana da mulher. Este exame possui validação com alta sensibilidade e especificidade em todos os testes homologados; Contagem de folículos antrais - realizado por profissionais capacitados entre o segundo e terceiro dia da menstruação; Fator de infertilidade feminina e masculina; Idade da mulher e do parceiro; Dias de indução ovariana; Dose total de gonadotrofina utilizada para o estímulo ovariano; Protocolo análogo / antagonista / estimulação ovariana com uso de progestágenos (PPOS) e tipo de trigger utilizado - gonadotrofina coriônica humana (hCG) / análogo-agonista do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) / dual trigger (hCG + GnRH)

Dados laboratoriais: Fertilização *in vitro* com injeção intracitoplasmática de espermatozoide (FIV-ICSI), maturação oocitária e desenvolvimento / qualidade dos embriões nos estágios de D3 e blastocistos.

O presente estudo analisou os prontuários das mulheres que foram submetidas ao teste molecular (teste de ALICE) detectando as bactérias gram-positivas e gram-negativas causadoras da Endometrite Crônica como *Enterobacteriaceae*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *Ureaplasma*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycoplasma genitalium*, *Streptococcus agalactiae group B/ Streptococcus viridan* e/ou *Staphylococcus aureus*, dessa forma, identificando a presença ou ausência de EC nas pacientes avaliadas.

Foram avaliados os aspectos laboratoriais relacionados à maturação oocitária e desenvolvimento e qualidade dos embriões até a fase de blastocistos como demonstrado no Quadro 1:

Quadro 1. Análise diária dos parâmetros laboratoriais dos oócitos, zigotos, embriões e blastocistos de mulheres sem e com Endometrite Crônica.

Dia 0 (Oócitos)	Oócitos degenerados; anômalos; dismorfismo; membrana rota; vesícula germinativa; metáfase I; metáfase II; alterações no citoplasma; alterações na zona pelúcida.
Dia 1 (Zigotos)	Células degeneradas; ausência de desenvolvimento; fertilização (zigotos); falha de fertilização; presença de 2 células; 1 pronúcleo; 3 pronúcleos; pronúcleo não visualizado; 1 corpúsculo polar; 2 corpúsculos polares.

Quadro 1. Análise diária dos parâmetros laboratoriais dos oócitos, zigotos, embriões e blastocistos de mulheres sem e com Endometrite Crônica (continuação).

Dia 3 (Embriões)	Falha de fertilização; células degeneradas; ausência de desenvolvimento; formação de mórula; embriões que conseguiram se desenvolver; embriões com boa qualidade; embriões com qualidade ruim; compactação inicial, compactação parcial ou compactação completa
Dias 5 e 6 (Blastocistos)	Presença de blastocisto; falha de desenvolvimento até o estágio de blastocisto; qualidade boa, regular ou ruim; compactação inicial, parcial ou completa; e parada no estágio de mórula.

Os embriões foram cultivados em grupos, em meio contínuo da Global (CooperSurgical<sup>→</sup>) ou CSCm NX (Irvine<sup>→</sup>), a 37°C graus, com óleo de alta densidade da Kitazato<sup>→</sup> ou Global<sup>→</sup> e incubadora da KSystem G210 ou Minc Cook.

Análise das variáveis:

Nos Quadros 2 e 3, são descritas as variáveis que são consideradas favoráveis e desfavoráveis para cada estágio do desenvolvimento oocitário e embrionário, sendo considerado variáveis favoráveis relacionados à boa qualidade e desenvolvimento adequado do oócito e do embrião:

Quadro 2. Variáveis favoráveis.

Dia 0 (Oócitos)	Oócitos em metáfase II
Dia 1 (Zigotos)	Fertilização (zigotos)
Dia 3 (Embriões)	Embriões que conseguiram se desenvolver com classificação top quality ou de boa qualidade
Dias 5 e 6 (Blastocistos)	Presença de blastocisto com boa qualidade ou qualidade regular

Quadro 3. Variáveis desfavoráveis.

Dia 0	Oócitos degenerados; anômalos; dismorfismo, membrana rota; vesícula germinativa; metáfase I; alterações no citoplasma; alterações na zona pelúcida.
Dia 1	Células degeneradas; ausência de desenvolvimento; falha de fertilização; presença de 2 células; 1 pronúcleo; 3 pronúcleos; pronúcleo não visualizado; 1 corpúsculo polar; 2 corpúsculos polares.
Dia 3	Falha de fertilização; células degeneradas; ausência de desenvolvimento; formação de mórula; qualidade ruim; compactação inicial, parcial ou completa.
Dias 5 e 6	Falha de desenvolvimento até o estágio de blastocisto; qualidade ruim; compactação inicial, parcial ou completa; e parada no estágio de mórula.

#### 4.7 Classificações utilizadas pela pesquisadora

Para permitir a comparação entre grupos, a maturação dos oócitos e o desenvolvimento e a qualidade dos embriões até o estágio de blastocisto (do dia 0 ao dia 6) foram analisados de acordo com:

Consenso de Istambul (oócitos, zigotos, embriões)<sup>18</sup>;

Consenso de ASEBIR (qualidade dos embriões no D3)<sup>18</sup>;

Sistema de classificação de blastocistos de Gardner (blastocistos)<sup>18</sup> ;

Sistema simplificado de pontuação de blastocistos pela Society for Assisted Reproductive Technology - SART (qualidade do blastocisto)<sup>69</sup>.

#### 4.8 Definições das classificações

Consenso de Istambul

O Consenso de Istambul define padrões para avaliar os oócitos, zigotos, embriões e mórulas, ressaltando certas características morfológicas e como eles se desenvolvem nos dias subsequentes à fertilização<sup>18</sup>. Este Consenso uniformiza as

avaliações, facilitando comparações exatas entre diversos laboratórios e pesquisas<sup>18</sup>, destacando a necessidade de observar aspectos morfológicos do desenvolvimento, conforme apresentado no Quadro 4:

Quadro 4. Parâmetros morfológicos intra e extracelulares dos oócitos, zigotos e embriões de acordo com o Consenso de Istambul

Dia 0 (Oócito)	Complexo cúmulos oophurus; vacuólos; espaço perivitelínico; corpos refratários; grânulações; formato; tamanho; cor folicular; maturação oocitária (vesícula germinativa, metáfase I, metáfase II); tamanho do oócito; aglomerado de retículo endoplasmático liso; zona pelúcida; citoplasma; e corpúsculo polar.
Dia 1 Fertilização (Zigoto)	Tamanho do zigoto; posição do pronúcleo; corpos precursores nucleolares; halo citoplasmático; e número de pronúcleos.
Dia 3 (Embrião)	Simetria (número de células); clivagem precoce; fragmentação; tamanho da célula; multinucleação; clivagem anormal; e compactação.
Dia 4 (Mórula)	Cavitação e compactação; simetria; e quantidade de blastômeros nos embriões durante a fase de clivagem.

Consenso de ASEBIR (Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción)

O sistema de classificação desenvolvido pela *Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción* (ASEBIR) é usado na Espanha para avaliar a qualidade dos oócitos, zigotos e embriões<sup>18</sup>. Essas avaliações são baseadas em diversos critérios morfológicos que abrangem tanto as características do citoplasma quanto extracitoplasmática, como a morfologia dos pronúcleos nos zigotos, e aspectos relacionados à simetria (células), fragmentação (grau) e multinucleação nos embriões durante os estágios de clivagem, sendo agrupada em quatro categorias<sup>18</sup>, como mostrado o Quadro 5:

Quadro 5. Parâmetros morfológicos para definir a qualidade dos oócitos, zigotos e embriões de acordo com o Consenso de ASEBIR (Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción)

≥ 6 células	Grau A	Top quality
	Grau B	Qualidade boa
< 6 células	Grau C	Qualidade prejudicada
	Grau D	Qualidade ruim; inapto (inclui embriões multinucleados)

Sistema de classificação de blastocistos de Gardner

Desenvolvido por David Gardner e Mark Schoolcraft<sup>18</sup>, é utilizado para classificar blastocistos. Categoriza o embrião de acordo com o estágio de expansão da blastocele em uma escala de 1 a 6, além da quantidade de células e a adesão da massa celular interna (MCI) e do trofotoderma (TE) com notas que vão de A (superior) a C (inferior), como descrito nos Quadros 6, 7 e 8. O objetivo principal é estimar o potencial embrionário de implantação.

Quadro 6. Blastocele de acordo com Sistema de classificação de blastocistos de Gardner

Classificação	Blastocele
1	Blastocisto inicial com cavidade <50%
2	Blastocisto com cavidade ocupando menos de 50%
3	Blastocisto com cavidade completa
4	Blastocisto expandido. Embrião aumenta com zona pelúcida fina.

Quadro 7. Massa celular interna de acordo com Sistema de classificação de blastocistos de Gardner

Classificação	Massa celular interna
A	Células numerosas aderidas
B	Muitas células, pouco aderidas
C	Poucas células

Quadro 8. Trofocitoderma de acordo com Sistema de classificação de blastocistos de Gardner

Classificação	Trofocitoderma
A	Muitas células organizadas
B	Muitas células pouco aderidas
C	Poucas células

#### Sistema simplificado de pontuação de embriões - SART

O sistema simplificado de pontuação de embriões desenvolvido pela Society for Assisted Reproductive Technology (SART) é adotado para avaliar a qualidade de embriões nos estágios de clivagem e blastocistos. Essa classificação divide os blastocistos em três categorias principais: bom, regular e ruim, como demonstrado no Quadro 9. Essa categorização é fundamentada na observação da morfologia do blastocisto a partir da classificação de Gardner<sup>18</sup>, em critérios como o número de células, o grau de fragmentação, a simetria dos blastômeros nos estágios iniciais, bem como a qualidade da MCI e do trofocitoderma (TE) nos estágios de blastocisto<sup>69</sup>.

Quadro 9. Parâmetros morfológicos para definir a qualidade dos blastocistos de acordo com o Sistema simplificado de pontuação de embriões - SART

Classificação de Gardner (massa celular interna + trofocitoderma)	SART
AA ou AB	Blastocisto de boa qualidade (SART 1)
BA, BB ou BC	Blastocisto de qualidade regular (SART 2)
CB ou CC	Blastocisto de qualidade ruim (SART 3)

#### 4.9 Definição e diagnóstico laboratorial da Endometrite Crônica

O teste de ALICE é um exame molecular capaz de detectar qualitativa e quantitativamente o RNA bacteriano associado à Endometrite Crônica<sup>16</sup>. O diagnóstico é realizado por meio de uma biópsia endometrial guiada por histeroscopia, permitindo a obtenção de amostras de tecidos e fluidos

endometriais<sup>26</sup>. O material biológico coletado passa por um processo de extração de DNA, seguido da amplificação do gene ribossômico 16S bacteriano via RT-PCR<sup>25</sup>. Posteriormente, o sequenciamento de nova geração (NGS) possibilita a análise de 7 das 9 regiões hipervariáveis, aumentando a precisão diagnóstica<sup>26</sup>.

#### **4.10 Análise estatística**

Os testes de Kolmogorov-Smirnov e/ou Shapiro-Wilk foram utilizados para checar se as variáveis analisadas apresentavam distribuição normal ou não. Os testes paramétricos T-Student ou ANOVA foram utilizados para comparar as variáveis contínuas com distribuição normal. Já o teste não paramétrico de Mann-Whitney U foi utilizado para as variáveis contínuas que não seguiam uma distribuição normal. No caso das variáveis categóricas, o teste exato de Fisher e qui-quadrado foram aplicados. Todas as análises estatísticas foram realizadas através do software SPSS v24.

#### **4.11 Aspectos éticos**

Este estudo atendeu às normas para realização de pesquisa em seres humanos, de acordo com as resoluções 466/12 e 510/2016, do Conselho Nacional de Saúde. Além disso, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) com o número CAAE: 75097923.7.0000.5544.

## 5 RESULTADOS

Inicialmente, 114 prontuários foram identificados, porém 44 foram excluídos por: registros incompletos; intervalo de tempo entre o diagnóstico de EC e a FIV superior a um ano; oócitos, embriões e blastocistos desvitrificados; e blastocistos “jovens” (classificados como B1 e B2). Sendo assim, a população totalizou 70 mulheres entre 28 e 46 anos de idade. Os parceiros das pacientes possuíam entre 27 e 68 anos de idade.

Conforme a tabela 1, os dados apresentaram que 34 (97,1%) mulheres sem EC e 29 (82,9%) das mulheres com EC possuem algum outro fator de infertilidade ( $p = 0,776$ ). Mulheres sem EC possuem 15 (42,9%) parceiros com infertilidade e mulheres com EC possuem 18 (51,4%) parceiros com o diagnóstico de infertilidade masculina ( $p = 0,600$ ).

A média de idade das mulheres sem EC foi de 37,4 anos versus 36,1 anos de idade comparado àquelas com EC ( $p = 0,109$ ). Os parceiros apresentaram, em média, 39,9 anos de idade no grupo sem EC e 40,5 anos de idade no grupo com EC ( $p = 0,512$ ).

A contagem dos folículos antrais mostrou uma média de 13 folículos no grupo controle e 14 folículos nas mulheres com EC ( $p = 0,940$ ). Já a dosagem do hormônio antimülleriano, em média, foi de 1,79 ng/ml no grupo controle e 2,20 ng/ml no grupo caso ( $p = 0,637$ ).

A duração média do estímulo ovariano no grupo controle foi de 12 dias, nos quais as mulheres receberam uma média de 2667 UI de gonadotrofinas versus 11 dias de estímulo e 2350 UI de gonadotrofinas nas mulheres com EC ( $p = 0,205$ ;  $p = 0,108$ , respectivamente). O protocolo curto com antagonista do GnRH predominou em ambos os grupos, sendo aplicado em 26 (74,3%) mulheres sem EC e em 33 (94,3%) mulheres com EC ( $p = 0,022$ ). O protocolo PPOS foi utilizado apenas em 7 (20%) mulheres sem EC ( $p = 0,006$ ). Por fim, protocolo longo com análogo de GnRH foi utilizado em 2 (5,7%) mulheres sem EC e 1 (2,9%) com mulher EC ( $p = 0,500$ ).

Para realizar a maturação final dos oócitos, o uso do dual trigger no grupo sem EC foi de 16 (45,7%) mulheres em comparação a 11 (31,4%) mulheres do grupo com EC ( $p = 0,220$ ). O uso do análogo agonista do GnRH foi aplicado em 10 (28,6%) mulheres do grupo sem EC e 13 (37,1%) do grupo com EC ( $p = 0,445$ ). Já o hCG foi utilizado em 9 (25,7%) mulheres do grupo sem EC e em 10 (28,6%)

mulheres do grupo com EC ( $p = 0,788$ ).

Apenas os protocolos PPOS e antagonista apresentaram diferença estatisticamente significativa, devido ao fato do protocolo de PPOS ter sido descrito e adotado mais recentemente nas clínicas de reprodução humana. Esse protocolo mostra taxas de sucesso comparáveis aos protocolos clássicos com agonista ou antagonista.

Tabela 1: Dados clínicos de mulheres sem e com Endometrite Crônica que realizaram FIV.

	Sem EC N (%)	Com EC N (%)	$p$ -valor
Infertilidade feminina	34 (97,1%)	29 (82,9%)	0,776*
Infertilidade masculina	15 (42,9%)	18 (51,4%)	0,600*
Idade da mulher (média)	37,4	36,1	0,109**
Idade do parceiro (média)	39,9	40,5	0,512***
Contagem dos folículos antrais (média)	13	14	0,940***
Dosagem do AMH (média)	1,79	2,20	0,637***
Dias de estímulo ovariano (média)	12	11	0,205***
Dosagem total de gonadotrofina (média)	2667	2350	0,108**
Protocolo utilizado			
Análogo	2 (5,7%)	1 (2,9%)	0,500****
Antagonista	26 (74,3%)	33 (94,3%)	<b>0,022*</b>
PPOS	7 (20%)	- (0%)	<b>0,006****</b>
Trigger			
Dual Trigger	16 (45,7%)	11 (31,4%)	0,220*
hCG	9 (25,7%)	10 (28,6%)	0,788*
Análogo-Agonista do GnRH	10 (28,6%)	13 (37,1%)	0,445*

\* Teste Qui-Quadrado

\*\* Teste ANOVA

\*\*\* Teste Mann-Whitney

\*\*\*\* Teste exato de Fisher

Em negrito: achados estatisticamente significativos

A tabela 2 mostra que foram coletados 472 oócitos das pacientes sem EC e 435 oócitos das pacientes com EC ( $p=0,343$ ). Desses oócitos coletados, 345 (73%) no grupo sem EC e 310 (72%) no grupo com EC apresentaram oócitos maduros (metáfase II) ( $p = 0,544$ ). As taxas de fertilização foram de 83% nas mulheres sem EC e 81% naquelas com EC ( $p = 0,767$ ).

A proporção de embriões no dia 3 foi de 287 (99%) no grupo de mulheres sem EC e 250 (99%) no grupo com EC ( $p = 0,158$ ). Desses embriões, 234 (81%) foram classificados como top quality ou boa qualidade no grupo de mulheres sem EC e 184 (74%) nas mulheres com EC ( $p=0,227$ ).

A proporção de embriões que chegaram até o estágio de blastocisto foi de 171 (60%) no grupo sem EC e 134 (53%) no grupo com EC ( $p=0,040$ ). Das pacientes sem EC, 72 (42%) blastocistos foram classificados como sendo de boa qualidade, 83 (48%) blastocistos de qualidade moderada e 16 (9%) de qualidade ruim. Já nas pacientes com EC, 54 (40%) blastocistos apresentaram-se como boa qualidade, 63 (47%) blastocistos de qualidade moderada e 17 (12%) blastocistos de qualidade ruim ( $p=0,535$ ;  $p=0,995$ ;  $p=0,607$  respectivamente).

Somente o total de blastocistos apresentou diferença estatisticamente significativa.

Tabela 2: Distribuição de oócitos, fertilizações, embriões e blastocistos em mulheres sem e com Endometrite Crônica que realizaram o teste de ALICE e FIV.

	Sem EC N (%)	Com EC N (%)	$p$ -valor***
Oócitos coletados	472	435	0,343
Oócito em metáfase II	345 (73%)	310 (72%)	0,544
Fertilização (zigotos)	288 (83%)	251 (81%)	0,767
Total de embriões do dia 3	287 (99%)	250 (99%)	0,158
Embriões top quality/boa qualidade	234 (81%)	184 (74%)	0,227

Tabela 2: Distribuição de óocitos, fertilizações, embriões e blastocistos em mulheres sem e com Endometrite Crônica que realizaram o teste de ALICE e FIV (continuação).

	Sem EC N (%)	Com EC N (%)	p-valor***
Total de blastocistos dos dias 5 e 6	171 (60%)	134 (53%)	<b>0,040</b>
SART 1 (boa qualidade)	72 (42%)	54 (40%)	0,535
SART 2 (qualidade regular)	83 (48%)	63 (47%)	0,995
SART 3 (qualidade ruim)	16 (9%)	17 (12%)	0,607

\*\*\*Teste Mann-Whitney

Em negrito: achados estatisticamente significativos

## 6 DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que a presença da EC, diagnosticada por um teste com alta sensibilidade e especificidade maiores que 90%, envolvendo o RT-PCR, o *Next- Generation Sequencing* e análise das hipervariáveis, como é o caso do teste molecular ALICE, não interfere na maturação oocitária, nem no desenvolvimento e qualidade embrionária tanto para embriões no dia 3, quanto em estágio de blastocisto.

No dia 0 (dia da punção ovariana), após a denudação dos óvulos seguida da avaliação da maturação oocitária e da injeção intracitoplasmática de espermatozoide, foi verificado um número similar oócitos totais e oócitos maduros (MII) de pacientes com e sem EC, o que sugere dizer que a presença da patologia não influenciou significativamente a função ovariana, no que diz respeito ao desenvolvimento e maturação do oócito.

Diferente do observado nesse estudo piloto, modelos experimentais em animais sugerem que a EC, através de mediadores endógenos da inflamação como prostaglandinas, citocinas e lipopolissacarídeo (LPS), prejudica a produção hormonal assim como a maturação do oócito e a ovulação<sup>34</sup>. A Endometrite Crônica é reconhecida como uma das principais causas de subfertilidade em bovinos uma vez que afeta negativamente diversas etapas do processo reprodutivo. Dentre essas, a maturação oocitária desempenha um papel crucial, sendo um pré-requisito para a fertilização bem-sucedida e o desenvolvimento embrionário inicial. Importa salientar que essa inflamação persistente do endométrio gera um ambiente uterino hostil, que pode comprometer a função ovariana e, conseqüentemente, a qualidade dos oócitos<sup>47</sup>. A análise transcriptômica de oócitos provenientes de animais estimulados com endometrite crônica também revela alterações importantes na expressão de genes relacionados à divisão celular, apoptose e reparo do DNA. Tais achados sugerem que a inflamação crônica modifica os processos moleculares intrínsecos à maturação oocitária, comprometendo sua competência para o desenvolvimento<sup>70</sup>.

Quanto à fertilização (dia 1), observou-se que não há comprometimento da proporção dos oócitos que foram fertilizados em ambos os grupos, sendo assim, as taxas dos zigotos se mantiveram similares, apresentando 02 corpúsculos polares e 02 pronúcleos (01 contendo informações genéticas do pai e outro da mãe).

Estudos *in vitro* em animais de Mackenzie J Dickson *et al.* (2020)<sup>47</sup> citam que

a Endometrite Crônica reduz a qualidade e quantidade de oócitos obtidos, consequentemente com menos zigotos clivados. De acordo com Bromfield *et al.* (2011)<sup>63</sup>, a exposição ao LPS no oócito em metáfase II resulta na perda da proteção das gonadotrofinas, afetando o desenvolvimento do novo zigoto. Segundo Sidashova *et al.* (2024)<sup>71</sup>, a EC afeta negativamente diversas etapas do processo reprodutivo. Entre essas etapas, a formação e o desenvolvimento inicial dos zigotos são vulneráveis aos efeitos adversos dessa condição inflamatória. Umer *et al.* (2022)<sup>72</sup> indicam que a inflamação uterina decorrente da EC está associada a alterações na função ovariana, incluindo a maturação dos oócitos, o que pode resultar em oócitos de menor qualidade, além de gerar uma menor formação de zigotos.

O presente estudo identificou que embriões de dia 3, de ambos os grupos, apresentaram o mesmo potencial de desenvolvimento, com quantidade e qualidade dos embriões de D3 similares entre os grupos. Apesar da Endometrite Crônica poder influenciar em alguns aspectos morfológicos dos embriões conforme descrito em alguns modelos animais, neste estudo esses achados foram refutados, indicando que os embriões conseguem superar os efeitos negativos da Endometrite Crônica e manter a qualidade embrionária.

Em pesquisas *in vitro* de modelos animais, Robert O. Gilbert (2011)<sup>50</sup> relata que a Endometrite Crônica pode afetar a progressão e o desenvolvimento embrionário até a fase de blastocisto, reduzindo também a sua sobrevivência. Conforme Dobos *et al.* (2022)<sup>73</sup>, após a fertilização, o embrião passa por divisões celulares rápidas e mudanças metabólicas que requerem um ambiente uterino e tubário estáveis e propícios. No entanto, em casos de inflamação crônica, o ambiente uterino e tubário é comprometido, o que pode levar a alterações no desenvolvimento embrionário. De acordo com Umer *et al.* (2022)<sup>72</sup>, há alteração no perfil de secreções que servem como substratos metabólicos para o embrião, privando o embrião de nutrientes essenciais para sua progressão até os estágios mais avançados, como mórula e blastocisto.

Neste estudo piloto em humanos, a inflamação endometrial influenciou discretamente na quantidade dos blastocistos de dias 5 e 6 das pacientes com Endometrite Crônica, fato que deve ser observado com cuidado devido ao baixo número amostral e estatística marginal. De toda forma, os blastocistos das pacientes que possuem a patologia apresentaram boa expansão de blastocite e

uma boa classificação do trofotoderma que dará origem a futura placenta. O estudo demonstrou também que àqueles embriões que progrediram para o estágio de blastocisto apresentaram as características morfológicas relacionadas a um bom potencial de implantação de acordo com a Classificação de Gardner, bem como uma qualidade dos blastocistos comparáveis de acordo com os critérios do sistema simplificado de pontuação SART.

Em estudos *in vitro* em animais de grande porte, Soto P *et al.* (2003)<sup>62</sup> enfatizaram que células embrionárias afetadas pela Endometrite Crônica que conseguem chegar a blastocisto, demonstram um aumento no índice de apoptose devido a multinucleação. Segundo Buzzaccarini *et al.* (2020)<sup>74</sup>, os blastocistos oriundos de ambientes inflamatórios apresentam anomalias no desenvolvimento. Os autores relataram que blastocistos formados em condições de estresse oxidativo induzido por Endometrite Crônica exibem alterações morfológicas e metabólicas, como redução do número de células da massa celular interna e aumento das taxas de apoptose. Portanto, Buzzaccarini *et al.* (2020)<sup>74</sup>, concluem que a Endometrite Crônica interfere não apenas na formação do blastocisto, mas também em sua capacidade de sobreviver e implantar. Ao conduzirem análises transcriptômicas, Oladejo *et al.* (2020)<sup>77</sup>, revelaram a supressão de genes associados ao transporte de nutrientes e à regulação do ciclo celular, enquanto os genes relacionados ao estresse celular estavam super expressos, ou seja, existe uma baixa atividade nos genes relacionadas aos nutrientes e ciclos celulares e há alta atividade nos genes que respondem aos danos causadores da inflamação, afetando diretamente o desenvolvimento e a qualidade dos blastocistos.

A ausência de efeitos observados no nosso estudo piloto pode estar associada ao fato da FIV ser realizada em um ambiente *in vitro* e totalmente controlado, fora do organismo feminino e dos órgãos que estão diretamente afetados pelo LPS como ocorre *in vivo*. No entanto, esses resultados não excluem a possibilidade de que a EC possa impactar outros desfechos reprodutivos, como por exemplo, a taxa de implantação embrionária, taxa de gravidez clínica evolutiva ou até mesmo o índice de abortos. Importante salientar que, por se tratar de um estudo piloto retrospectivo e com amostra reduzida, algumas limitações devem ser reconhecidas. O viés de seleção pode influenciar os resultados, pois os dados foram obtidos a partir de registros clínicos já existentes. Além disso, o tamanho amostral limitado reduz o poder estatístico das análises e pode limitar a reprodutibilidade dos

achados em populações maiores e mais diversas. A ausência de randomização também impede o controle total de variáveis de confusão, o que pode impactar a robustez das conclusões.

## 7 CONCLUSÃO

Este estudo revelou que, ao contrário da hipótese baseada em estudos *in vitro* com modelos animais, a EC diagnosticada pelo teste molecular de ALICE, não comprometeu a maturação oocitária nem a qualidade e o desenvolvimento embrionário em mulheres submetidas a FIV com ICSI.

Os dados sugerem que a estimulação ovariana e a FIV não precisam ser adiadas frente a um diagnóstico de EC, visto que a microbiota uterina alterada não parece afetar os oócitos e embriões nos ciclos de FIV com ICSI. Isso possibilita maior eficiência no tratamento da infertilidade, reduzindo tempo e custos, e reforça abordagens baseadas em evidências, além de diminuir a sobrecarga psicológica associada ao tratamento.

Seria muito importante comprovar os achados deste estudo piloto em novos estudos com amostras maiores, preferencialmente prospectivos e randomizados, a fim de validar essas descobertas e aprofundar o entendimento sobre o real impacto da EC nos tratamentos de reprodução assistida.

## REFERÊNCIAS

1. Elder S, Bortoletto P, Romanski PA, Spandorfer S. Chronic endometritis in women with suspected retained products of conception and their reproductive outcomes. *Am J Reprod Immunol*. 2021;86:e13410. doi: 10.1111/aji.13410.
2. Gay C, Hamdaoui N, Pauly V, Rojat Habib MC, Djemli A, Carmassi M, et al. Impact of antibiotic treatment for chronic endometritis on unexplained recurrent pregnancy loss. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2021;50:102034.
3. Kuroda K, Horikawa T, Moriyama A, Nakao K, Juen H, Takamizawa S, et al. Impact of chronic endometritis on endometrial receptivity analysis results and pregnancy outcomes. *Immun Inflamm Dis*. 2020;8(4):650-8. doi: 10.1002/iid3.354.
4. Sokalska A. Timing of endometrial biopsy: Are we one step closer to the definition of chronic endometritis? *Fertil Steril*. 2022;118(4):795-6. doi: 10.1016/j.fertnstert.2022.08.002.
5. Shah HU, Sannananja B, Baheti AD, Udare AS, Badhe PV. Hysterosalpingography and ultrasonography findings of female genital tuberculosis. *Diagn Interv Radiol*. 2015;21:10-5. doi: 10.5152/dir.2014.13517.
6. Zhang Y, Xu H, Liu Y, Zheng S, Zhao W, Wu D, et al. Confirmation of chronic endometritis in repeated implantation failure and success outcome in IVF-ET after intrauterine delivery of the combined administration of antibiotic and dexamethasone. *Am J Reprod Immunol*. 2019;82:e13177. doi: 10.1111/aji.13177.
7. Singh N, Sethi A. Endometritis: Diagnosis, treatment and its impact on fertility – A scoping review. *JBRA Assist Reprod*. 2022;26(3):538-46. doi: 10.5935/1518-0557.20220015.
8. Eltawil AT, Mohamed S. Chronic endometritis in in vitro fertilization failure patients. *Clin J Obstet Gynecol*. 2020;3(2):175-81. doi: 10.29328/journal.cjog.1001073.
9. Kitaya K, Takeuchi T, Mizuta S, Matsubayashi H, Ishikawa T. Endometritis: new time, new concepts. *Fertil Steril*. 2018;110:344-50.
10. Lucas ES, Vrljicak P, Muter J, Diniz-da-Costa MM, Brighton PJ, Kong CS, et al. Recurrent pregnancy loss is associated with a pro-senescent decidual response during the peri-implantation window. *Commun Biol*. 2020;3. doi: 10.1038/s42003-020-01180-w.
11. Cicinelli E, Resta L, Loizzi V, Pinto V, Santarsiero C, Cicinelli R, et al. Antibiotic therapy versus no treatment for chronic endometritis: a case-control study. *Fertil Steril*. 2021;115:1541-8.
12. Song D, He Y, Wang Y, Liu Z, Xia E, Huang X, et al. Impact of antibiotic therapy on

- the rate of negative test results for chronic endometritis: a prospective randomized control trial. *Fertil Steril*. 2021;115:1549-56.
13. Moreno I, Cicinelli E, Garcia-Grau I, Gonzalez-Monfort M, Bau D, Vilella F, et al. The diagnosis of chronic endometritis in infertile asymptomatic women: a comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology. *Am J Obstet Gynecol*. 2018;218:602.e1-602.e16.
  14. Khan KN, Fujishita A, Muto H, Masumoto H, Ogawa K, Koshiba A, et al. Levofloxacin or gonadotropin releasing hormone agonist treatment decreases intrauterine microbial colonization in human endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2021;264:103-16.
  15. Freitag N, Pour SJ, Fehm TN, Toth B, Markert UR, Weber M, et al. Are uterine natural killer and plasma cells in infertility patients associated with endometriosis, repeated implantation failure, or recurrent pregnancy loss? *Arch Gynecol Obstet*. 2020;302:1487-94.
  16. Marín Montes A. Endometritis crónica y reproducción: revisión de la literatura. *Rev Iberoam Fertil Reprod Hum*. 2021;38:1-10.
  17. Critchley HOD, Maybin JA, Armstrong GM, Williams ARW. Physiology of the endometrium and regulation of menstruation. *Physiol Rev*. 2020;100:1149-79.
  18. Alikani M, et al. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod*. 2011;26(6):1270-83. doi: 10.1093/humrep/der037.
  19. Pirtea P, Cicinelli E, De Nola R, De Ziegler D, Ayoubi JM. Endometrial causes of recurrent pregnancy losses: endometriosis, adenomyosis, and chronic endometritis. *Fertil Steril*. 2021;115:546-60.
  20. Shen M, O'Donnell E, Leon G, Kisovar A, Melo P, Zondervan K, et al. The role of endometrial B cells in normal endometrium and benign female reproductive pathologies: a systematic review. *Hum Reprod Open*. 2022;2022:hoab043.
  21. Morimune A, Kimura F, Nakamura A, Kitazawa J, Takashima A, Amano T, et al. The effects of chronic endometritis on the pregnancy outcomes. *Am J Reprod Immunol*. 2020;85(3). doi:10.1111/aji.13357.
  22. Carvalho FM, Aguiar FN, Tomioka R, De Oliveira RM, Frantz N, Ueno J. Pólipos endometriais funcionais em pacientes inférteis assintomáticas: uma possível evolução das alterações vasculares secundárias à endometrite. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013;170(1):152-6.
  23. Murphy AR, Campo H, Kim JJ. Strategies for modelling endometrial diseases. *Nat Rev Endocrinol*. 2022;18:627-44.
  24. Shen M, O'Donnell E, Leon G, Kisovar A, Melo P, Zondervan K, et al. The role of endometrial B cells in normal endometrium and benign female reproductive

- pathologies: a systematic review. *Hum Reprod Open*. 2022;hoab043. doi:10.1093/hropen/hoab043.
25. Igenomix. Alice - Teste de endometrite crônica. 2019. Disponível em: <https://www.igenomix.com.br/genetic-solutions/alice-clinics/>. Acesso em: 12 set. 2023.
26. Moreno I, Garcia-Grau I, Perez-Villaroya D, Gonzalez-Monfort M, Bahçeci M, Barrionuevo MJ, et al. Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients. *Am J Obstet Gynecol*. 2018;219:617.e1- 617.e17.
27. Peter AT, Bosu WT, Dedecker RJ. Suppression of preovulatory luteinizing hormone surges in heifers after intrauterine infusions of *Escherichia coli* endotoxin. *Am J Vet Res*. 1989;50(3):368-73.
28. Suzuki C, Yoshioka K, Iwamura S, Hirose H. Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrous phase in Holstein heifers. *Domest Anim Endocrinol*. 2001;20:267-78. doi:10.1016/S0739- 7240(01)00098-4.
29. Williams EJ, Sibley K, Miller AN, Lane EA, Fishwick J, Nash DM, et al. The effect of *Escherichia coli* lipopolysaccharide and tumor necrosis factor alpha on ovarian function. *Am J Reprod Immunol*. 2008;60(5):462-73. doi:10.1111/j.1600-0897.2008.00645.x.
30. Piersanti RL, Horlock AD, Block J, Santos JEP, Sheldon IM, Bromfield JJ. Experimentally induced endometritis impairs the developmental capacity of bovine oocytes. *Biol Reprod*. 2020;103(3):508-20. doi:10.1093/biolre/ioaa069.
31. Amos MR, Healey GD, Goldstone RJ, Mahan SM, Duvel A, Schuberth HJ, et al. Differential endometrial cell sensitivity to a cholesterol-dependent cytolysin links *Trueperella pyogenes* to uterine disease in cattle. *Biol Reprod*. 2014;90:54.
32. Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Pfeiffer DU, Dobson H. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction*. 2002;123:837-45.
33. Herath S, Williams EJ, Lilly ST, Gilbert RO, Dobson H, Bryant CE, et al. Ovarian follicular cells have innate immune capabilities that modulate their endocrine function. *Reproduction*. 2007;134:683-93.
34. Canisso IF, Segabinazzi LGT, Fedorka CE. Persistent breeding-induced endometritis in mares: a multifaceted challenge from clinical aspects to immunopathogenesis and pathobiology. *Int J Mol Sci*. 2020;21:1432. doi:10.3390/ijms21041432.
35. LeBlanc MM, Causey RC. Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reprod Domest Anim*. 2009;44:10-22. doi:10.1111/j.1439-0531.2009.01485.x.

36. Heidari M, Kafi M, Mirzaei A, Asaadi A, Mokhtari A. Effects of follicular fluid of preovulatory follicles of repeat breeder dairy cows with subclinical endometritis on oocyte developmental competence. *Anim Reprod Sci.* 2019;205:62-9. doi:10.1016/j.anireprosci.2019.04.004.
37. Suzuki C, Yoshioka K, Iwamura S, Hirose H. Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrous phase in Holstein heifers. *Domest Anim Endocrinol.* 2001;20(4):267-78. doi:10.1016/S0739-7240(01)00098-4.
38. Dahiya S, Kumari S, Rani P, Onteru SK, Singh D. Postpartum uterine infection & ovarian dysfunction. *Indian J Med Res.* 2018;148:64-70. Disponível em: <https://uu.diva-portal.org/smash/get/diva2:1299486/FULLTEXT01>.
39. Williams EJ, Sibley K, Miller AN, Lane EA, Fishwick J, Nash DM, et al. The effect of *Escherichia coli* lipopolysaccharide and tumor necrosis factor alpha on ovarian function. *Am J Reprod Immunol.* 2008;60(5):462-73. doi:10.1111/j.1600-0897.2008.00645.x.
40. Allen KN, Imperiali B. Temas estruturais e mecânicos na biossíntese glicoconjugada em interfaces de membrana. *Curr Opin Struct Biol.* 2019;59:81-90.
41. Steimle A, Autenrieth IB, Frick JS. Structure and function: Lipid A modifications in commensals and pathogens. *Int J Med Microbiol.* 2016;306(5):290-301.
42. Farhana A, Khan YS. Biochemistry, Lipopolysaccharide. Last Update: April 17, 2023.
43. Valle J, et al. The amino acid valine is secreted in continuous-flow bacterial biofilms. *J Bacteriol.* 2008;190(1):264-74.
44. Klein G, Raina S. Regulated control of the assembly and diversity of LPS by noncoding sRNAs. *Biomol Res Int.* 2015;2015:153561.
45. Fennrich S, et al. More than 70 years of pyrogen detection: Current state and future perspectives. *Altern Lab Anim.* 2016;44(3):239-53.
46. Gomes JMG, Costa JA, Alfenas RCG. Metabolic endotoxemia and diabetes mellitus: A systematic review. *Metabolism.* 2017;68:133-44.
47. Mackenzie JD, et al. Experimentally induced endometritis impairs the developmental capacity of bovine oocytes. *Biol Reprod.* 2020;103(3):508-20. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/biolre/iaaa069>. Acesso em: 7 fev. 2025.
48. Rodgers RJ, et al. Development of the ovarian follicular epithelium. *Mol Cell Endocrinol.* 1999;151:171-9. DOI: 10.1016/S0303-7207(99)00087-8.

49. Piersanti RL, et al. Persistent effects on bovine granulosa cell transcriptome after resolution of uterine disease. *Biol Reprod*.
50. Gilbert RO. The effects of endometritis on the establishment of pregnancy in cattle. *Reprod Fertil Dev*. 2011;24(1):252-7. DOI: 10.1071/RD11915.
51. Herath S, et al. Ovarian follicular cells have innate immune capabilities that modulate their endocrine function. *Reproduction*. 2007;134:683-93.
52. Leroy JLMR, et al. Reduced fertility in high-yielding dairy cows: Are the oocyte and embryo in danger? Part II. Mechanisms linking nutrition and reduced oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. *J Dairy Sci*.
53. Pelzer ES, et al. Microbial colonization of follicular fluid: alterations in cytokine expression and adverse assisted reproduction technology outcomes. *Hum Reprod*. 2011;26:1799-812.
54. Peter AT, Bosu WT, Dedecker RJ. Suppression of preovulatory luteinizing hormone surges in heifers after intrauterine infusions of *Escherichia coli* endotoxin. *Am J Vet Res*. 1989;50:368-73.
55. Peter AT, et al. Site of action for endotoxin-induced cortisol release in the suppression of preovulatory luteinizing hormone surges. *Theriogenology*. 1990;33(3):637-43. DOI: 10.1016/0093-691X(90)90540-A.
56. Heidari M, et al. Effects of follicular fluid of preovulatory follicles of repeat breeder dairy cows with subclinical endometritis on oocyte developmental competence. *J Vet Sci*.
57. Herath S, et al. Bacterial lipopolysaccharide induces an endocrine switch from prostaglandin F2 $\alpha$  to prostaglandin E2 in bovine endometrium. *Endocrinology*. 2009;150:1912-20. DOI: 10.1210/EN.2008-1379.
58. Herath S, et al. Ovarian follicular cells have innate immune capabilities that modulate their endocrine function. *Reproduction*. 2007;134:683-93. DOI: 10.1530/REP-07-0229.
59. Dahiya S, et al. Postpartum uterine infection and ovarian dysfunction. *Indian J Med Res*. 2018;148:64. Disponível em: <https://uu.divaportal.org/smash/get/diva2:1299486/FULLTEXT01>. Acesso em: 7 fev. 2025.
60. Bromfield JJ, Sheldon IM. Lipopolysaccharide initiates inflammation in bovine granulosa cells via the TLR4 pathway and perturbs oocyte meiotic progression in vitro. *Endocrinology*. 2011 Dec;152(12):5029-40. doi: 10.1210/en.2011-1124.
61. Uçmak ZG, Kurban I, Uçmak M. Evaluation of vascularization in the walls of preovulatory follicles in mares with endometritis. *Theriogenology*. 2016;89:59-68.

- 62.Soto P, Natzke RP, Hansen PJ. Identification of possible mediators of embryonic mortality caused by mastitis: actions of lipopolysaccharide, prostaglandin F2 $\alpha$ , and the nitric oxide generator, sodium nitroprusside dihydrate, on oocyte maturation and embryonic development in cattle. *Am J Reprod Immunol.* 2003;50:263-DOI: 10.1034/j.1600-0897.2003.00085.x.
- 63.Bromfield JJ, Sheldon IM. Lipopolysaccharide initiates inflammation in bovine granulosa cells via the TLR4 pathway and perturbs oocyte meiotic progression in vitro. *Endocrinology.* 2011;152:5029-40. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/en.2011-1124>.
- 64.Sheldon IM, et al. Uterine infection and immunity in cattle. In: Juengel JL, Miyamoto A, Price C, Reynolds LP, Smith MF, Webb R, editors. *Reproduction in Domestic Ruminants VIII*. Leicester: Context Products; 2014. p. 415-30.
- 65.Sheldon IM, et al. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction.* 2002;123:837-45.
- 66.Herath S, et al. Bacterial lipopolysaccharide induces an endocrine switch from prostaglandin F2 $\alpha$  to prostaglandin E2 in bovine endometrium. *Endocrinology.* 2009;150:1912-20.
- 67.Zhao SJ, et al. Effects of lipopolysaccharide on maturation of bovine oocyte in vitro and its possible mechanisms. *Oncotarget.* 2017;8:4656-67.
- 68.Kodaman PH, Arici A, Seli E. Evidence-based diagnosis and management of tubal factor infertility. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2004;16:221-9. DOI: 10.1097/00001703-200406000-00004.
- 69.Heitmann RJ, Hill MJ, Richter KS, DeCherney AH, Widra EA. The simplified SART embryo scoring system is highly correlated to implantation and live birth in single blastocyst transfers. *J Assist Reprod Genet.* 2013;30(7):993-9. DOI: 10.1007/s10815-013-9932-1.
- 70.Magata F. Lipopolysaccharide-induced mechanisms of ovarian dysfunction in cows with uterine inflammatory diseases. *J Reprod Dev.* 2020;66(4):311-7.
- 71.Sidashova SO, et al. Distribution of chronic latent gynecological pathologies in dairy cows. *Sci Messenger LNU Vet Med Biotechnol.* 2024;26(115):31-41.
- 72.Umer M, et al. Pathogenesis, treatment and control of bovine clinical endometritis: A review. *Pak J Agric Eng Vet Sci.* 2022;38(1):57-64.
- 73.Dobos A, et al. Infertility in dairy cows: Possible bacterial and viral causes. *Veterinarska Stanica.* 2022;53(1):35-43.

74. Buzzaccarini G, et al. Chronic endometritis and altered embryo implantation: A unified pathophysiological theory from a literature systematic review. *J Assist Reprod Genet.* 2020;37:2897-911.
75. Oladejo AO, et al. MicroRNAome: Potential and veritable immunomolecular therapeutic and diagnostic baseline for lingering bovine endometritis. *Front Vet Sci.* 2020;7:614054.

## APÊNDICES

### Apêndice A - Consenso de ASEBIR (*Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción*)

**Table I** ASEBIR embryo assessment criteria (for confirmation by individual laboratories, based on existing observations of implantation potential).

Grade	Day	Cell number	Fragmentation (%)	Symmetry	Multi-nucleation	Vacuoles	Zona Pellucida
A	2	4	<10 <sup>a</sup>	Even	No	No	Normal
	3	4(d2) → 7–8 (d3)	<10 <sup>a</sup>	Even	No	No	Normal
B	2	2 or 5	<26 <sup>a</sup>	Even	No	No	Normal
		4	11–25 <sup>a</sup>	Even	No	No	Normal
	3	4(d2) → 7–8 (d3)	11–25 <sup>a</sup>	Even	No	No	Normal
		4(d2) → ≥9 (d3)	<26 <sup>a</sup>	Even	No	No	Normal
C	2	2–6	26–35 <sup>a</sup>	Uneven	No	Few	Abnormal <sup>b</sup>
		3 <sup>c</sup> or 6	<35 <sup>a</sup>	Uneven	No	Few	Abnormal <sup>b</sup>
	3	2, 4, 6 (d2) → >7(d3)	26–35 <sup>a</sup>	Uneven	No	Few	Abnormal <sup>b</sup>
		6(d2) → >8 (d3)	<35 <sup>a</sup>	Uneven	No	Few	Abnormal <sup>b</sup>
		2 or 4 (d2) → 6(d3)	<35 <sup>a</sup>	Uneven	No	Few	Abnormal <sup>b</sup>
		3 <sup>c</sup> (d2) → >6 (d3)	<35 <sup>a</sup>	Uneven	No	Few	Abnormal <sup>b</sup>
D	2	1 or >6	>35		Yes	Many	Abnormal
		3	>35	Even	Yes	Many	Abnormal
	3	1 or >6 (d2) → any number of cells (d3)	>35		Yes	Many	Abnormal
		Any number of cells (d2) → <6 (d3) (d2) → (d3), only one additional cell	>35		Yes	Many	Abnormal

<sup>a</sup>Large fragments (i.e. not dispersed throughout the embryo).

<sup>b</sup>Without assisted hatching.

<sup>c</sup>One large and two small blastomeres.

Fonte: The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting

#### *Cleavage-stage embryo scoring*

It was agreed that embryos would be scored in four categories:

A = top quality







B = good quality (not for elective single embryo transfer)

C = impaired embryo quality

D = do not recommend to transfer (includes all multinucleated embryos).

Fonte: The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting

### Apêndice B - Sistema de classificação de blastocistos de Gardner

<b>1</b> Blastocisto inicial cavidade <50%	 1AA		
<b>2</b> Blastocisto cavidade ocupa menos 50%	 2AA		
<b>3</b> Blastocisto cavidade completa	 3AA		
<b>4</b> Blastocisto expandido embrião aumenta com ZP fina	 4AA	 4BB	 4CC
Massa celular interna	<b>A</b> célis numerosas e aderidas	<b>B</b> muitas células pouco aderidas	<b>C</b> poucas células
Trofoectoderma	<b>A</b> muitas células organizada	<b>B</b> muitas células pouco aderidas	<b>C</b> poucas células

Fonte: [https://pronucleo.com.br/dica\\_para\\_paciente/vamos-falar-sobre-morfologia-embrionaria/](https://pronucleo.com.br/dica_para_paciente/vamos-falar-sobre-morfologia-embrionaria/).

Acesso em: 9 mar. 2025.

**Apêndice C - Sistema simplificado de pontuação de embriões SART (Society for Assisted Reproductive Technology)**

**Table 2** SART grade according to embryology grading system

SART grade	Embryology grade (ICM/TE)
Good	AA or AB
Fair	BA, BB, or BC
Poor	CB or CC

Fonte: Fonte: The simplified SART embryo scoring system is highly correlated to implantation and live birth in single blastocyst transfers

## Apêndice D - Abstract publicado nos anais da revista científica *Fertility and Sterility*.

Table 1: Pregnancy outcomes in let-FET cycles with vs without stair-stepping vs programmed FET cycles in anovulatory women

All cycles	Let-FET w/ stair-stepping (N = 30)	Let-FET w/o stair-stepping (N = 980)	Programmed FET in anov. women (N = 668)	P-value
Chemical preg	63.3%	75.5%	79.2%	<b>0.04</b>
Clinical preg	56.7%	66.8%	66.3%	0.51
Ongoing preg	46.7%	57.2%	53.6%	0.21
Chemical Loss	6.7%	8.4%	12.3%	<b>0.03</b>
Clinical loss	10.0%	9.6%	12.7%	0.13
<b>PGT cycles</b>	<b>Let-FET with stair-stepping (N = 8)</b>	<b>Let-FET without stair-stepping (N = 429)</b>	<b>Programmed FET in anovulatory women (N = 180)</b>	<b>P-value</b>
Chemical preg	75.0%	77.9%	78.4%	0.97
Clinical preg	75.0%	69.0%	66.2%	0.72
Ongoing preg	62.5%	59.4%	55.6%	0.66
Chemical Loss	0%	8.9%	11.1%	0.45
Clinical loss	12.5%	9.6%	10.6%	0.90

**OBJECTIVE:** To study the efficacy of the "stair-step" protocol in letrozole-stimulated frozen embryo transfer (let-FET) cycles.

**MATERIALS AND METHODS:** Retrospective study in a university affiliated fertility center including all let-FET and programmed FET cycles from 2015 to 2024. The stair-step protocol is administered as follows: letrozole 5mg for 5 days in the early follicular phase, followed by ultrasound (US) and bloodwork (BW) between cycle day (CD) 10-12, and if no response, letrozole 7.5mg is administered for 5 days. Stair-stepped cycles were compared with let-FET cycles that were not stair-stepped and with programmed FET cycles in women with ovulatory disorders. ANOVA and chi-squared tests were performed, as well as a subgroup analysis including PGT-A cycles only.

**RESULTS:** 1678 FET cycles were included, with 35 let-FET cycles that were stair-stepped, 992 let-FET that were not stair-stepped, and 668 programmed FET cycles in anovulatory women. 5/35 (14.3%) of let-FET cycles with stair-stepping were canceled due to lack of response vs 12/992 (1.2%) in the non-stair-stepping cycles. The pregnancy outcomes were summarized in table 1. Let-FET cycles that were stair-stepped had lower chemical pregnancy and chemical miscarriage rates, with similar ongoing pregnancy rates as let-FET cycles that were not stair-stepped and programmed FET cycles in anovulatory women. Pregnancy rates were similar between all 3 treatment groups in PGT cycles.

**CONCLUSIONS:** Let-FET cycles that required stair-stepping had similar pregnancy outcomes as all other let-FET cycles and programmed FET cycles in women with ovulatory disorder.

**IMPACT STATEMENT:** When anovulatory women fail to respond to the 5mg dose of letrozole in a natural FET cycle, stair-stepping to 7.5mg immediately is a good option. Conversion to a programmed FET cycle is not necessary.

P-396 11:00 AM Tuesday, October 22, 2024

### INVESTIGATIONS OF GENETIC VARIANTS IN DONOR-CONCEIVED PERSONS: A COLLABORATION BETWEEN THREE LARGE U. S. GAMETE BANKS.

Kathryn Lockwood, M.S.,<sup>1</sup> Rawan I. Awwad, M.S., CGC,<sup>2</sup> Kara Baldwin, M.S.,<sup>3</sup> Katie Lee Hornberger, B.S., M.Sc.,<sup>4</sup> Lauren Isley, MS, CGC,<sup>5</sup> Suzanne Seitz, MS, MPA, CGC<sup>6</sup> <sup>1</sup>Auburn, NH; <sup>2</sup>Birmingham, MI; <sup>3</sup>California Cryobank by CooperSurgical Inc, Los Angeles, CA; <sup>4</sup>Seattle Sperm Bank, Seattle, WA; <sup>5</sup>CooperSurgical, Trumbull, CT; <sup>6</sup>Fairfax Cryobank, Fairfax, VA.



**OBJECTIVE:** Examine cases of genetic variants in donor-conceived persons (DCPs) that prompted consideration of donor testing, and highlight the complexity of investigations, challenges in follow-up management, and limitations of donor testing.

**MATERIALS AND METHODS:** Medical updates in DCPs from three gamete banks from January 2021 - June 2023 were reviewed to identify cases of DCPs with positive genetic test results. Non-disjunction events were excluded. Records related to the investigation and donor testing were examined. Relevant data was extracted including the DCP's test result(s), when the variant was identified (embryo, preg-

nancy, postnatally), variant classification, and donor test results, if available.

**RESULTS:** One hundred and twenty-one cases of DCP with positive genetic testing associated with a medical update were identified. These reports involved 91 DCPs conceived with donor sperm and 30 with donor egg. Of the 79 (87%) sperm donors tested, 44 (56%) were positive for the DCP's findings. Semen was the most common sample type tested. Most variants were identified postnatally (70%). Of the 17 (57%) egg donors tested, 13 (77%) were positive for the DCP's findings. Blood was the most common sample type tested. Sixteen variants (53%) were identified postnatally, with the remaining in a pregnancy or embryo. Considering both egg and sperm, 56/96 (59%) donors were positive for the DCP's variant. Variant interpretation was pathogenic in 31 (55%) cases and a variant of uncertain significance in 15 (27%) cases.

**CONCLUSIONS:** Our study highlights the importance of follow-up molecular investigations on donors to determine inheritance of variants identified in DCP, as most donors in the data set were positive for the DCP's variant. A baseline risk of 3 - 4% exists for a major medical issue in a child, despite the degree of genetic screening performed, thus our cohort represents what would be typically observed in the general population.

Gamete banks must decide whether testing the donor is appropriate and/or feasible. Factors that contribute to that decision may include: potential health risks to other DCPs, variant interpretation, inheritance pattern, the affected DCP's phenotype, and whether the other gamete source was tested. Sample availability is also important, as few laboratories offer semen testing, which may detect gonadal mosaicism.

Positive donor results not only impact management of donor inventory within gamete banks, but also present unique challenges to families who have used the donor as part of their reproductive plans. Knowledge that the donor has a genetic variant may impact reproductive decision-making for recipients and the donor. For example, families will need to consider whether to have their children/embryos tested or opt to change their reproductive plans using stored gametes given the new information.

**IMPACT STATEMENT:** Molecular testing on donors following a DCP's positive genetic result is valuable, given the effect on donor management and recipient families. Gamete banks should consider implementing an internal protocol for these investigations and dissemination of relevant information.

P-397 11:15 AM Tuesday, October 22, 2024

### IMPACT OF CHRONIC ENDOMETRITIS ON EMBRYONIC DEVELOPMENTAL POTENTIAL: EVIDENCE FROM AN *IN VITRO* FERTILIZATION CASE-CONTROL STUDY.

Jamille Ribeiro De Santana, MSc, Gustavo N. Cecchino, PhD MATER PRIME AND MATER LAB, São Paulo, Brazil.



**OBJECTIVE:** Different theories suggest that chronic endometritis may impact in vitro fertilization (IVF) outcomes through alterations in the

## Abstract publicado nos anais da revista científica *Fertility and Sterility* (continuação)

endometrial microbiome. Animal studies indicate additional effects on reproductive biology, including disruptions in cellular meiosis, reductions in oocyte quality and quantity, and interference in oocyte maturation and embryonic development. This study aims to determine whether chronic endometritis can affect developmental potential of embryos in IVF cycles.

**MATERIALS AND METHODS:** Retrospective matched case-control study including 70 patients undergoing IVF cycles at a single center from April 2018 to September 2023. Patients were divided into two groups based on the presence or absence of chronic endometritis. Due to the low sensitivity and specificity of hysteroscopy followed by histological analysis, we included only patients who underwent an endometrial biopsy followed by a molecular test involving DNA extraction. The bacterial ribosomal 16S gene was amplified through reverse transcription followed by polymerase chain reaction, and its hypervariable regions were analyzed using next-generation sequencing to detect pathogens associated with endometritis (sensitivity and specificity > 90%). Oocytes and embryos were graded according to the Istanbul consensus and the Gardner blastocyst grading system. Subsequently, day-3 embryos were categorized into two groups based on their quality: good quality ( $\geq 6$  cells and grade A or B) and low-quality (< 6 cells or grade C). Blastocysts were divided into three groups according to the SART classification. Descriptive statistics and appropriate statistical tests were conducted using SPSS software.

**RESULTS:** Groups showed no differences in demographic variables and cycle parameters. The mean number of mature oocytes retrieved in the endometritis group was 8.6 versus 9.6 in the control ( $p=0.544$ ). The fertilization rates was 78% for the endometritis group and 77% in the control group ( $p=0.767$ ). The blastulation rates were also similar (57% and 63%;  $p=0.366$ ). Similarly, the proportion of good quality day-3 embryos were similar between groups (77.5% versus 86.5%;  $p=0.227$ ). Regarding the simplified SART blastocyst scoring system, there were no significant differences in the proportion of good (42% versus 45%;  $p=0.535$ ), moderate (47% versus 47.5%;  $p=0.995$ ) and low grade (11% versus 7.5%;  $p=0.607$ ) blastocysts between groups.

**CONCLUSIONS:** This study found no significant differences in the quality and developmental potential of embryos between women with and without chronic endometritis undergoing IVF treatments. However, it is important to note that these findings do not rule out the possibility that chronic endometritis could affect other reproductive outcomes. Limitations include the retrospective design and the small sample size, which may affect the generalizability of the results.

**IMPACT STATEMENT:** This study challenges existing assumptions derived from animal models by demonstrating that chronic endometritis may not negatively impact the quality or developmental potential of embryos in IVF treatments.

**SUPPORT:** none

P-398 11:30 AM Tuesday, October 22, 2024

**WITHDRAWN**



P-399 11:45 AM Tuesday, October 22, 2024

**WHAT DO YOUR PATIENTS WANT? EXPECTATIONS AND DISCREPANCIES IN PATIENT-CENTERED CARE (PCC) BETWEEN INFERTILITY PATIENTS AND PHYSICIANS.**



Alice D. Domar, Ph.D.,<sup>1</sup> Amber Mendoza, BS,<sup>2</sup> Allison Catherino, Ph.D.,<sup>1</sup> Kathleen L. Deering, PharmD,<sup>3</sup> Victoria Kulbokas, PharmD,<sup>4</sup> Kelly A. Wirka, PhD<sup>1</sup> Inception, Houston, TX; <sup>2</sup>Inception Fertility, Houston, TX; <sup>3</sup>EMD Serono, Rockland, MA; <sup>4</sup>EPI-Q, Inc., Chicago, IL; <sup>5</sup>EMD Serono, Rockland, MA USA.

**OBJECTIVE:** While the concept of (patient-centered care) PCC is not new, the alignment between the US clinicians' and patients' perception of PCC has not been evaluated. The objective of this study was to compare the perception of PCC between Reproductive Endocrinologists & Infertility (REI) and infertility patients.

**MATERIALS AND METHODS:** A survey of patients and REIs was conducted (between 9/23 - 1/24). Infertility patients who had a new patient consult were eligible to participate. Clinicians completed the survey based on

their perception of what patients consider the top attributes within four PCC categories: *Clinic & Procedures, Physician, Clinic staff, Financial Process*. Patients ranked each attribute during their patient experience - 1 the most and 5 the least important. Chi-square statistics were used to assess differences in attributes ranked most and slightly important among patients and clinicians.

**RESULTS:** Survey responses from patients (1500) and REIs (36) were compared. For *Clinic & Procedures* and *Physician Attributes*, patients and REIs selected top 4 attributes in common but they differed in ranking of importance. REIs selected "Coordinated & integrated in my care delivery" as the most important attribute, and significantly more often than patients (59.5% vs. 24.0%,  $p<.01$ ). Similarly, "Physicians Availability" (35.1% vs. 21.5%,  $p<.05$ ) and "Offers emotional support" (18.9% vs. 6.4%,  $p<.01$ ) were significantly more selected by REIs. In contrast, "Delivers effective treatment (tx)" followed by "Delivers Efficient tx" were significantly more important for patients than REIs, 66.7% vs. 46.0% ( $p<.01$ ), 30.5% vs. 13.5% ( $p<.05$ ), respectively. "Effective diagnosis explanation" was significantly more important from the patient perspective (37.0% vs. 10.8%,  $p<.05$ ). In contrast, REIs selected "Caring demeanor" significantly more often than patients (27.0% vs. 14.5%,  $p<.05$ ). "Effective physician-patient communication" and "Individualizes my tx plan" were selected as the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> most important attributes by REIs, and as the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> attributes most frequently selected by patients, respectively. "Compassion" and "Trustworthiness" were the top 2 attributes most frequently selected for *Staff Members* by both groups. REIs selected "Compassion" as the most important attribute significantly more often than patients (81.1% vs 50.9%,  $p<.001$ ). "Cost Transparency" was the most important attribute across both groups. However, REIs selected "Simplicity & accessibility of billing process" significantly more often than patients (64.9% vs. 38.3%,  $p<.01$ ) and as the second most important attribute in this category. "Cost minimization" was ranked as the second most important attribute for patients.

**CONCLUSIONS:** The results of this study highlight striking differences between what patients report their PCC needs are, versus what their physicians believe their needs are. Caring for patients may not translate into knowing precisely how best to provide care. Designing patient-focused care delivery systems with patient needs in mind is crucial to PCC.

**IMPACT STATEMENT:** There are significant differences between patient and clinician perceptions of what constitutes PCC.

**SUPPORT:** This study was funded by EMD Serono Inc.

P-400 12:00 PM Tuesday, October 22, 2024

**BODY MASS INDEX CLASSIFICATION AND IVF OUTCOMES AMONG ASIAN AND AMERICAN PATIENTS.**

Rodney Bruno, MD,<sup>1</sup> Brittany Morse, MS,<sup>2</sup> Lauren A. Wise, SC.D.,<sup>3</sup> Nora Khalil, BA,<sup>4</sup> Janice Nam, MS,<sup>5</sup> Eesha Sachdeva, BA,<sup>6</sup> Denny Sakkas, Ph.D.,<sup>7</sup> Denis A. Vaughan, MD,<sup>8</sup> Sandy J. Li, M.D.,<sup>9</sup> Wendy Kuohung, M.D.<sup>10</sup> <sup>1</sup>Dorchester, MA; <sup>2</sup>Framingham, MA; <sup>3</sup>Boston University School of Public Health, Boston, MA; <sup>4</sup>Boston University School of Medicine; <sup>5</sup>Boston IVF, Waltham, MA; <sup>6</sup>Boston University Chobanian & Avedisian School of Medicine, Boston, MA.



**OBJECTIVE:** The World Health Organization (WHO) developed revised BMI standards specifically for Asians due to their higher cardiovascular disease risk. We evaluated the extent to which the WHO BMI standards were more predictive of IVF success than the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) BMI standards among Asian American (AA) patients.

**MATERIALS AND METHODS:** We analyzed data from 564 AA and 2,324 White patients undergoing their first embryo transfers at a large academic IVF center during 2014-2022. We classified data using two sets of BMI standards: CDC: <18.5 (underweight), 18.5-24.9 (normal weight), 25-29.9 (overweight), and  $\geq 30$  (obese) and WHO standards for AA: <18.5 (underweight), 18.5-22.9 (normal weight), 23-24.9 (overweight), and  $\geq 25$  (obese).

The primary outcomes were live birth rate (LBR) and clinical pregnancy rate (CPR). We excluded cycles with missing data on BMI/race, egg freezing, TESE sperm, donor egg, PGT-M/SR, a prior pregnancy within 18 months, and BMI >36 due to low patient numbers. We used age-adjusted log-binomial regression models to estimate risk ratios (RRs) and 95% confidence intervals (CIs).

**RESULTS:** AA patients had lower CPRs and LBRs compared with White patients. Among White patients, obesity defined according to the CDC BMI

## Apêndice E - Abstract publicado nos anais da revista científica JBRA Assisted Reproduction

Poster Presentations - Abstracts of the 28<sup>th</sup> Annual Congress of the SBRA. Florianópolis/SC - Brazil, 2024

793

**Objective:** Studies have already indicated that mild analgesics can disturb reproductive development by acting as endocrine disruptors, however further research is needed to investigate their associations with reproductive capacity. Therefore, our objective is to evaluate the associations of analgesics consumption on reproductive outcomes of women undergoing infertility treatment.

**Methods:** We conduct a prospective cohort study with 98 women (n=125 cycles), between 2018-2021 in South Brazil. Our study includes women aged 20-40 years, diagnosed with infertility and indication to undergo in vitro fertilization treatment (IVF). They responded to baseline questionnaires regarding their medication use during controlled ovarian hyperstimulation protocol for IVF (COH). They were asked specifically about their consumption of paracetamol (acetaminophen), dipyron, ibuprofen, acetylsalicylic acid (AAS) and sodium diclofenac - the most used mild analgesics by Brazilian population. Reproductive outcomes information includes laboratory outcomes and clinical outcomes. General linear models and logistic regression were used to estimate the associations between each analgesic use during COH and the continuous and categorical reproductive outcomes. We also test potential cofounders and adjust the models to age, BMI and infertility cause (model I) and indication of use of each analgesic (model II).

**Results:** The report of paracetamol use during COH was negatively associated with the embryo quality rate in the crude model [ $p=0.01$ ; -16.61(-27.52 to -5.70)], model I [ $p=0.01$ ; -16.47(-27.46 to -5.47)] and model II [ $p<0.01$ ; -29.02(-48.88 to -9.16)]. The use of dipyron was positively associated with embryo blastulation rate in crude model [ $p=0.04$ ; 15.45(0.95 to 29.95)] and model I [ $p=0.02$ ; 16.70(2.42 to 30.98)], but not in model II. Ibuprofen consumption during the COH revealed a positive association with collection rate and a negative association with fertilization rate in crude model [ $p=0.02$ ; 12.21(1.71 to 22.71)], ( $p=0.02$ ; -12.29(-22.51 to -2.07)) ] and in model I [ $p=0.04$ ; 10.97(0.33 to 21.62)], ( $p=0.02$ ; -11.69(-21.83 to -1.55)], but no significant association after adjustment for indication of ibuprofen use (model II). No significant associations were observed with consumption of AAS or in relation to clinical reproductive outcomes for any analgesic.

**Conclusion:** We report associations between analgesic use and reproductive outcomes, however most of the associations were not sustain after accounting for confounding by indication. On the other hand, negative association of paracetamol use during COH with embryo quality was observed in all models. However, it is important to highlight that the infertility conditions of study participants may result in the use of mild analgesics and that both the medical conditions per se and the resulting use of analgesics have a potential to directly affect the outcomes of our study.

### P-169. Evaluating the impact of chronic endometritis on embryo development in IVF cycles: A case-control study

Jamille Ribeiro Santana<sup>1</sup>, Gustavo Nardini Cecchino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mater Prime and Mater Lab - São Paulo - SP - Brazil

**Objective:** Various theories propose that chronic endometritis might negatively influence in vitro fertilization (IVF) outcomes through changes in the endometrial microbiome. Animal studies suggest that this condition can disrupt cellular meiosis, reduce

oocyte quality and quantity, and hinder oocyte maturation and embryonic development. This study aims to investigate the potential impact of chronic endometritis on the developmental potential of embryos in IVF cycles.

**Methods:** This retrospective matched case-control study included 70 patients undergoing IVF cycles at a single center between April 2018 and September 2023. Patients were divided into two groups based on the presence (n=35) or absence (n=35) of chronic endometritis. Given the low sensitivity and specificity of hysteroscopy with histological analysis, only patients who underwent endometrial biopsy followed by a molecular test (DNA extraction, ribosomal 16S gene amplification via RT-PCR, and hypervariable region analysis through next-generation sequencing) were included, achieving sensitivity and specificity > 90%. Oocytes and embryos were graded using the Istanbul consensus and Gardner blastocyst grading system. Day-3 embryos were classified into good quality ( $\geq 6$  cells AND grade A or B) and low quality (<6 cells OR grade C). Blastocysts were categorized according to the SART classification. Descriptive statistics and appropriate statistical tests were performed using SPSS software.

**Results:** There were no significant differences in demographic variables and cycle parameters between groups. The mean number of mature oocytes retrieved was 8.9 in the endometritis group versus 10.1 in the control group ( $p=0.936$ ). Fertilization rates were 85% for the endometritis group and 88% for the control group ( $p=0.793$ ). Blastulation rates were 58% and 65% ( $p=0.124$ ), respectively. The proportion of good quality day-3 embryos was similar between groups (81% vs. 84%,  $p=0.753$ ). For the SART blastocyst scoring system, no significant differences were observed in the proportions of good (43% vs. 41%,  $p=0.593$ ), moderate (45% vs. 50%,  $p=0.837$ ), and low grade (12% vs. 8%,  $p=0.740$ ) blastocysts between groups.

**Conclusion:** This study found no significant differences in embryo quality and developmental potential between women with and without chronic endometritis undergoing IVF treatments. However, these findings do not exclude the possibility that chronic endometritis could affect other reproductive outcomes. The study's limitations include its retrospective design and small sample size, which may impact the generalizability of the results. Further research is needed to validate these findings.

### P-170. The effect of EMBRYOGLUE on the motility and DNA fragmentation of cryopreserved spermatozoa

José Xavier Silva Neto<sup>1</sup>, Vera Lúcia Lângaro Amaral<sup>1</sup>, Alfred Senn<sup>1</sup>, Rafael Alonso Salvador<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Itajaí - Itajaí - SC - Brazil

**Objective:** To evaluate the effects of EmbryoGlue medium on sperm viability and DNA fragmentation after cryopreservation and thawing.

**Methods:** Fifteen seminal samples from normozoospermic patients were cryopreserved in 0.5 mL straws in the presence of a cryoprotectant (Ingámed, Brazil), then thawed (10 min, 28°C) and washed by centrifugation (6 min, 1480 RPM) with GV-HEPES medium (Ingámed, Maringá, Brazil), and finally kept at 28°C. At time T0, motility, vitality, and DNA fragmentation parameters were analyzed (SCD method). The samples were then divided into three groups (G0, G3, and G10) of 200  $\mu$ l each, containing 0%, 3%, and 10%

## ANEXOS

### Anexo A - Solicitação de dispensa do TCLE

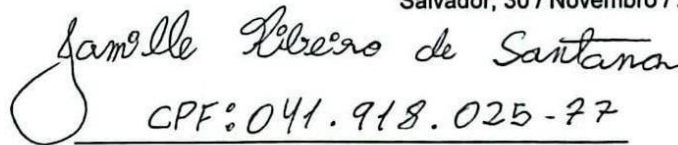
#### SOLICITAÇÃO PARA DISPENSA DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO AO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Eu, Jamille Ribeiro de Santana, portadora do CPF: 04191802577, Pesquisadora Responsável e responsável pelo projeto de pesquisa intitulada "ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS OOCITÁRIAS E EMBRIONÁRIAS RELACIONADAS A ENDOMETRITE CRÔNICA", cujo objetivo é "Identificar as alterações morfológicas oocitárias e embrionárias relacionadas à endometrite crônica em mulheres na reprodução assistida", considerando o disposto nas Resoluções no 466/2012 (capítulo IV.8) ou no 510/2016 (itens 7 e 8), solicito ao Comitê de Ética em Pesquisa, a dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE em razão do exposto a seguir.

Por se tratar de um estudo observacional, analítico ou descritivo (retrospectivo de 1º de Janeiro de 2021 a 31 de Dezembro de 2023, tendo em vista que a coleta de dados será realizada de 1º de Fevereiro a 31 de Julho de 2024), que contempla o uso de informações disponíveis em prontuários clínicos e/ou laboratoriais contidos nas plataformas digitais Medicalis, Igenomix e Embryo All Reproduction dos Centros de Reprodução Humana Assistida Mater Prime e Mater Lab – Medicina Reprodutiva, ambos localizados na Avenida Ibirapuera, número 2315, na cidade de São Paulo, país Brasil, sob sistemas de informação institucionais e/ou demais fontes de dados e informações clínicas e/ou laboratoriais disponíveis na Instituição, nos quais os dados serão analisados de forma anônima e os resultados serão apresentados agregados, não permitindo a identificação dos participantes da pesquisa e não haverá utilização de material biológico e nem intervenções clínicas e laboratoriais, portanto, solicito a dispensa do TCLE.

O investigador principal e demais colaboradores envolvidos no estudo acima se comprometem, individual e coletivamente, a utilizar os dados deste, apenas para os fins descritos e a cumprir todas as diretrizes e normas regulamentadoras descritas na Res. CNS NO 466/12, e suas complementares, no que diz respeito ao sigilo e confidencialidade dos dados coletados, assim, solicito a dispensa do TCLE.

Salvador, 30 / Novembro / 2023

  
CPF: 041.918.025-77

Nome e CPF do(a) pesquisador(a) responsável  
(Mesmo nome inserido na Plataforma Brasil)

**Anexo B - Carta da Anuência Institucional – Mater Lab – Medicina Reprodutiva**


**MATER LAB**  
MEDICINA REPRODUTIVA

**CARTA DE ANUÊNCIA**

Instituição Coparticipante: **MATER LAB**

Declaramos para os devidos fins que estamos de acordo com a execução do projeto de pesquisa intitulado **ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS OOCITÁRIAS E EMBRIONÁRIAS RELACIONADAS A ENDOMETRITE CRÔNICA**, sob a responsabilidade da pesquisadora responsável **JAMILLE RIBEIRO DE SANTANA** (CPF: 041.918.025-77), cujo objetivo principal é **IDENTIFICAR AS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS OOCITÁRIAS E EMBRIONÁRIAS RELACIONADAS A ENDOMETRITE CRÔNICA EM MULHERES NA REPRODUÇÃO ASSISTIDA**. Assumimos o compromisso de apoiar o desenvolvimento da referida pesquisa a ser realizada nessa Instituição. Declaramos conhecer e cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução 466/2012 do CNS. Informamos que para ter acesso a instituição e iniciar a coleta dos dados, fica condicionada a apresentação da Certidão de Aprovação por Comitê de Ética em Pesquisa e o Parecer Consubstanciado, devidamente credenciado junto à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Atenciosamente,

  
Gustavo N. Cecchino  
Médico  
CRM/SP: 158.030

---

**Dr. GUSTAVO NARDINI CECCHINO**

(Responsável Técnico do Laboratório)

Av. Ibirapuera, 2315 – Moema – São Paulo – SP  
CER: 04.029-200

**Anexo C - Carta de Anuência Institucional – Mater Prime**

Dr. Rodrigo da Rosa Filho  
CRM/SP: 119789  
Responsável Técnico

**CARTA DE ANUÊNCIA**

Instituição Coparticipante: **MATER PRIME**

Declaramos para os devidos fins que estamos de acordo com a execução do projeto de pesquisa intitulado **ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS OOCITÁRIAS E EMBRIONÁRIAS RELACIONADAS A ENDOMETRITE CRÔNICA**, sob a responsabilidade da pesquisadora responsável **JAMILLE RIBEIRO DE SANTANA** (CPF: 041.918.025-77), cujo objetivo principal é **IDENTIFICAR AS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS OOCITÁRIAS E EMBRIONÁRIAS RELACIONADAS A ENDOMETRITE CRÔNICA EM MULHERES NA REPRODUÇÃO ASSISTIDA**. Assumimos o compromisso de apoiar o desenvolvimento da referida pesquisa a ser realizada nessa Instituição. Declaramos conhecer e cumprir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução 466/2012 do CNS. Informamos que para ter acesso a instituição e iniciar a coleta dos dados, fica condicionada a apresentação da Certidão de Aprovação por Comitê de Ética em Pesquisa e o Parecer Consubstanciado, devidamente credenciado junto à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Atenciosamente,

Dr. Gustavo N. Cecchino  
Reprodução Assistida  
MATER PRIME

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. GUSTAVO NARDINI CECCHINO**

(Médico da Clínica)

## Anexo D - Carta de Anuência Institucional – Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública



Salvador, 28 de setembro de 2023.

### CARTA DE ANUÊNCIA

Declaramos, para fins de interesse científico, que autorizamos a pesquisadora **Jamille Ribeiro de Santana**, discente do curso de Mestrado do Programa de Medicina em Saúde Humana, a desenvolver o projeto de pesquisa intitulado “**ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS OOCITÁRIAS E EMBRIONÁRIAS RELACIONADAS A ENDOMETRITE CRÔNICA**”, que objetiva Identificar as alterações morfológicas oocitárias e embrionárias relacionadas à endometrite crônica em mulheres na reprodução assistida.

O referente projeto está sob orientação da Profa. Dra. Milena Bastos Brito, docente do Programa de Pós-Graduação da EBMSP.

A instituição tem conhecimento desse estudo científico, bem como ciência da sua responsabilidade em realizar acolhimento aos participantes da pesquisa e posterior encaminhamentos que se fizerem necessários.

Esta autorização fica condicionada à aprovação do referido projeto no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), em cumprimento aos requisitos da Resolução 466/12 CNS e suas complementares, comprometendo-se o pesquisador a utilizar os dados pessoais dos participantes da pesquisa, exclusivamente para fins científicos, mantendo o sigilo e garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades. Ressalta-se que tais dados deverão ser utilizados somente para a realização deste estudo, com acesso restrito, não podendo ser utilizado para outros fins além dos previstos no protocolo e/ou consentimento livre e esclarecido, a menos que seja novamente submetido ao CEP para futuras análises e/ou estudos.

Atenciosamente,

**Atson Carlos de Souza Fernandes**  
Pró-Reitor de Pesquisa, Inovação e Pós-Graduação Stricto Sensu  
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

Este documento foi assinado digitalmente por Atson Carlos De Souza Fernandes.  
Para verificar as assinaturas vá ao site <https://bahianaeducacao.portaldeassinaturas.com.br/443> e utilize o código 1CD3-EAA3-E72E-59A1.

## Anexo E - Carta de Anuência Institucional – Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública - Protocolo de Assinatura



### PROTOCOLO DE ASSINATURA(S)

O documento acima foi proposto para assinatura digital na plataforma Portal Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Para verificar as assinaturas clique no link: <https://bahianaeducacao.portaldeassinaturas.com.br/Verificar/1CD3-EAA3-E72E-59A1> ou vá até o site <https://bahianaeducacao.portaldeassinaturas.com.br:443> e utilize o código abaixo para verificar se este documento é válido.

Código para verificação: 1CD3-EAA3-E72E-59A1



#### Hash do Documento



0D6D83B3DB2567FC9EC436BC984E28AB5F916F8DC46FFB2DE8717973AFEC6C3B

O(s) nome(s) indicado(s) para assinatura, bem como seu(s) status em 29/09/2023 é(ão) :

- Atson Carlos de Souza Fernandes (Signatário) - \*\*\*.995.825-\*\*  
em 29/09/2023 09:27 UTC-03:00  
Tipo: Certificado Digital



## Anexo F - Plataforma Brasil – Folha de Rosto

 MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP <b>FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOJENDO SERES HUMANOS</b>			
1. Projeto de Pesquisa <b>ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS DOCTÁRIAS E EMBRIÓNICAS RELACIONADAS A ENDOMETRIE CRÔNICA</b>			
2. Número do Particular da Pesquisa: 200			
3. Área Temática: Reprodução Humana (pesquisas que se ocupam com o funcionamento do aparelho reprodutor, procriação e fatores que afetam a saúde reprodutiva do humano, sendo que nestas pesquisas serão considerados "participantes da pesquisa" todos os que forem afetados pelos procedimentos desta) (designação essencial)			
4. Área de Conhecimento: Ciência da Saúde			
<b>PESQUISADOR RESPONSÁVEL</b>			
5. Nome: Janelli Ribeiro de Santana			
6. CPF: 041.918.023-71	7. Endereço (Rua, n.º): Rua Abreu Souto de Barros, Edif. Monteparnassus Itaipava 295 SAL VÁZIO BAHIA 41830005		
8. Nacionalidade: BRASILEIRO	9. Telefone: 71391614661	10. Outro Telefone:	11. E-mail: janelli_santana@hupemil.com
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprio os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas complementares. Comprometo-me a atualizar os dados e manter os dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados segundo os padrões da área. Aceito as responsabilidades pela conduta científica do projeto acima. Tenho ciência que esta folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os envolvidos e fará parte integrante da documentação do mesmo.			
Data: 29.09.2023 			
<b>INSTITUIÇÃO PROPONENTE</b>			
12. Nome: Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências - FUNDEC	13. CNPJ: 13.927.934/0006-20	14. Unidade/Orgão:	
15. Telefone: (71) 3336-7838	16. Outro Telefone:		
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprio os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, submeto sua inscrição.			
Responsável: _____ CPF: _____			
Cargo/Função: _____			
Data: ____/____/____ Assinatura: _____			
<b>PATROCINADOR PRINCIPAL</b>			
Não se aplica			

Este documento foi assinado digitalmente por: Alvaro Carlos Da Silva Fernandes.  
Para verificar as assinaturas vá ao site <https://bahianadecaducacao.portaldasasinstancias.com.br-443> e utilize o código 587F-D00F-0A6F-F3B7.

## Anexo G - Plataforma Brasil – Folha de Rosto – Protocolo de Assinaturas



### PROTOCOLO DE ASSINATURA(S)

O documento acima foi proposto para assinatura digital na plataforma Portal Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Para verificar as assinaturas clique no link: <https://bahianaeducacao.portaldeassinaturas.com.br/Verificar/5B7F-D00F-0A69-F387> ou vá até o site <https://bahianaeducacao.portaldeassinaturas.com.br:443> e utilize o código abaixo para verificar se este documento é válido.

Código para verificação: 5B7F-D00F-0A69-F387



#### Hash do Documento

3BD285281E84696DDE486DED5AB33BD2CAD3C7BE1979C00D0007DFF4214E5EA9



O(s) nome(s) indicado(s) para assinatura, bem como seu(s) status em 29/09/2023 é(são) :

Atson Carlos de Souza Fernandes (Signatário) - \*\*\*.995.825-\*\*  
em 29/09/2023 09:27 UTC-03:00

**Tipo:** Certificado Digital



## Anexo H - Trabalho científico aprovado no Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida

### Evaluating the Impact of Chronic Endometritis on Embryo Development in IVF Cycles: A Case-Control Study

Jamille Ribeiro de Santana, Mater Prime and Mater Lab, São Paulo, Brasil;  
Gustavo Nardini Cecchini, Mater Prime and Mater Lab, São Paulo, Brasil

#### 1. OBJECTIVE

Investigate the impact of chronic endometritis on the developmental potential of embryos in IVF cycles.

#### 2. METHODS

Retrospective, matched, case-control study including 70 patients undergoing IVF cycles between 2018 and 2023. Patients were allocated to two groups based on the presence (n=35) or absence (n=35) of chronic endometritis. Only patients who underwent endometrial biopsy followed by a molecular test (DNA extraction, ribosomal 16S gene amplification via RT-PCR, and hypervariable region analysis) were included. Oocytes and embryos were graded using the Istanbul consensus and Gardner blastocyst grading. Day-3 embryos were classified into good ( $\geq 6$  cells and A or B) and low quality ( $< 6$  cells or C). Blastocysts followed the SART classification.

#### 3. RESULTS AND DISCUSSION

	No Endometritis	Endometritis	<i>p-value</i>
<b>Mature oocytes</b>	10,1	8,6	0,936
<b>Fertilization</b>	88%	85%	0,793
<b>Good quality day-3 embryos</b>	84%	81%	0,753
<b>Blastulation</b>	65%	58%	0,124
SART 1	41%	43%	0,593
SART 2	50%	45%	0,837
SART 3	8%	12%	0,74

There were no significant differences in demographic variables and cycle parameters between groups.


#### 4. CONCLUSION

This study failed to demonstrate significant differences in embryo quality and developmental potential regarding the presence of endometritis during IVF cycles. These findings do not exclude the possibility that chronic endometritis could affect other reproductive outcomes.

#### 5. REFERENCES

Elder et al. (2021). Chronic endometritis in women with suspected retained products of conception and their reproductive outcomes.  
Moreno, L., et al. (2022). Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients.

## Anexo I - Trabalho científico aprovado no Congresso da Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva Assistida.



**ASRM 2024**  
Early Access and Innovation  
Denver, Colorado  
October 19-23, 2024

### COMPARATIVE DEVELOPMENTAL POTENTIAL OF MATURE AND IMMATURE OOCYTES IN IN VITRO FERTILIZATION TREATMENTS: INSIGHTS FROM A SELF-CONTROLLED CASE SERIES


Jamille Ribeiro de Santana<sup>1,2</sup> and Gustavo Nardini Cocchino<sup>1,2</sup>  
Mater Prime, São Paulo, Brazil<sup>1</sup>  
Mater Lab, São Paulo, Brazil<sup>2</sup>

**PURPOSE & OBJECTIVES**

Different theories suggest that chronic endometritis may impact in vitro fertilization (IVF) outcomes through alterations in the endometrial microbiome. Animal studies indicate additional effects on reproductive biology, including disruptions in cellular meiosis, reductions in oocyte quality and quantity, and interference in oocyte maturation and embryonic development. This study aims to determine whether chronic endometritis can affect developmental potential of embryos in IVF cycles.

**This study challenges existing assumptions derived from animal models by demonstrating that chronic endometritis may not negatively impact the quality and/or developmental potential of embryos in IVF treatments.**

**RESULTS**



	Patients with chronic endometritis (%)	Patients without chronic endometritis (%)	p-value
Fertilization	78	77	0,767
Blastulation	57	63	0,366
Good quality embryos on the third day	77,5	86,5	0,227
SART (good grade)	42	45	0,535
SART (moderate grade)	47	47,5	0,995
SART (low score)	11	7,5	0,607

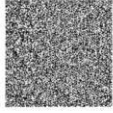
**RESULTS**

Groups showed no differences in demographic variables and cycle parameters. The mean number of mature oocytes retrieved in the endometritis group was 8.6 versus 9.6 in the control ( $p=0.544$ ). The fertilization rates were 78% for the endometritis group and 77% in the control group ( $p=0.767$ ). The blastulation rates were also similar (57% and 63%;  $p=0.366$ ). Likewise, the proportion of good quality day-3 embryos were similar between groups (77.5% versus 86.5%;  $p=0.227$ ). Regarding the simplified SART blastocyst scoring system, there were no significant differences in the proportion of good (42% versus 45%;  $p=0.535$ ), moderate (47% versus 47.5%;  $p=0.995$ ) and low grade (11% versus 7.5%;  $p=0.607$ ) blastocysts between groups.

**CONCLUSIONS**

This study found no significant differences in the quality and developmental potential of embryos between women with and without chronic endometritis undergoing IVF treatments. However, it is important to note that these findings do not rule out the possibility that chronic endometritis could affect other reproductive outcomes. Limitations include the retrospective design and the small sample size, which may affect the generalizability of the results.

**REFERENCES**



**ACKNOWLEDGEMENTS**

We would like to thank the entire team from Mater Prime and Mater Lab who collaborated and supported our research.

**CONTACT INFORMATION**

