

SERUM MICRORNA PROFILING FOR THE IDENTIFICATION OF PREDICTIVE MOLECULAR MARKERS OF THE RESPONSE TO CONTROLLED OVARIAN STIMULATION

Edson Borges Jr; Maria Gabriela Ferreira Mulato; Amanda Souza Setti;
Assumpto Iaconelli Jr. ; Murilo Vieira Geraldo; Daniela Paes de Almeida
Ferreira Braga



FERTILITY
MEDICAL GROUP



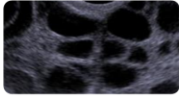
Boa tarde a todos. Esse estudo foi realizado no fertility medical Group em colaboração com o Instituto Sapientiae, centro de estudos e pesquisa em reprodução assistida e com o departamento de Biologia funcional do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

INTRODUCTION

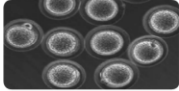
✓ Controlled Ovarian Stimulation



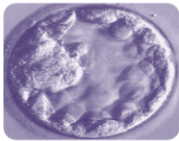
Essential step for in vitro fertilization



Development of multiple follicles



Recovery of multiple oocytes



Selection of the best embryo
for transfer



FERTILITY

O estímulo ovariano controlado, é uma etapa essencial para os ciclos de fertilização in vitro,

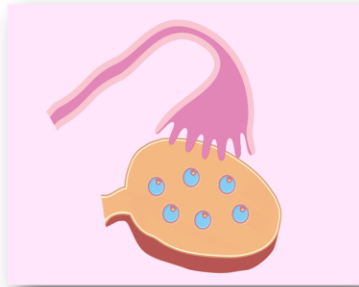
e permite o desenvolvimento de múltiplos folículos,

levando a recuperação de múltiplos oócitos,

o que permite a seleção do melhor embrião a ser transferido.

INTRODUCTION

✓ Controlled Ovarian Stimulation



Proper response to
COS



5 to 14 oocytes



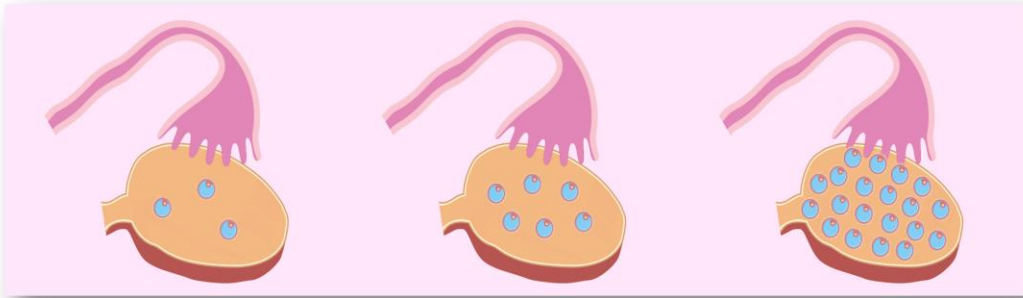
FERTILITY

Cai et al. 2013 Briggs et al. 2014

De acordo com relatos prévios, a recuperação de 5 a 14 óócitos é considerada uma resposta apropriada ao EOC.

INTRODUCTION

✓ Controlled Ovarian Stimulation



Poor response



Normo
response



Hyper response

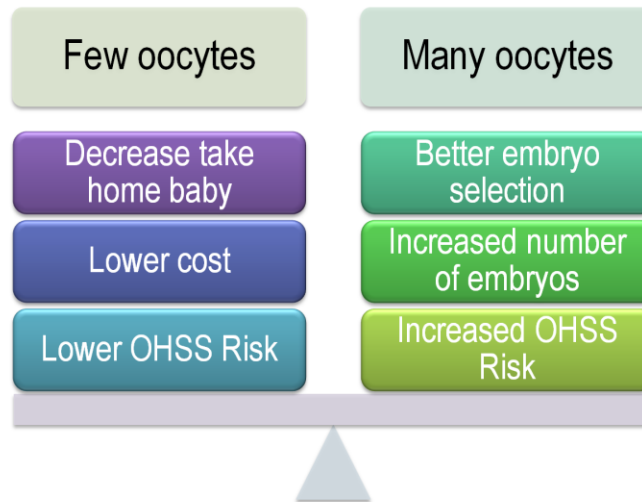


FERTILITY

Porém a resposta ao estímulo ovariano controlado é extremamente variável dentre as pacientes, e tanto hyper quanto pobre resposta pode ter efeitos prejudiciais aos ciclos.

INTRODUCTION

✓ Cancellation of IVF cycles risk



Kumbak et al. 2009, Sunkara et al 2011

A recuperação de poucos óocitos leva a um menor risco,

pode ter menor custo ,

mas também leva a uma menor taxa de bebê em casa

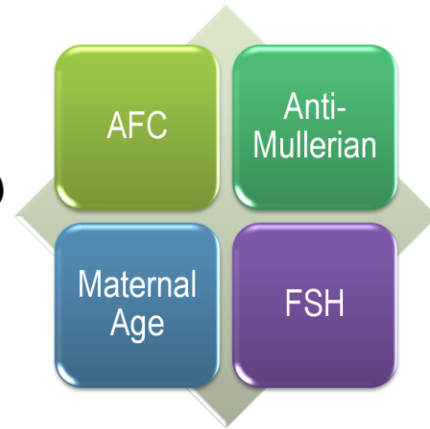
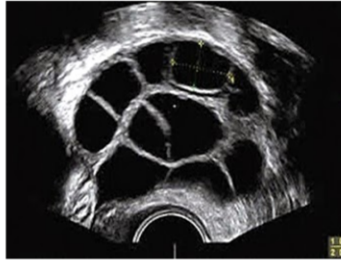
Enquanto a recuperação de muito óocitos aumenta o risco da síndrome do hiperestímulo ovariano,

mas também aumenta o número de embriões

e permite a seleção de melhores embriões para a transferencia.

INTRODUÇÃO

- ✓ It is nearly impossible to accurately predict the ovarian response and tailor an individualised stimulation protocol



The development of non-invasive techniques, capable of predicting the response to COS, would allow for individualised treatment and increased success rates.

É quase impossível prever com precisão a resposta ovariana e adaptar um protocolo de estimulação individualizado

com base em parâmetros que hoje temos acesso, como contagem de folículos antrais,

nível de hormônio antimüllerian,

idade materna,

Nível do FSH

Dessa maneira o desenvolvimento de técnicas não invasivas, capazes de prever a resposta ao EOC podem permitir a individualização dos tratamentos aumentar a chance de sucesso

INTRODUCTION

- **MicroRNAs**



FERTILITY

Endogenous

Single-strand RNA molecules

of 20-24 nucleotides

Non-coding RNA molecule

Post-transcriptionally regulate
gene expression in eukaryote

Asirvatham et al. 2009, McCallie et al. 2010, Mouillet et al. 2015, Thouas et al. 2015

MICRORNAS (MIRNAS) SÃO moléculas endógenas

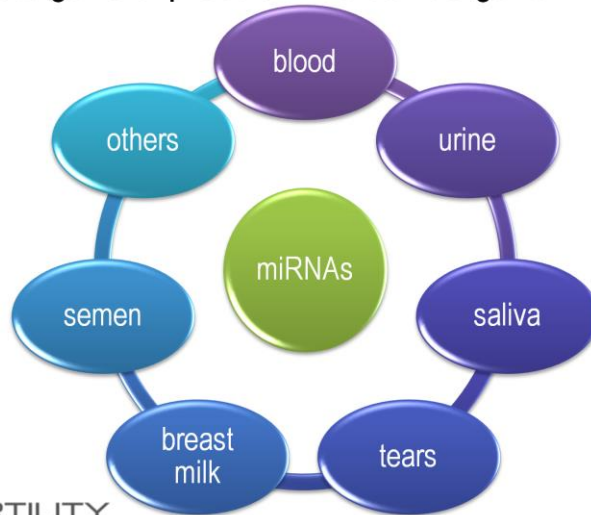
de RNA fita simples de 20–24 nucleotídeos,

não codificadores de proteínas,

que agem como potentes reguladores da expressão gênica em plantas e animais

INTRODUCTION

- **MicroRNAs:** actively secreted into the bloodstream and regulate gene expression in distant organs



FERTILITY

Thomou et al. 2017, Wang et al. 2010, Weber et al. 2010

miRNAs são secretados ativamente na corrente sanguínea e regulam a expressão gênica em órgãos distantes.

MicroRNAs já foram isolados de diversos líquidos corpóreos como sangue

urina

saliva

lágrimas

leite materno

Sêmen e

outros

OBJECTIVE

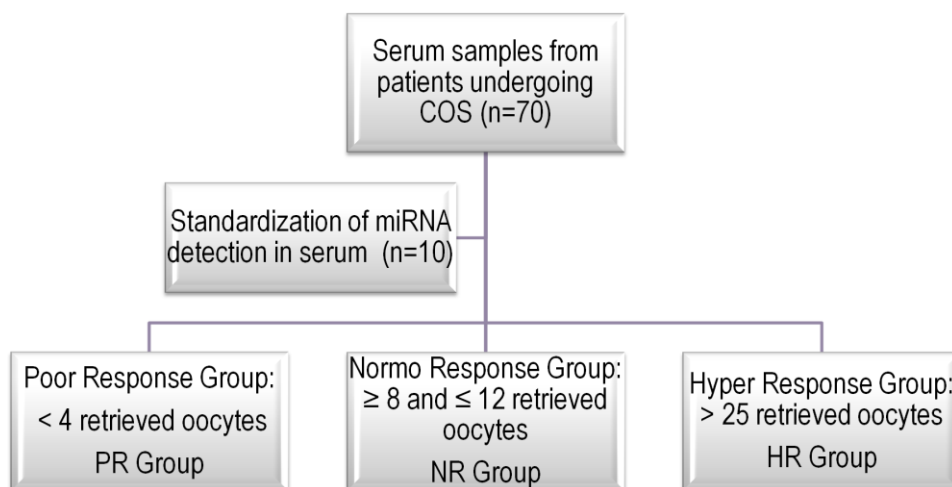
Identify potential miRNAs biomarkers of ovarian response to controlled ovarian stimulation



FERTILITY

, o objetivo do presente estudo foi identificar potenciais biomarcadores miRNAs da resposta ao estímulo ovarian controlado

MATERIAL AND METHODS



Para tal, amostras de soro de 70 pacientes submetidas à ciclos de estimulação ovariana controlada foram analisadas.

Primeiramente, dez amostras foram utilizadas para a padronização da detecção de microRNA no soro.

As 60 amostras restantes foram subdivididas em tres grupos dependendo da respota ao estímulo ovariano controlado (Pobre resposta, normoresposta e hiper resposta)

MATERIAL AND METHODS

Two experimental sets (60 samples)

Identification of aberrantly expressed
miRNAs (n=15)

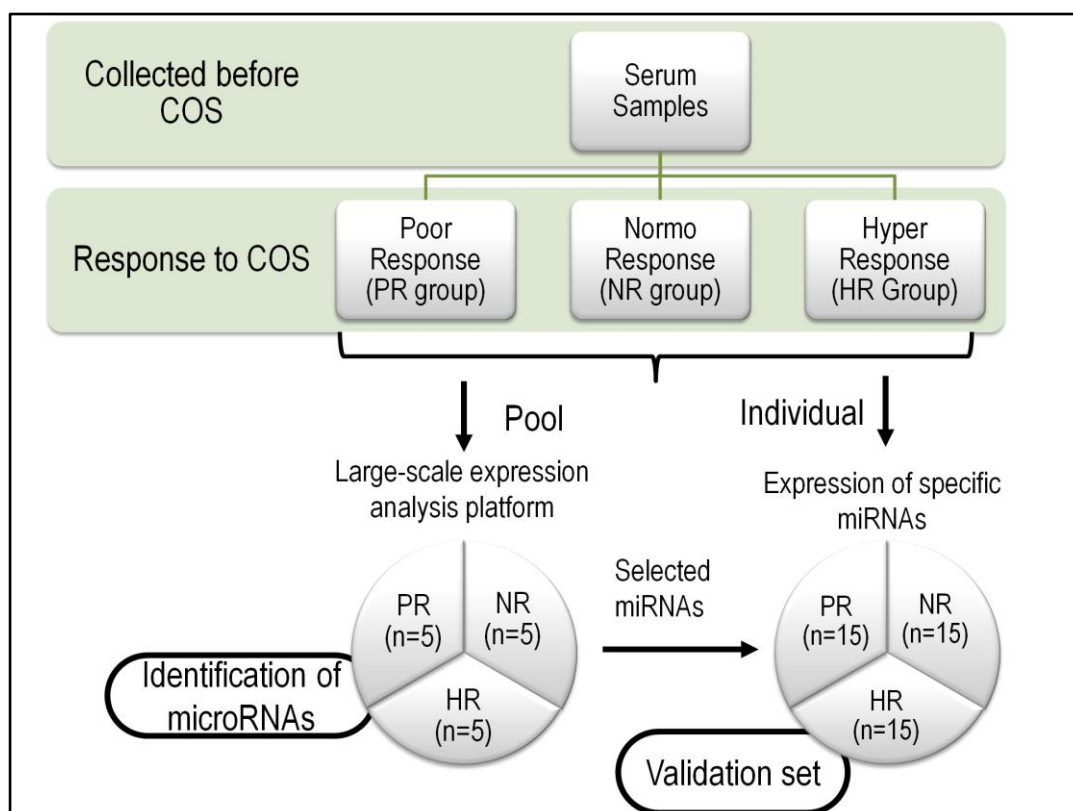
Validation set (n=45)



FERTILITY

Essas amostras foram utilizadas para duas fases posteriores do experimento

No primeiro experimento, 15 amostras foram utilizadas para a identificação de microRNAs diferencialmente expressos entre os grupos experimentais e as outras 45 amostras foram utilizadas para a validação dos micro RNAs



De maneira um pouco mais detalhada:

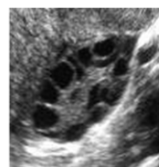
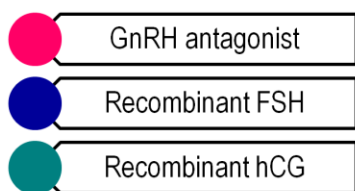
Primeiramente 15 amostras divididas em 3 grupos de resposta ovariana foram agrupadas para cada grupo: 5 amostras para o Grupo pobre resposta, 5 para o grupo normo e 5 para o grupo hyper resposta.

Essas amostras foram analisadas por meio de uma Plataforma de análise de expressão em larga escala onde alguns microRNAs diferencialmente expressos foram identificados.

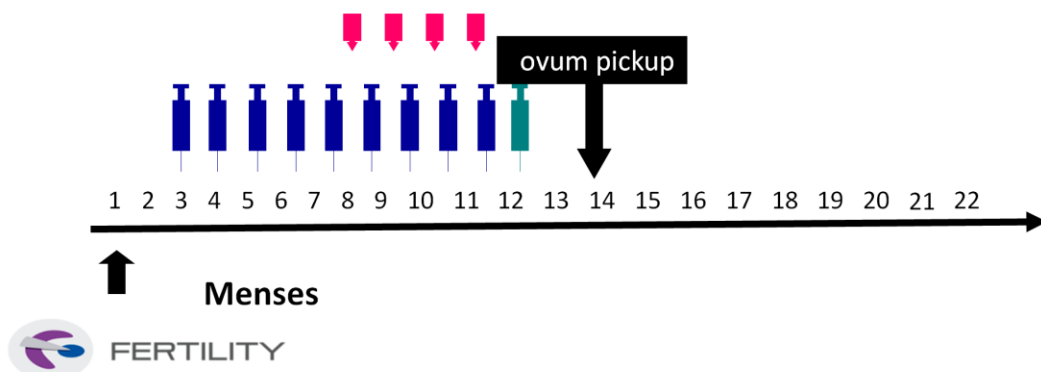
Posteriormente esses microRNAs foram testados (no experimento de validação) em 45 amostras individuais novamente divididas entre os grupos de resposta 15 para pobre, 15 para normo e 15 para hiper resposta.

MATERIAL AND METHODS

✓ Controlled Ovarian Stimulation



E2



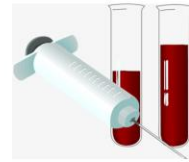
AS PACIENTES FORAM SUBMETIDAS AO BLOQUEIO HIPOFISÁRIO REALIZADO POR MEIO DA ADMINISTRAÇÃO DO ANTAGONISTA DO HORMÔNIO LIBERADOR DE GONADOTROFINAS SEGUIDO POR EOC, COM ADMINISTRAÇÃO DE FSH RECOMBINANTE.

A ESTIMULAÇÃO OVARIANA FOI ACOMPANHADA POR DOSAGENS SÉRICAS DE ESTRADIOL (E2, PG/ML) E ULTRASSONOGRAFIAS SERIADAS, SENDO OS DADOS OBTIDOS UTILIZADOS PARA DEFINIR O MOMENTO DE ADMINISTRAÇÃO DE HCG, PARA A MATURAÇÃO FOLICULAR FINAL.

A RECUPERAÇÃO OOCITÁRIA FOI REALIZADA ENTRE 34 A 36 HORAS APÓS A ADMINISTRAÇÃO DA HCG

MATERIAL AND METHODS

Serum samples obtained through venipuncture, prior to beginning of COS



Small RNAs was extracted from 200 μ l of serum samples using a commercial kit



Identification and quantification of aberrantly expressed miRNAs performed by using a large-scale quantification PCR-Array



As amostras de sangue foram coletadas anteriormente ao EOC,

os microRNAs foram extraídos usando um kit comercial

E a identificação e quantificação de miRNAs diferencialmente expressos entre os grupos (ou seja, a primeira parte do experimento) foi realizada em uma plataforma de quantificação em larga escala por meio de arranjos de PCR

MATERIAL AND METHODS

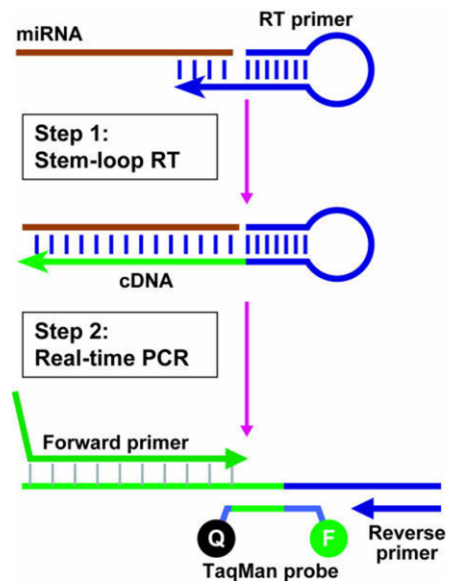
According with this analysis, four miRNAs were selected to be tested in the validation set



The validation was performed by using the miRNA Assays quantification kit



FERTILITY



De acordo com essa análise inicial, 4 micro RNAS foram selecionados e testados nas amostras do experiemnto de validação

por meio de um ensaio de quantificacao de microRNAs

RESULTS

Patient's and cycle's characteristics for the Poor response, Normo response and Hyper response Groups

	PR (n=5)	NR (n=5)	HR (n=5)	P
Age (years)	33.88 ± 1.87	32.40 ± 2.75	31.30 ± 2.11	0.065
BMI (kg/m ²)	25.04 ± 4.27	22.44 ± 2.50	25.50 ± 4.19	0.264
FSH dose (IU)	2383.33 ± 668.48	2550.00 ± 469.87	2495.00 ± 584.38	0.825
Estradiol level (pg/ml)	913.00 ± 415.80 ^a	1818.00 ± 1073.19 ^b	3901.00 ± 770.74 ^c	0.003
Aspirated follicles (n)	3.50 ± 0.85 ^a	11.20 ± 1.03 ^b	50.40 ± 22.24 ^c	<0.001
Retrieved oocytes (n)	2.80 ± 0.92 ^a	9.70 ± 1.49 ^b	36.50 ± 4.45 ^c	<0.001
Oocyte retrieval rate (%)	82.50 ± 23.71	86.82 ± 11.84	81.03 ± 24.98	0.816
Mature oocytes (n)	2.40 ± 0.84 ^a	7.30 ± 1.56 ^b	23.80 ± 5.09 ^c	<0.001

Em relação às características das pacientes e dos ciclos de acordo com os grupos de resposta ovariana

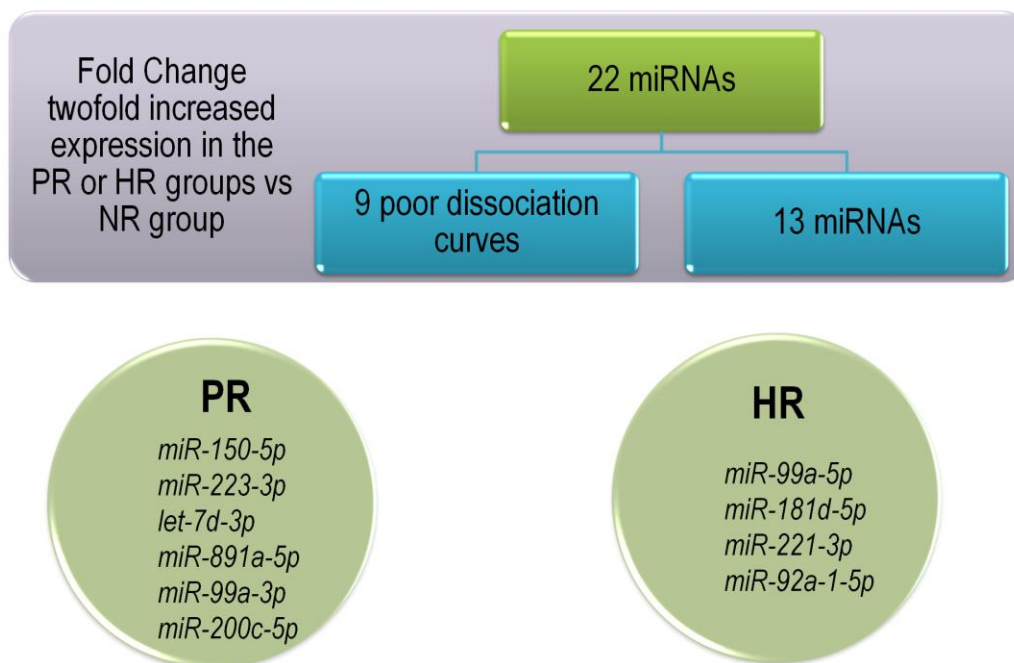
RESULTS

Patient's and cycle's characteristics for the Poor response, Normo response and Hyper response Groups

	PR (n=5)	NR (n=5)	HR (n=5)	P
Age (years)	33.88 ± 1.87	32.40 ± 2.75	31.30 ± 2.11	0.065
BMI (kg/m ²)	25.04 ± 4.27	22.44 ± 2.50	25.50 ± 4.19	0.264
FSH dose (IU)	2383.33 ± 668.48	2550.00 ± 469.87	2495.00 ± 584.38	0.825
Estradiol level (pg/ml)	913.00 ± 415.80 ^a	1818.00 ± 1073.19 ^b	3901.00 ± 770.74 ^c	0.003
Aspirated follicles (n)	3.50 ± 0.85 ^a	11.20 ± 1.03 ^b	50.40 ± 22.24 ^c	<0.001
Retrieved oocytes (n)	2.80 ± 0.92 ^a	9.70 ± 1.49 ^b	36.50 ± 4.45 ^c	<0.001
Oocyte retrieval rate (%)	82.50 ± 23.71	86.82 ± 11.84	81.03 ± 24.98	0.816
Mature oocytes (n)	2.40 ± 0.84 ^a	7.30 ± 1.56 ^b	23.80 ± 5.09 ^c	<0.001

Como era de se esperar, o nível do estradio, numero de foliculos aspirados, oocitos recuperados assim como de oocitos maturos foram significativamente mais altos no grupo Hiper resposta, seguido do grupo normo e o grupo pobre resposta obteve os menores numeros

RESULTS

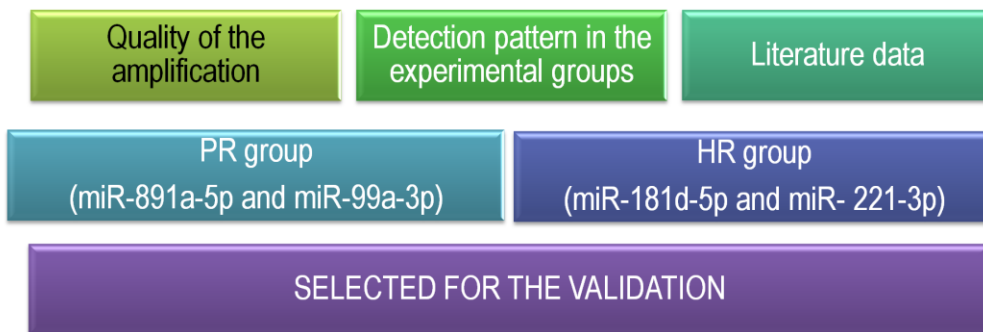


A análise de fold change detectou 22 miRNA com expressão duas vezes aumentada nos grupos pobre ou hiper resposta quando comparados com o grupo normoresposta.

Destes 22 micro RNAs 9 apresentaram curvas de dissociação pobres e foram excluídos das análises futuras.

Dentre os outros 13 microRNAs, alguns foram exclusivamente expressos no grupo pobre resposta e alguns no grupo Hiper resposta.

RESULTS



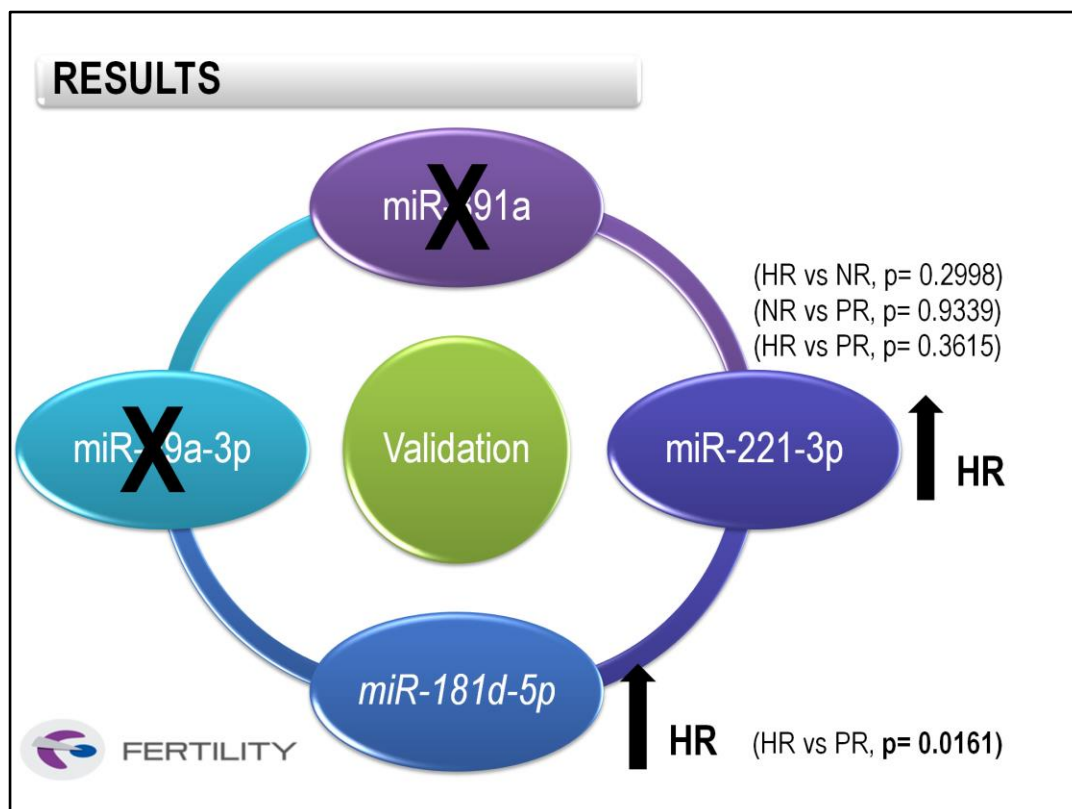
Com base na qualidade da amplificação,

no padrão de detecção nos grupos experimentais e

dados da literatura,

dois miRNAs com detecção exclusiva no grupo PR e dois miRNAs com detecção exclusiva no grupo HR

foram selecionados para validação

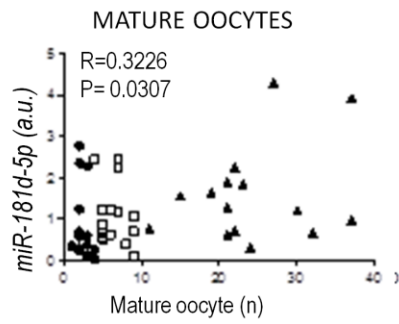


Curiosamente, os microRNAs 891a e 99a-3p não apresentaram amplificação no set de validação,

Já os níveis SÉRICOS DO 221-3p ESTAVAM AUMENTADOS NO GRUPO HIPERRESPOTA, PORÉM NAO FOI OBSERVADA NENHUMA DIFERENÇA SIGNIFICATIVA QUANDO COMPARADO COM OS GRUPOS NORMO E POBRE RESPOSTA

POR OUTRO LADO O 181D-5P ESTEVE SIGNIFICANTEMENTE AUMENTADO NO GRUPO HR UANDO COMPARADO COM O GRUPO PR

RESULTS



Além disso os níveis séricos de miR-181d-5p também foram positivamente correlacionados com o número de oócitos madutos, número de folículos aspirados, número de oócitos recuperados, taxa de oócitos maduros

CONCLUSION

miRNA biomarker: potential diagnostic tool for the management of the treatment of infertility

The quantification of *miR-181d-5p* prior to the COS may discriminate patients who will hyper or poor respond to the COS

Allowing the individualization of the treatment, increasing treatment success while decreasing the risks, patients' physical, emotional and economic burden

Em conclusão:

Biomarcadores micro RNAs emergem como uma potencial ferramenta para o manejo dos tratamentos de reprodução assistida.

A quantificação do *miR-181d-5p* anteriormente ao EOC pode nos auxiliar a discriminar pacientes que irão responder de maneira exacerbada ou de maneira insuficiente ao estímulo ovariano

Tal estratégia pode permitir a individualização do tratamento, aumentando as taxas de sucesso assim como diminuindo os riscos do tratamento, e cargas físicas, emocionais e financeiras

Análises futuras da detecção do *miR-181d-5p* em um maior número de amostras pode contribuir para a validação deste microRNA como uma ferramenta diagnóstica para a predição da resposta ao estímulo ovariano controlado.



FERTILITY
MEDICAL GROUP



FERTILITY

www.fertility.com.br

And finally, I would like to thank all Fertility Medical Group team for the outstanding contributions and thank you all for your attention.

DISCUSSÃO



O sucesso das TRAs é altamente dependente da resposta ao estímulo controlado. A previsão da resposta ovariana ao EOC, além de aumentar o sucesso das próprias técnicas, ainda tem um impacto nos pacientes, considerando os problemas emocionais, de saúde e financeiros associados à TRA

Encontrar métodos para prever a resposta ovariana à estimulação é sem dúvida de grande interesse no campo da medicina reprodutiva.

DISCUSSÃO

Primeiro estudo que correlaciona metabólitos sanguíneos e resposta ovariana

REPRODUCTION RESEARCH

Prediction of embryo implantation potential by mass spectrometry fingerprinting of the culture medium

Sylvia Sanches Cortezzi¹, Elaine Cristina Cabral², Marcello Garcia Trevisan^{3,4},
Christina Ramires Ferreira², Amanda Souza Setti^{1,5}, Daniela Paes de Almeida Ferreira Braga^{1,5},
Rita de Cássia Sávio Figueira⁵, Assumpto Iaconelli Jr^{1,5}, Marcos Nogueira Eberlin²
and Edson Borges Jr^{1,5}

P-658 Wednesday, November 1, 2017

JGIR Assisted Reproduction 2016;20(4):227-231
doi: 10.5935/1518-0557.20160044

Original Article

UTERINE FLUID LIPIDOMIC AS AN ENDOMETRIAL

RECEPTIVITY PREDICTIVE TOOL. D. P. Braga,^{1,2,3}
D. A. Montanni,⁴ A. S. Setti,^{1,5} G. Pili,⁴ A. Godoy,⁴
M. N. Eberlin,⁴ A. Iaconelli, Jr.,^{1,5} E. Borges, Jr.,^{1,5}
E. G. Lo Turco.⁶ ¹Fertility Medical Group, São Paulo, Brazil; ²Instituto Sa-
pientiae - Centro de Estudos e Pesquisa em Reprodução Assistida, São Paulo,
Brazil; ³Disciplina de Urologia, Departamento de Cirurgia - UNFESP, São
Paulo, Brazil; ⁴Laboratório Thomson de Espectrometria de Massas - Insti-
tuto de Química - UNICAMP, Campinas, Brazil.



Non-invasive prediction of blastocyst implantation, ongoing preg-
nancy and live birth, by mass spectrometry lipid fingerprinting

Edson Borges Jr^{1,2}, Daniela R.A.F. Braga^{1,3}, Amanda Souza Setti^{1,2}, Daniela A. Montanni³, Elaine Cristina
Cabral⁴, Marcos N. Eberlin⁴, Edson G. Lo Turco⁶, Assumpto Iaconelli Jr¹

J:119-124

Original Article



FERTILITY

Non-Invasive Prediction of Blastocyst Formation by Day Three
Embryo Culture Medium Mass Spectrometry Lipid Fingerprinting

Daniela Paes de Almeida Ferreira Braga^{1,2,3}, Amanda Souza Setti^{1,2}, Elaine Cristina Cabral⁴, Marcos Eberlin⁴,
Edson Guimarães Loturco⁶, Edson Borges Jr^{1,2}



FERTILITY
MEDICAL GROUP

Estudos anteriores de metabolômica em reprodução assistida investigaram o perfil metabólico embrião utilizado em meios de cultura e de implantação utilizando fluido endometrial, e também mostraram resultados promissores na utilização deste técnica como adjunta para melhorar o sucesso das TRAs.

O presente trabalho que avaliou a resposta ovariana no sangue corrobora mais uma vez que técnicas moleculares e de “OMICS” são ferramentas que serão indispensáveis na área de reprodução humana assistida

DIRETORES	GINECOLOGIA E ULTRASOM	APOIO	
Assumpto Iaconelli Jr.	Barbara Brigati	Amanda Brombin	
Edson Borges Jr.	Carla Iaconelli	Edson Pinheiro	
ADMINISTRATIVO	Fabio Biaggioni Lopes	José Carlos de Jesus	
Margaret Meira	Graziela Canheo Chaves Carvalho	Juceli Amorin	
Magda Bertochi	Mauro Bibancos de Rose	Lucácio de Souza Anjos	FERTILITY MEDICAL GROUP
LABORATORIO DE FIV	Natalia Grandini Tannous	Katia Rodrigues	
Jéssica Rocha Ribeiro as Silva	Paula Ferreiro Vieira	Paulo Luiz Paiva	
Kelly Precipito	ENFERMAGEM	Ronnie Alexandre Mussio	
Livia Vingris	Carla Mercante	Guilherme Gomes	
Matheus de Castro Azevedo	Iara Resende	Francisco Júnior	
Renata Cristina Ferreira	Rosieli Patricia A da Silva	Genilson Rodrigues	
Rita de Cássia Sávio Figueira	FARMÁCIA	Jicélia Santos	
LABORATORIO DE ANDROLOGIA	Glaucia Aparecida Amadio	Maria Piedade	
Rodrigo Provenza	Sheila Lopes	Zenilda Sousa	
PESQUISA CIENTÍFICA	PSICOLOGIA	José Roberto Duarte	
Amanda Souza Setti	Rose Marie Melamed	Vitor Carmelo	
Bianca Ferrarini Zanetti	NUTRIÇÃO	ANESTESIA	
Daniela Paes de Almeida F. Braga	Gabriela Halperm	Maternidade ProMatre Paulista	
DEPARTAMENTO EDUCACIONAL	INFORMATICA	UNIFESP	UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO 1933
Erika Ono Kawoku	Marcelo Baptista	Daniela Antunes Montani	
		Diogo de Oliveira Silva	

Gostaria de agradecer a toda a equipe Fertility e UNIFESP pela realização desse trabalho

Obrigada.

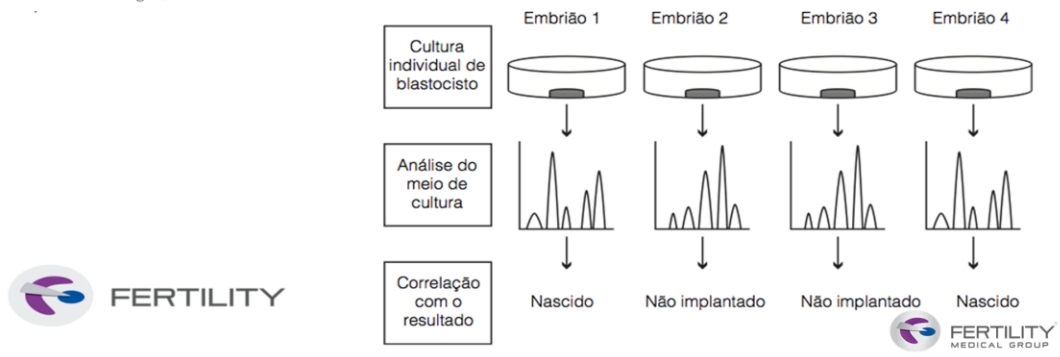
INTRODUÇÃO

Metabolômica

REPRODUCTION

Prediction of embryo implantation potential by mass spectrometry fingerprinting of the culture medium

Sylvia Sanches Cortezzi¹, Elaine Cristina Cabral², Marcello Garcia Trevisan^{3,4},
Christina Ramires Ferreira², Amanda Souza Setti^{1,5}, Daniela Paes de Almeida Ferreira Braga^{1,5},
Rita de Cássia Sávio Figueira⁵, Assumpto Iaconelli Jr^{1,5}, Marcos Nogueira Eberlin²
and Edson Borges Jr^{1,5}



Na área da reprodução assistida, a maioria dos estudos, se concentrou na avaliação do perfil metabólico do embrião através da análise de metabólitos liberados no meios de cultura, com o objetivo de prever seu potencial de implantação

INTRODUÇÃO

Metabolômica

REPRODUCTION

Metabolic profiling of human follicular fluid identifies potential biomarkers of oocyte developmental competence

A O'Gorman^{1,2}, M Wallace^{1,2}, E Cottell³, M J Gibney², F M McAuliffe⁴, M Wingfield³ and L Brennan^{1,2}

Human Reproduction, Vol.32, No.11 pp. 2269-2278, 2017
Advanced Access publication on October 13, 2017 doi:10.1093/humrep/dec003

human reproduction ORIGINAL ARTICLE Reproductive biology

Targeted metabolomics reveals reduced levels of polyunsaturated choline plasmalogens and a smaller dimethylarginine/arginine ratio in the follicular fluid of patients with a diminished ovarian reserve

J.M. Chao de la Barca^{1,2}, T. Boueilh³, G. Simard^{1,4}, L. Boucrot^{2,3}, V. Ferré-L'Hôteiller³, L. Tessier¹, C. Gadras¹, P.E. Bouet⁵, P. Descamps⁶, V. Procaccio^{1,2}, P. Reynier^{1,2}, and P. May-Panloup^{2,3,6}

Molecular BioSystems

Metabolomic profiling and biochemical evaluation in follicular fluid of endometriosis patients

Santonastaso Marianna^{1#}, Pucciarelli Alessia^{2#}, Costantini Susan³, Caprio Francesca⁴, Sorice Angela³, Capone Francesca³, Natella Antonella⁴, Iardino Patrizia⁵, Colacurci Nicola^{1*}, Chiosi Emilio^{2*}

www.impactjournals.com/oncotarget/ Oncotarget, 2017, Vol. 8, (No. 46), pp: 80472-80480

Research Paper

Follicular metabolic changes and effects on oocyte quality in polycystic ovary syndrome patients

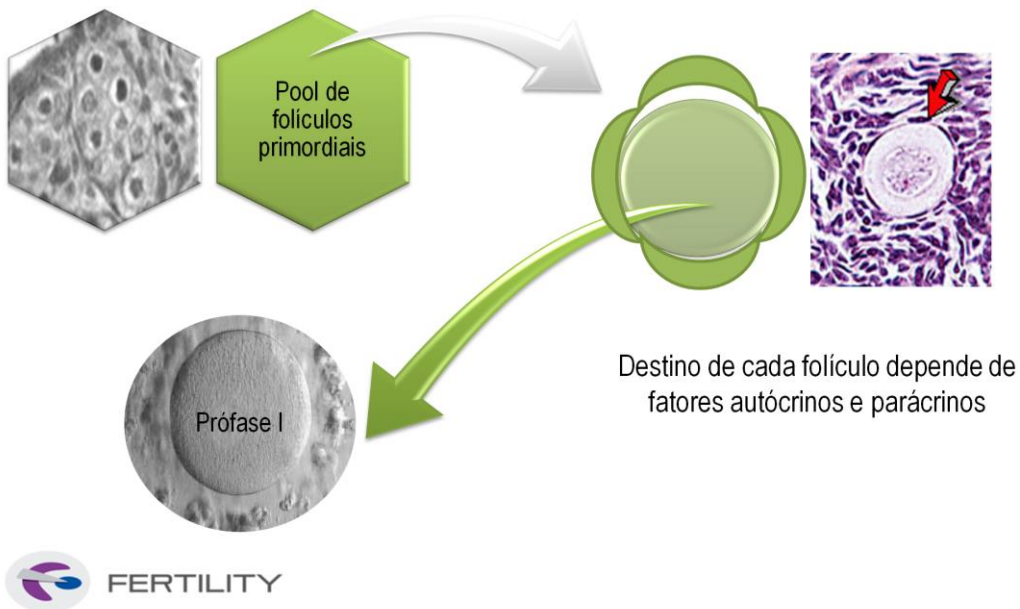
Yan Zhang^{2,3}, Lingyan Liu^{1,4}, Tai-Lang Yin⁴, Jing Yang⁴ and Cheng-Liang Xiong^{2,3}



Além disso, metabólitos do fluido folicular também já foram estudados para entender melhor a competência oocitária, envelhecimento ovariano, endometriose e síndrome do ovário policístico.

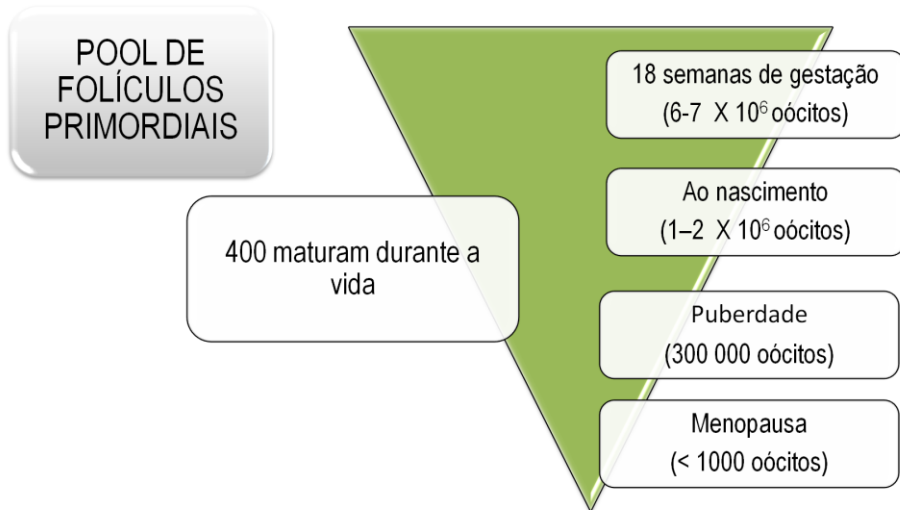
Até o momento, não existem estudos que investiguem a importância do perfil metabolômico na resposta à EOC.

INTRODUÇÃO



- No momento do Nascimento, os ovários humanos contém um pool de folículos primordiais,
- Os quais consistem de um oócito primário primordial, com seu desenvolvimento bloqueado na profase da primeira divisão meiótica, rodeado por uma unica camada de células da granulosa
- E o destino de cada folículo depende de fatores autócrinos e parácrinos

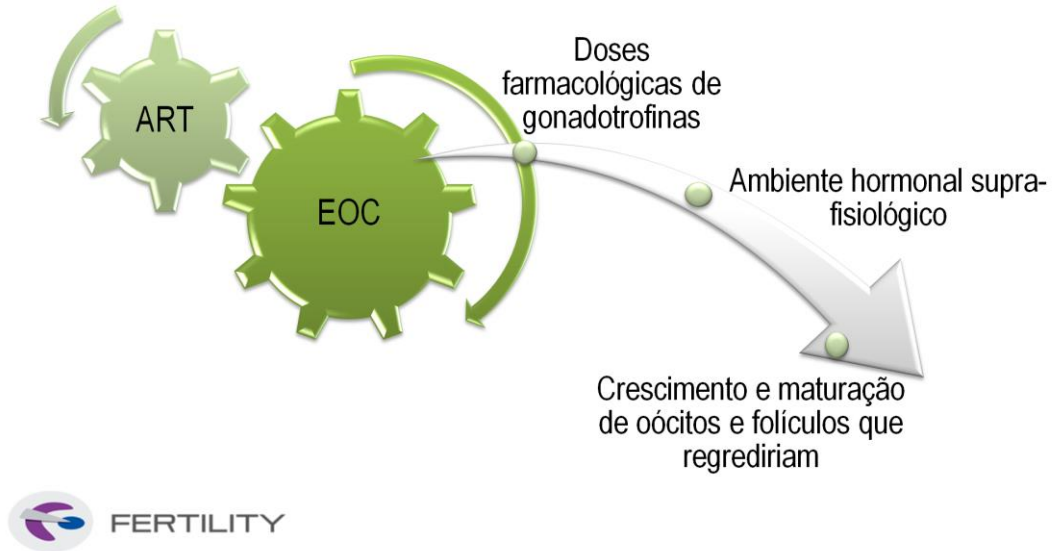
INTRODUÇÃO



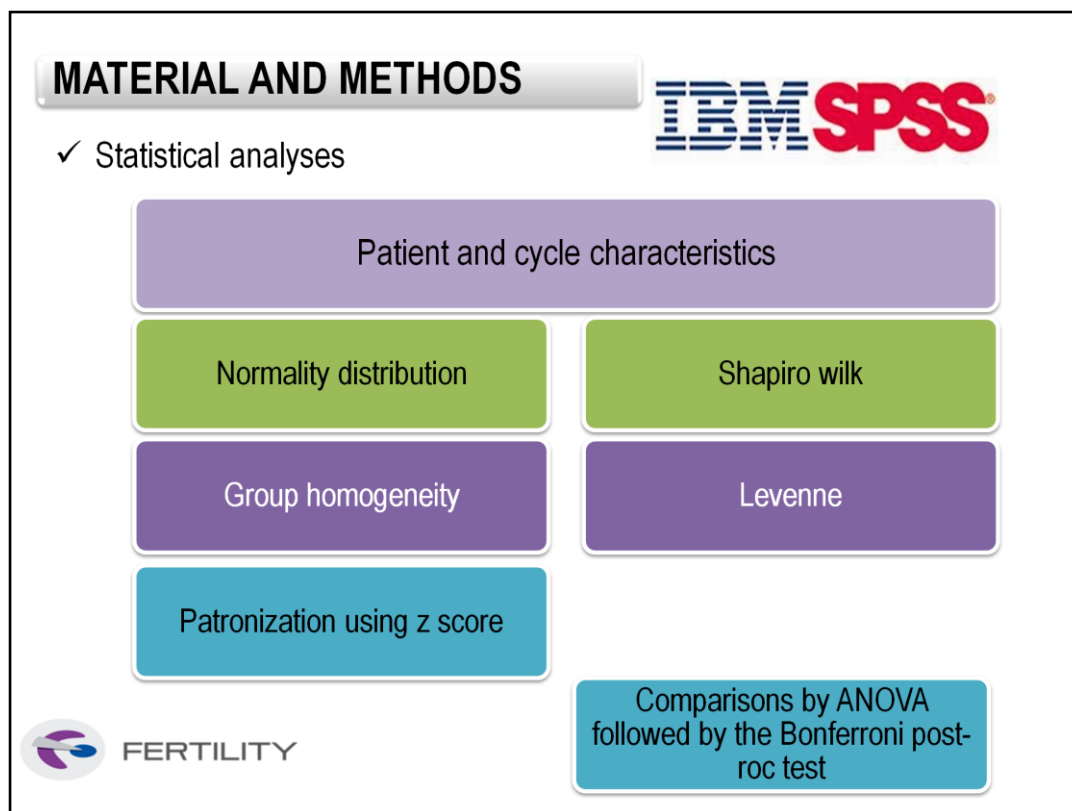
Dos milhões de folículos presentes às 18 semanas de gestação, pouco mais de 400 maturam durante a vida de uma mulher

INTRODUÇÃO

✓ Estímulo ovariano controlado



Em contraste com o processo in vivo, onde a maturação folicular e oócitária ocorrem por meio da seleção natural, para ciclos de reprodução assistida, doses farmacológicas de gonadotrofinas, criam um ambiente hormonal supra-fisiológico, o qual induz o crescimento e maturação de uma coorte de folículos, os quais sob condições naturais tornariam-se atresícos e regrediriam



AS CARACTERÍSTICAS DAS PACIENTES E CICLOS, FORAM ANALISADAS PELO PROGRAMA SPSS.

TODAS AS VARIÁVEIS FORAM TESTADAS QUANTO À NORMALIDADE DE DISTRIBUIÇÃO DE DADOS E HOMOGENEIDADE DOS GRUPOS, POR MEIO DOS TESTES SHAPIRO WILK E LEVENNE, RESPECTIVAMENTE.

AQUELAS QUE NÃO APRESENTARAM DISTRIBUIÇÃO NORMAL OU HOMOGENEIDADE ENTRE OS GRUPOS FORAM NORMALIZADAS POR Z SCORE E FINALMENTE OS GRUPOS FORAM COMPARADOS POR ANOVA SEGUIDA DO TESTE POST HOC DE BONFERRONI

HYPOTHESIS

- The study of signalling molecules, such as miRNAs, in the serum of patients undergoing IVF may be a valuable approach to predict the response to COS and facilitate the development of an individualised gonadotrophin dosing strategy

OBJETIVE

- Identify potential miRNAs biomarkers of ovarian response to COS.



FERTILITY

O estudo de moléculas sinalizadoras, como os miRNAs, no soro de pacientes submetidos à fertilização in vitro pode ser uma abordagem valiosa para prever a resposta à COS e facilitar o desenvolvimento de uma estratégia individualizada para a administração de gonadotrofinas em protocolos de EOC.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi identificar potenciais biomarcadores miRNAs da resposta ao estímulo ovarian controlado