

IMMATURE OOCYTE INCIDENCE: CONTRIBUTING FACTORS AND EFFECTS ON INTRACYTOPLASMIC SPERM INJECTION CYCLES

Daniela Paes de Almeida Ferreira Braga^{1,2} , Bianca Ferrarini Zanetti^{1,2},
Amanda Souza Setti^{1,2}, Assumpto Iaconelli Jr.¹Edson Borges Jr^{1,2};



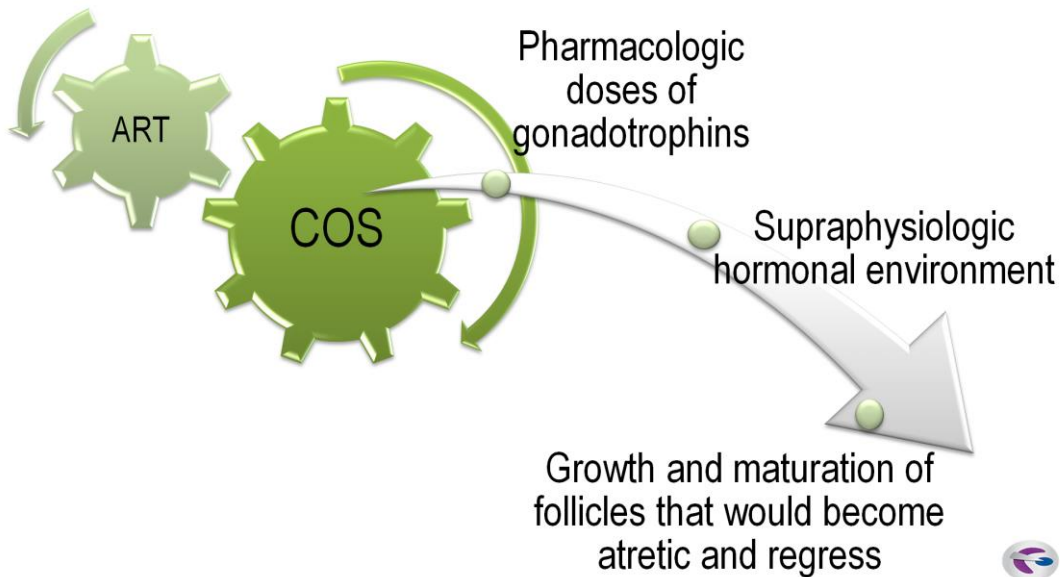
FERTILITY
MEDICAL GROUP



Boa tarde, este estudo foi realizado no Fertility Medical Group, centro de reprodução assistida em colaboração com o Instituto Sapientiae, centro de educação e pesquisa em reprodução assistida. Ambos em São Paulo, Brasil.

INTRODUCTION

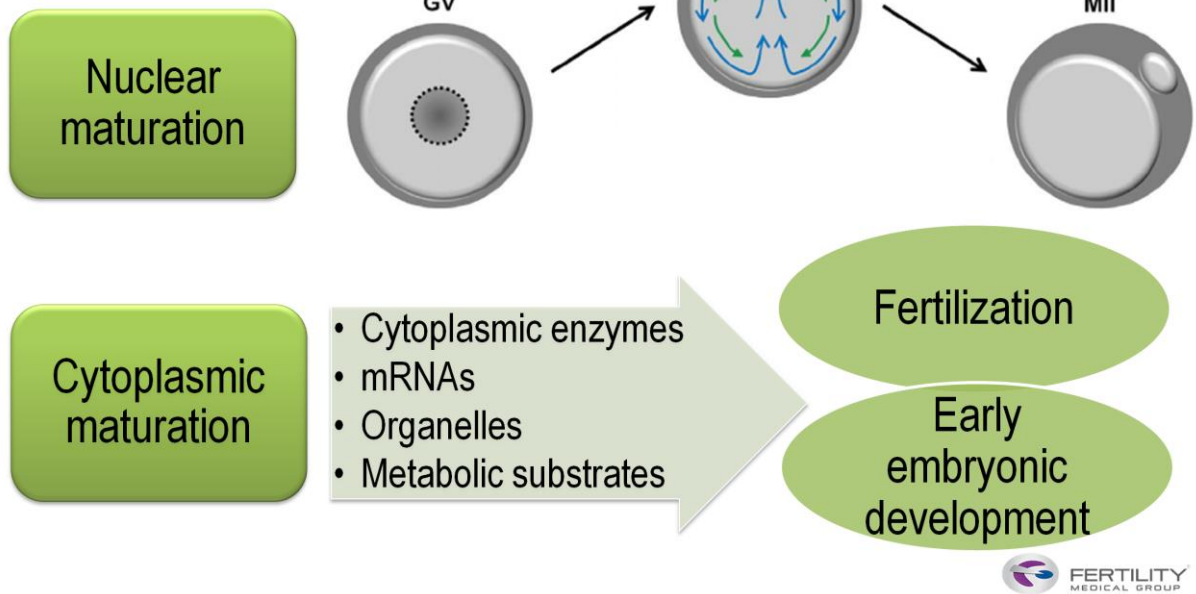
✓ Controlled Ovarian Stimulation (COS)



Em contraste com o processo in vivo, onde a maturação oocitária ocorre como resultado da seleção natural, para ciclos de reprodução assistida, doses farmacológicas de gonadotrofinas criam um ambiente hormonal suprafisiológico que induz o crescimento e a maturação de uma coorte de folículos que, sob condições naturais condições tornaram-se atresícos e regridiriam

INTRODUCTION

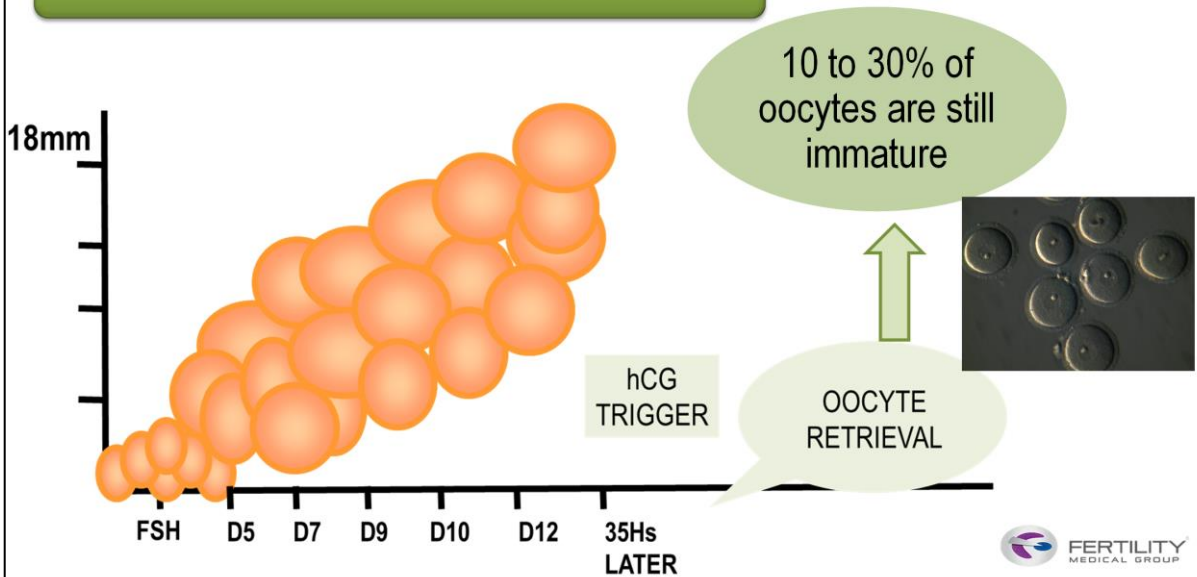
✓ Oocyte maturation



- A maturação nuclear oocitária é definida como o reinício e conclusão da primeira divisão meiótica.
- A maturação nuclear acontece juntamente com a maturação citoplasmática, que inclui o armazenamento de enzimas citoplasmáticas, RNAs, organelas e substratos metabólicos
- que são cruciais para a fertilização e o desenvolvimento embrionário inicial
- Oocyte maturation is defined as the restart and completion of the first meiotic division from prophase I, through metaphase I, to metaphase II
- This happens together with cytoplasmic maturation, which includes the storage of cytoplasmic enzymes, RNAs, organelles, and metabolic substrates
- which are crucial for fertilization and early embryonic development

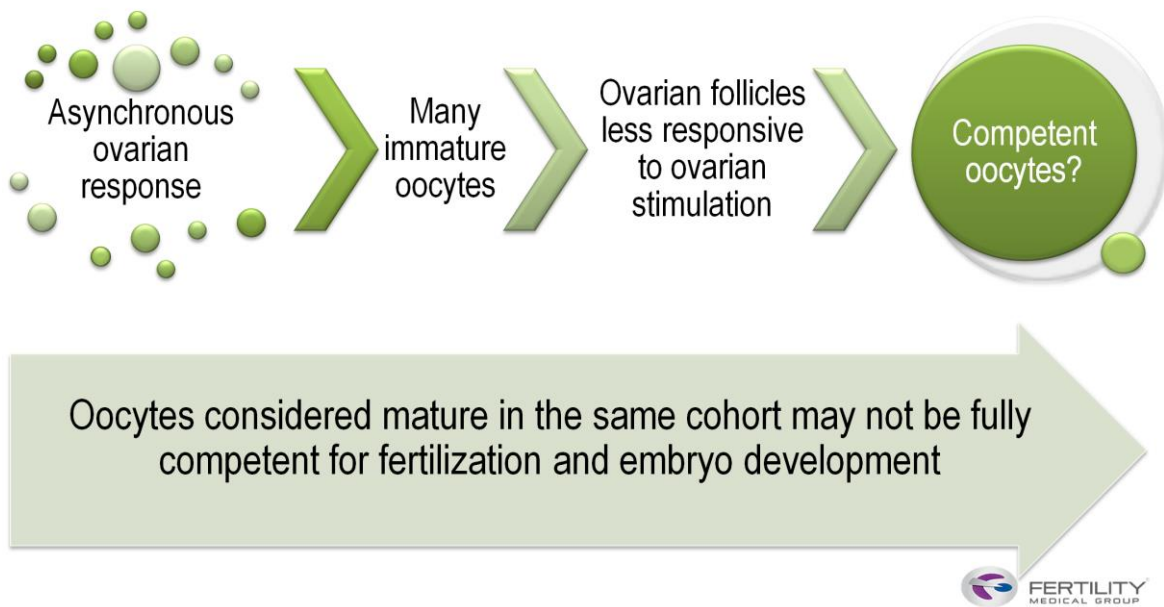
INTRODUCTION

CONTROLLED OVARIAN STIMULATION



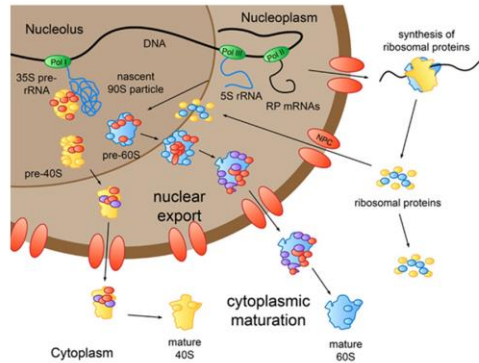
Após a estimulação ovariana controlada, geralmente de 10 a 30% dos oócitos ainda estão imaturos na recuperação.

INTRODUCTION



- Resposta ovariana assíncronica,
- com muitos óócitos imaturos no momento da coleta
- Pode indicar que toda a coorte de folículos é menos responsiva à estimulação ovariana,
- e que os óócitos considerados maduros na mesma coorte podem não ser totalmente competentes para a fertilização e desenvolvimento embrionário

INTRODUCTION



Cytoplasmic maturation completion

- No macroscopic markers
- No single observable factor

✓ Data about the impact of higher immature oocytes incidence in the developmental competence of the MII oocytes from the same cohort are scarce

Como não existem marcadores macroscópicos indicando a maturação citoplasmática completa,

Existem poucos dados na literatura sobre o impacto da incidência de ooócitos imaturos no desenvolvimento dos oócitos da mesma coorte

OBJECTIVE

To investigate which factors contribute to the incidence of immature oocytes

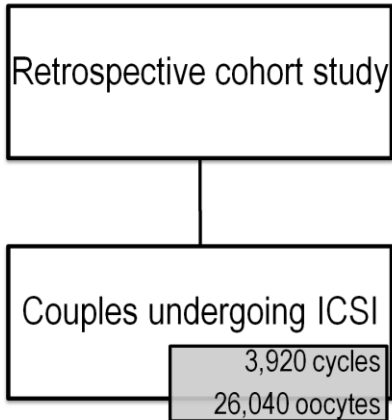
To investigate how immature oocytes impact the outcomes of mature oocytes from the same cohort

Portanto, o objetivo do presente estudo foi investigar quais fatores contribuem para a incidência de oócitos imaturos.

E investigar como oócitos imaturos impactam os resultados de oócitos maduros da mesma coorte

MATERIALS AND METHODS

- STUDY DESIGN



Generalized linear models

- Influence of COS protocols and FSH doses on immature oocyte incidence and rates

Regression models

- The effects of immature oocytes rates on ICSI outcomes



- Este estudo de coorte incluiu vinte e seis mil e quarenta óócitos coletados de três mil e novecentos e vinte ciclos ICSI
- Modelos lineares generalizados foram utilizados para investigar a influência dos protocolos de estimulação ovariana controlada e doses do FSH na incidência de óócitos imaturos
- Os efeitos das taxas de óócitos imaturos nos resultados da ICSI foram analisados por modelos de regressão.

MATERIALS AND METHODS

Discriminant analysis for pregnancy outcome prediction

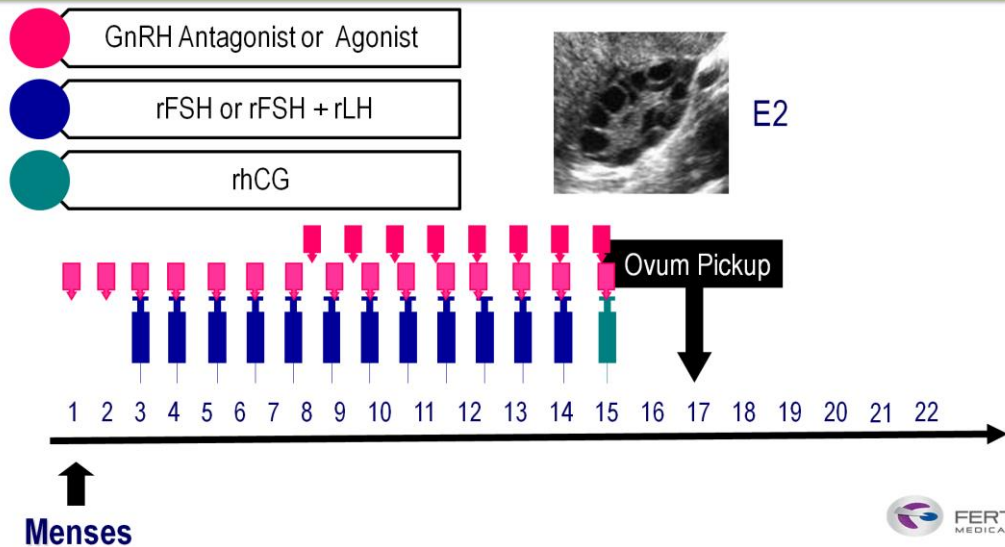
- MI/oocyte rate
- GV/oocyte rate
- Female age
- Total FSH dose
- Number of retrieved oocytes
- Number of transferred embryos
- Endometrial thickness

Data grouped according
with established cut-off
for MI/oocyte rate

- ✓ Uma Análise Discriminante para a predição do resultado da gestação foi realizada.
- ✓ As variáveis utilizadas como variáveis independentes foram: taxa de óócitos imaturos, idade feminina, dose total de FSH, número de óócitos recuperados, número de embriões transferidos e espessura endometrial.
- ✓ Os dados foram agrupados de acordo com o ponto de corte estabelecido pelo modelo para a taxa de óócitos em MI,

MATERIALS AND METHODS

Controlled Ovarian Stimulation



- Pacientes foram submetidas a bloqueio hipofisário utilizando antagonista ou agonista do GnRH e foram estimuladas com FSH recombinante ou FSH recombinante associado ao LH recombinante.
- Quando adequados crescimento e níveis séricos de E2 foram observados,
- hCG recombinante foi utilizado para desencadear a maturação folicular final.

MATERIALS AND METHODS



Incubation, denudation and nuclear maturation evaluation



ICSI - (Palermo et al., 1992)



Embryo culture until day 5



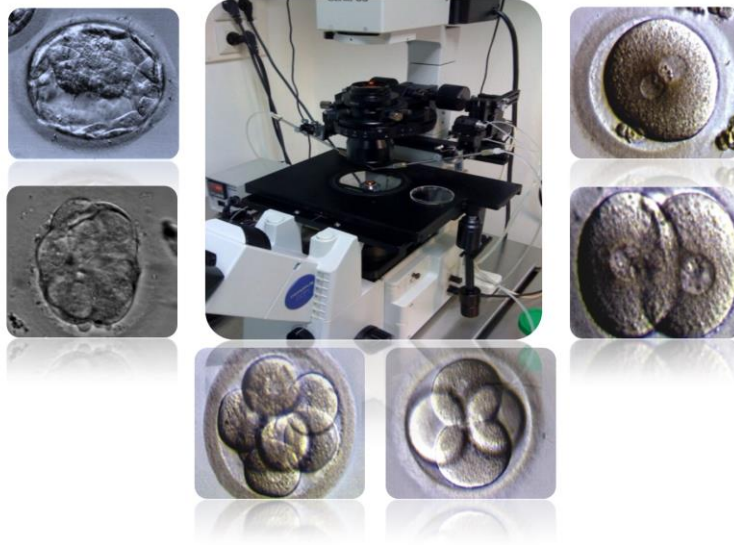
One or two blastocysts transferred



- Após a recuperação os oócitos foram incubados, denudados e o estágio de maturação nuclear foi avaliado. Oócitos que liberaram o primeiro corpúsculo polar foram considerados maduros e foram usados para ICSI.
- ICSI foi realizada de acordo com Palermo e colegas em 1992
- Após a injeção de espermatozóides, oócitos e posteriormente os embriões foram cultivados até o dia cinco
- No quinto dia de desenvolvimento, um ou dois blastocistos foram transferidos para o útero da pacientes.

MATERIALS AND METHODS

- EMBRYO MORPHOLOGY AND EMBRYO TRANSFER



- todos os embriões foram avaliados nos dias dois, três e cinco.
- Todos os parâmetros avaliados foram utilizados para a seleção do melhor embrião para transferência

RESULTS

Linear model analysis of the contributing factors for the number of immature oocytes and immature oocytes rates (n=3,920).

	GV incidence			MI incidence		
	R ²	β	p	R ²	β	p
FSH dose	0.050	-0.035	0.029	0.042	-0.046	0.004
E2 levels	0.155	0.342	<0.001	0.146	0.324	<0.001
hCG interval	0.050	-0.014	0.385	0.042	-0.015	0.368
	GV / retrieved oocytes			MI / retrieved oocytes		
	R2	β	p	R2	β	p
FSH dose	0.002	0.009	0.592	0.001	-0.009	0.567
E2 levels	0.003	0.034	0.107	0.001	0.015	0.491
hCG interval	0.003	-0.015	0.356	0.002	-0.025	0.135

- Aqui estão descritos os resultados da análise de regressão linear dos fatores que possam contribuir para os números e taxas de oócitos imaturos.
- O número de oócitos em Profase e em Metaphase I foram influenciados pela dose total de FSH e pelo nível de Estradiol no dia do trigger

RESULTS

Effect of the pituitary blockage and COS protocol on the number of immature oocytes and immature oocytes rates (n=3,920).

	GnRH antagonist			GnRH agonist		
	rFSH (n=1570)	rFSH + rLH (n=980)	p	rFSH (n=658)	rFSH + rLH (n=712)	p
MI	1.13±0.03	1.12±0.05	0.928	1.45±0.10	0.38±0.68	0.119
GV	1.33±0.05	1.36±0.08	0.731	1.46±0.14	0.40±0.93	0.263
MI/oocyte	10.75±0.36	11.33±0.59	0.405	13.40±0.91	6.32±6.19	0.147
GV/oocyte	11.01±0.36	5.93±5.40	0.042	11.52±1.12	1.86±2.10	<0.001

Notamos também que a taxa de oócitos em Prófase foi diminuída quando LH foi associado ao FSH para estímulo ovariano controlado, quando o bloqueio hipofisário foi realizado tanto por meio do agonista quanto do antagonista do GnRH

RESULTS

Regression analysis of the association between immature oocytes rate and ICSI outcomes

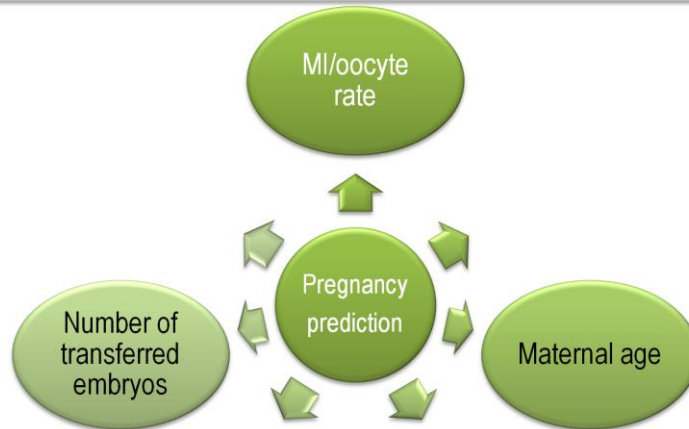
	MI/oocyte			GV/oocyte		
	R ²	β	p	R ²	β	p
Fertilization rate	0.035	-0.096	<0.001	0.029	-0.059	<0.001
High-quality embryos rate D2	0.014	-0.102	<0.001	0.008	-0.066	<0.001
High-quality embryos rate D3	0.020	-0.090	<0.001	0.020	-0.087	<0.001
Blastocyst rate	0.073	-0.066	<0.001	0.071	-0.053	<0.001
Implantation rate	0.059	-0.074	<0.001	0.056	-0.042	0.033
	B	OR	p	B	OR	p
Pregnancy rate	-0.011	0.989	0.002	-0.009	0.992	0.013
Miscarriage rate	0.010	1.011	0.220	0.006	0.944	0.418



- Aqui você pode ver os resultados da análise da associação entre taxas de oócitos imaturos e resultados de ICSI.
- As taxas de oócitos imaturos foram negativamente correlacionadas com taxa de fertilização, taxa de bons embriões em estágio de clivagem como também com a taxa de formação de blastocisto.
- O efeito também foi observado para os resultados clínicos. As taxas de oócitos imaturos afetaram negativamente as taxas de implantação e gravidez.

RESULTS

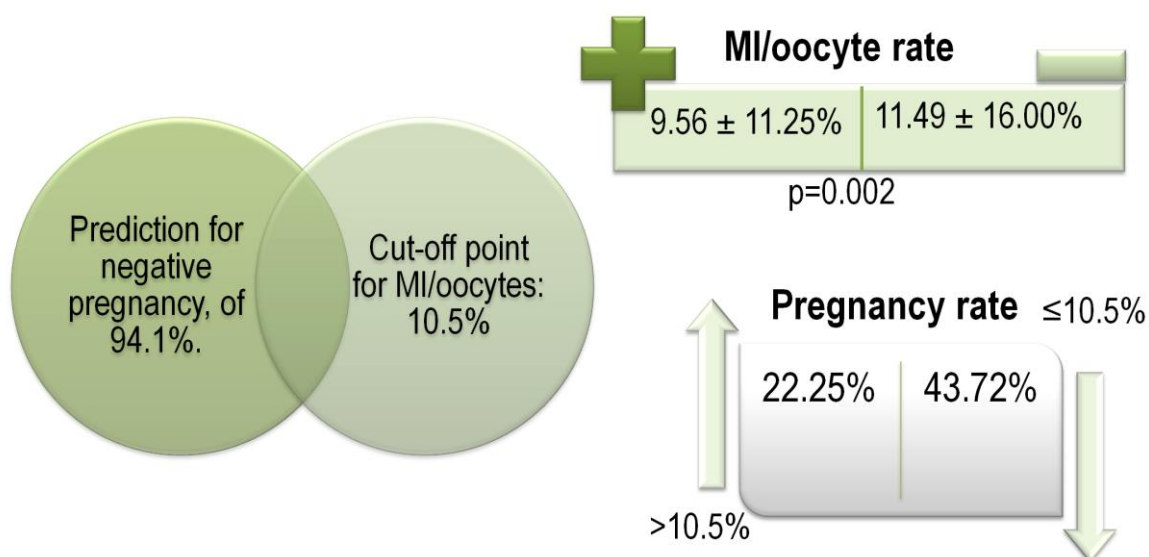
Discriminant analysis for pregnancy outcome prediction



- Em relação às análises discriminatórias
- Das seguintes variáveis utilizadas no modelo para a predição da gestação: a idade materna, o número de embriões transferidos e a taxa de óocitos em MI foram as variáveis com maior correlação com a gestação

RESULTS

Discriminant analysis for pregnancy outcome prediction



- O modelo pôde prever a gestação negativa com uma precisão de 94,1%.
- Um ponto de corte de 10,5% para a taxa de óócitos MI foi estabelecido
- Nesse modelo, a incidencia de óócitos em Metafase I de ciclos que resultaram em gestação clínica foi de 9,5% e para os ciclos que resultaram em gestação negativa foi de 11,5%.
- Da mesma maneira, ciclos com taxa de óócitos MI superior a 10,5% tiveram piores resultados clínicos, com taxa de gestação de 22,2% em comparação com 43,7% em ciclos com menos ou igual a 10,5% de óócitos em metáfase I.

CONCLUSION

The immature oocyte incidence is affected by the COS protocol

Immature oocyte incidence negatively impacts laboratorial and clinical ICSI outcomes

Immature oocyte incidence may be considered a predictive toll for the outcomes of ART cycles



- Em conclusão, o presente estudo sugere que: A incidência de oócitos imaturos é afetada pelo protocolo de estimulação ovariana controlada e pela dose de gonadotrofina
- A incidência de oócitos imaturos impacta negativamente a taxa de fertilização, a qualidade do embrião, a implantação e os resultados de gestação.
- Portanto A incidencia de oocitos imaturos pode ser considerada uma ferramenta preditiva dos resultados dos ciclos de reprodução assistida

WIDER IMPLICATIONS OF THE FINDINGS

The incidence of immature oocytes may reflect the competence of the whole cohort

Mature oocytes derived from cycles with higher incidence of immature oocytes may have poor embryo development and low implantation potential

These findings highlight the importance of the COS protocol and the gonadotrophin dose for the outcomes of assisted reproduction cycles



Tais achados sugerem que

A incidência de óócitos imaturos pode refletir a competência de toda a coorte

Óócitos maduros derivados de ciclos com maior incidência de óócitos imaturos podem ter baixo desenvolvimento embrionário e baixo potencial de implantação

Estes achados ressaltam a importância do protocolo de estimulação ovariana e da dose de gonadotrofina para os resultados dos ciclos de reprodução assistida



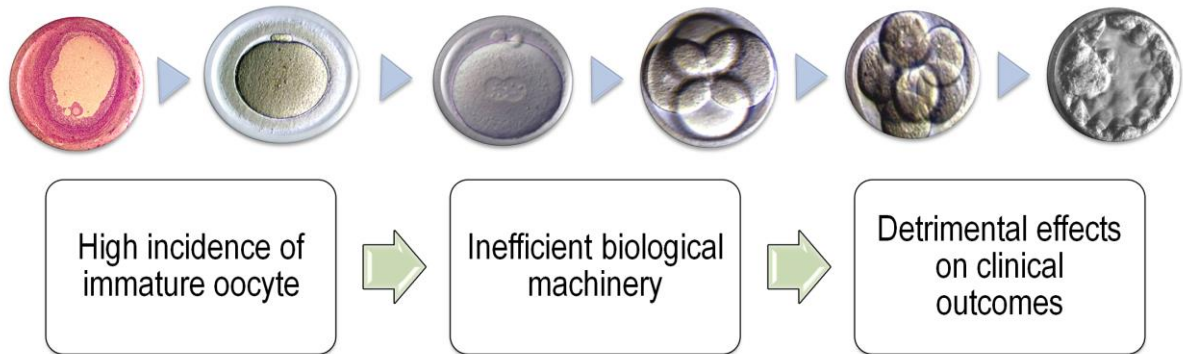
FERTILITY
MEDICAL GROUP



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.

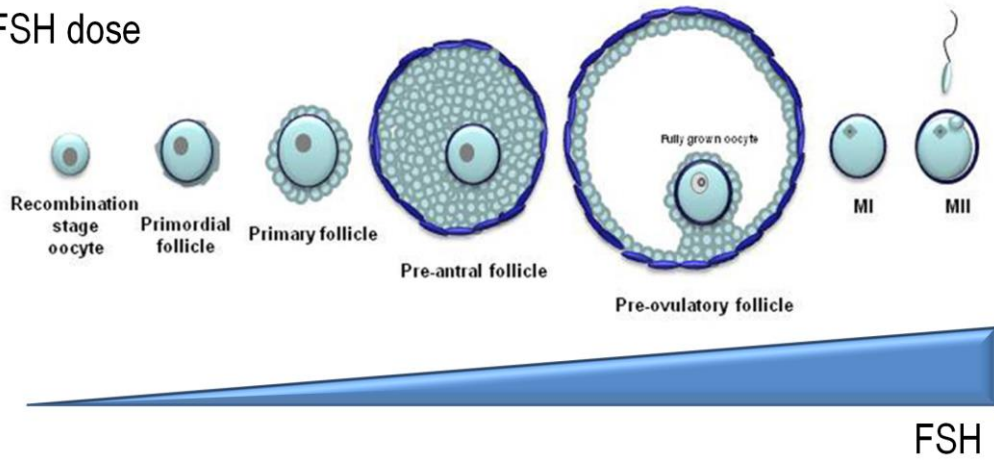
DISCUSSION



The results of this study demonstrated that oocytes derived from a cohort with high incidence of maturation fail may have an inefficient biological machinery, which would have detrimental effects on clinical outcomes.

DISCUSSION

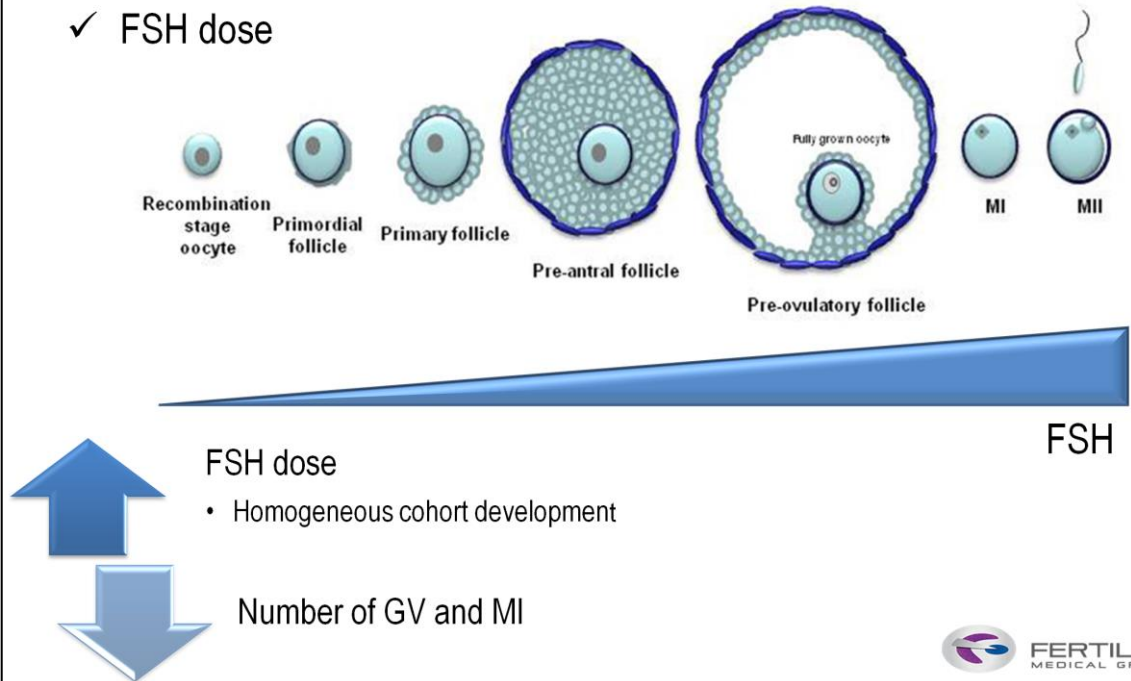
✓ FSH dose



FSH dose is crucial for proliferation and differentiation of pre-antral follicles and promotion of oocyte developmental competence

DISCUSSION

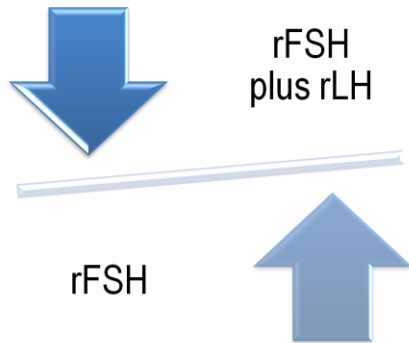
✓ FSH dose



In fact, here we showed that higher doses of FSH was associated with a more homogeneous cohort development, with higher number of follicles and oocytes and lower number of MI and GV immature oocytes

DISCUSSION

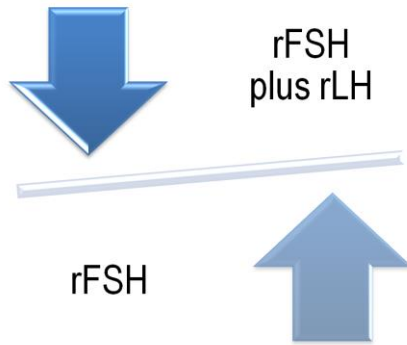
- ✓ GV/oocyte rate in GnRH agonists protocols



In agonists protocols, COS with rFSH was associated with higher GV/oocyte rate in GnRH agonists protocols, in comparison to rFSH plus rLH, indicating that LH addition could be a manner to improve oocyte maturation

DISCUSSION

- ✓ GV/oocyte rate in GnRH agonists protocols



frontiers
in Endocrinology

ORIGINAL RESEARCH
published: 01 June 2017
doi: 10.3389/fendo.2017.00114

Efficacy of Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Alone, FSH + Luteinizing Hormone, Human Menopausal Gonadotropin or FSH + Human Chorionic Gonadotropin on Assisted Reproductive Technology Outcomes in the “Personalized” Medicine Era: A Meta-analysis

Daniele Santi^{1,2}, Livio Casarini^{1,2}, Carlo Alviggi¹ and Manuela Simoni^{1,2,3*}



FERTILITY
MEDICAL GROUP

Others also observed that the presence of LH activity associated with rFSH may have a positive effect on oocyte maturation

DISCUSSION

- ✓ Estradiol levels at hCG trigger day



E2 level



Follicles
Oocytes

Journal of Assisted Reproduction and Genetics, Vol. 9, No. 3, 1992

CLINICAL ASSISTED REPRODUCTION



*European Journal of Obstetrics & Gynecology
and Reproductive Biology 56 (1994) 121–127*



The Prognostic Importance of the Number of Oocytes Retrieved and Estradiol Levels in Poor and Normal Responders in in Vitro Fertilization (IVF) Treatment

JEHOSHUA DOR,^{1,3} DANIEL S. SEIDMAN,¹ IZHAR BEN-SHLOMO,¹ DAVID LEVRAN,¹ AVRAHAM KARASIK,² and SHLOMO MASHIACH¹

Number of follicles, oocytes and embryos in human in vitro fertilization is relative to serum estradiol and progesterone patterns during different types of ovarian hyperstimulation

Ernest Suchanek^{a,*}, Korajka Huderer^a, Danko Dobec^a, Visnja Hlavati^a, Velimir Simunic^b, Veselko Grizelj^b

^aLaboratory for Reproductive Endocrinology and Embryology, ^bDepartment of Obstetrics and Gynecology, Zagreb University School of Medicine, Petarova 11, 41000 Zagreb, Croatia

Received 24 February 1994; accepted 31 May 1994

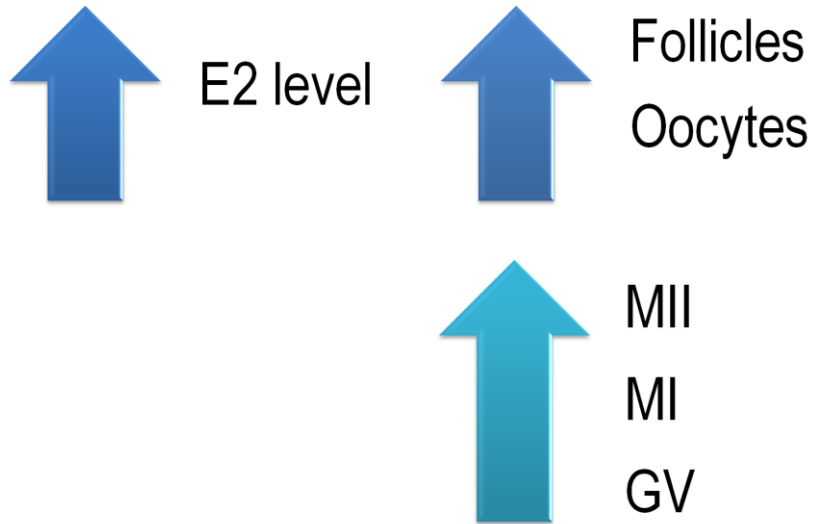


FERTILITY
MEDICAL GROUP

Higher estradiol concentration at hCG day was highly associated with the number of follicles and oocytes, in accordance to well-establish literature

DISCUSSION

- ✓ Estradiol levels at hCG trigger day



However, E2 levels were not related with immature oocytes incidence, since the number of MII, MI and GV oocytes increased as estradiol level increased.

DISCUSSION

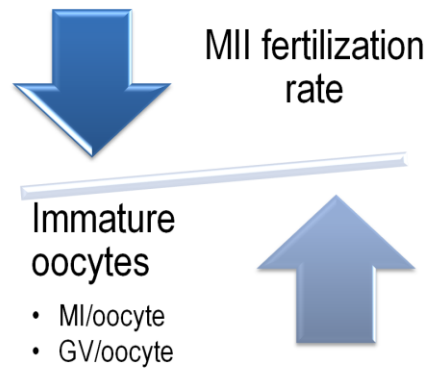
Human Reproduction vol.15 no.6 pp.1389–1395, 2000

The ability to generate normal Ca^{2+} transients in response to spermatozoa develops during the final stages of oocyte growth and maturation

Alan Cheung¹, Karl Swann¹ and John Carroll^{1,2,3}

¹Department of Anatomy and Developmental Biology and

²Department of Physiology, University College London, Gower Street, London WC1E 6BT, UK



We observed that MII fertilization rate was negatively influenced by immature oocyte incidences in the cohort.

A possible explanation is that oocyte competence depends on a multiplicity of factors developing during oocyte growth and maturation, for example the ability to generate normal Ca^{2+} transients, and is essential for promoting oocyte activation and fertilization initiation

DISCUSSION

iMedPub Journals
http://www.imedpub.com/

Insights in Reproductive Medicine

2017

Vol.1 No.1:4

Consequences of Asynchronous Follicle Growth during Controlled Ovarian Stimulation: Management Strategy

Laura de la Fuente, Inmaculada Mejia, Nerea Ruiz, Elisa Escalante, Magdalena Abad and Pilar Moreno

Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital October 12, Madrid, Spain

MII fertilization rate



Immature oocytes

- MI/oocyte
- GV/oocyte



J Assist Reprod Genet (2012) 29:803–810
DOI 10.1007/s10815-012-9799-6

ASSISTED REPRODUCTION TECHNOLOGIES

Middle East Fertility Society Journal (2015) 28: 37–42



Middle East Fertility Society
Middle East Fertility Society Journal

www.mefjournal.org
www.sciencedirect.com



The effect of immature oocytes quantity on the rates of oocytes maturity and morphology, fertilization, and embryo development in ICSI cycles

Iman Halvaei · Mohammad Ali Khalili ·
Mohammad Hossein Razi · Stefania A. Nottola

ORIGINAL ARTICLE

Oocyte maturation-index as measure of oocyte cohort quality; a retrospective analysis of 3135 ICSI cycles



Kemal Ozgur ^a, Hasan Bulut ^a, Murat Berkanoglu ^a, Kevin Coetzee ^{b,c}, Serdar Ay ^c

^a Antalya IVF, Halide Edip Cd. No: 7, Kamel Mh., Antalya 07080, Turkey

^b Vitale, Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi, Antalya, Turkey

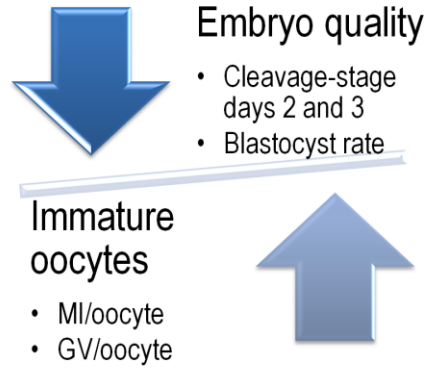
^c Sinanpaşa Family Health Center, Sinanpaşa Mah., Sinanpaşa Köprüsü Sok. No: 21, Beşiktaş, 34353 İstanbul, Turkey



FERTILITY
MEDICAL GROUP

Our results are in concordance with other that reported increase in fertilization rate with the increase incidence of mature oocytes on the cohort

DISCUSSION



The correlation of immature oocyte incidence and embryo development potential has been confirmed by this study, since we have shown that embryos derived from mature oocytes coming from cycles with higher incidence of immature oocytes were of lower quality on cleavage-stage, on both days two and three, and also had a lower blastocyst formation rate

DISCUSSION

J Assist Reprod Genet (2012) 29:803–810
DOI 10.1007/s10815-012-9799-6

ASSISTED REPRODUCTION TECHNOLOGIES

The effect of immature oocytes quantity on the rates of oocytes maturity and morphology, fertilization, and embryo development in ICSI cycles

Iman Halvaei · Mohammad Ali Khalili ·
Mohammad Hossein Razi · Stefania A. Nottola

J Assist Reprod Genet (2012) 34:895–903
DOI 10.1007/s10815-012-0935-1

ASSISTED REPRODUCTION TECHNOLOGIES

The effect of follicle size and homogeneity of follicular development on the morphokinetics of human embryos

Semra Kahraman¹ · Caroline Pirkevi Cetinkaya¹ · Murat Cetinkaya¹ · Hakan Yelke¹ ·
Yesim Kumtepe Colakoglu¹ · Melih Aygun² · Markus Montag³



Embryo quality

- Cleavage-stage days 2 and 3
- Blastocyst rate

Immature oocytes

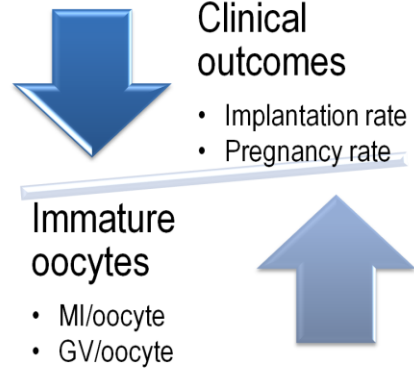
- MI/oocyte
- GV/oocyte



FERTILITY
MEDICAL GROUP

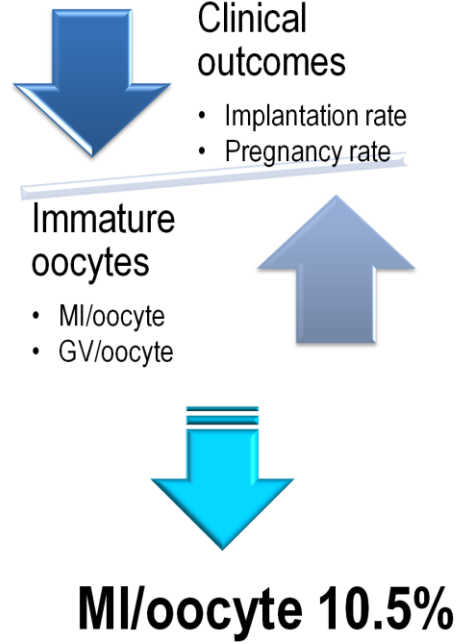
These results are in accordance to others, in which the fertilization of oocytes with maturation fail can lead to abnormal early embryo development

DISCUSSION



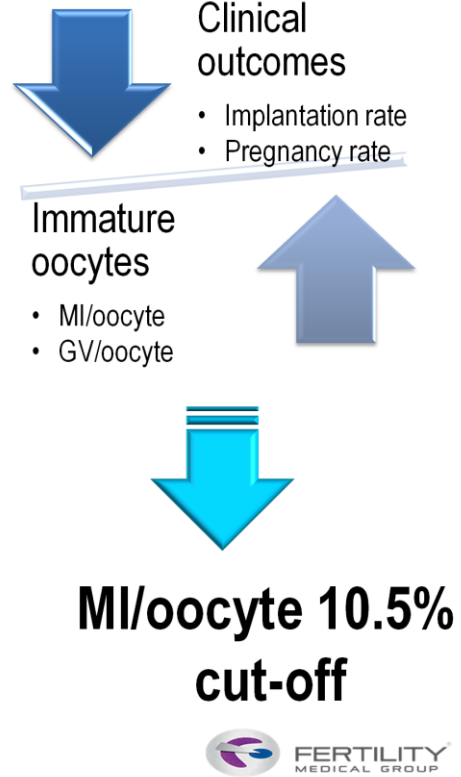
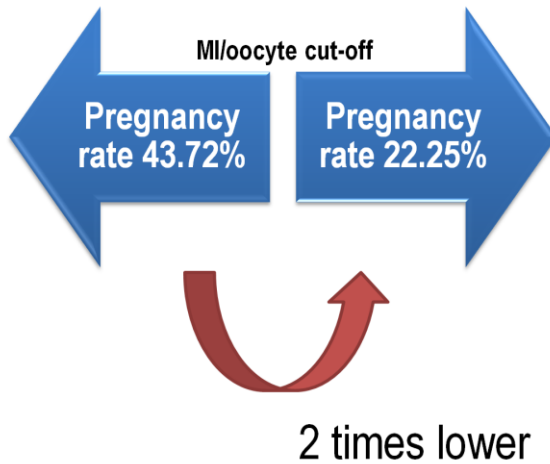
The lower fertilization, high-quality embryos and blastocyst rates impacted directly on the implantation and pregnancy rates

DISCUSSION



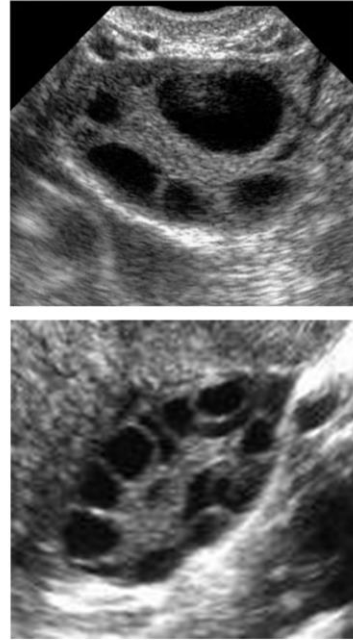
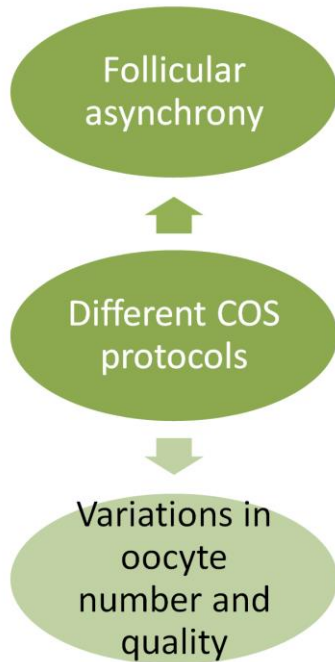
We could establish a cut-off based on discriminant analysis of MI/oocyte rate of 10.5% for the prediction of pregnancy outcome

DISCUSSION



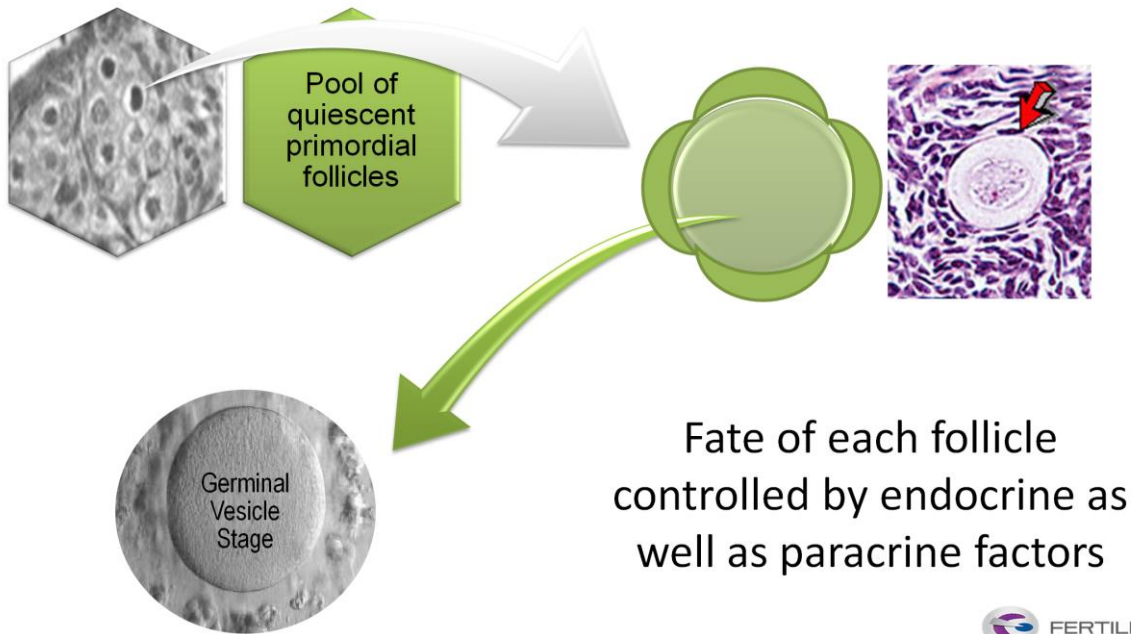
We observed that cycles with rate higher than 10.5% were correlated to poor embryo development and almost 2 times lower pregnancy rate.

INTRODUCTION



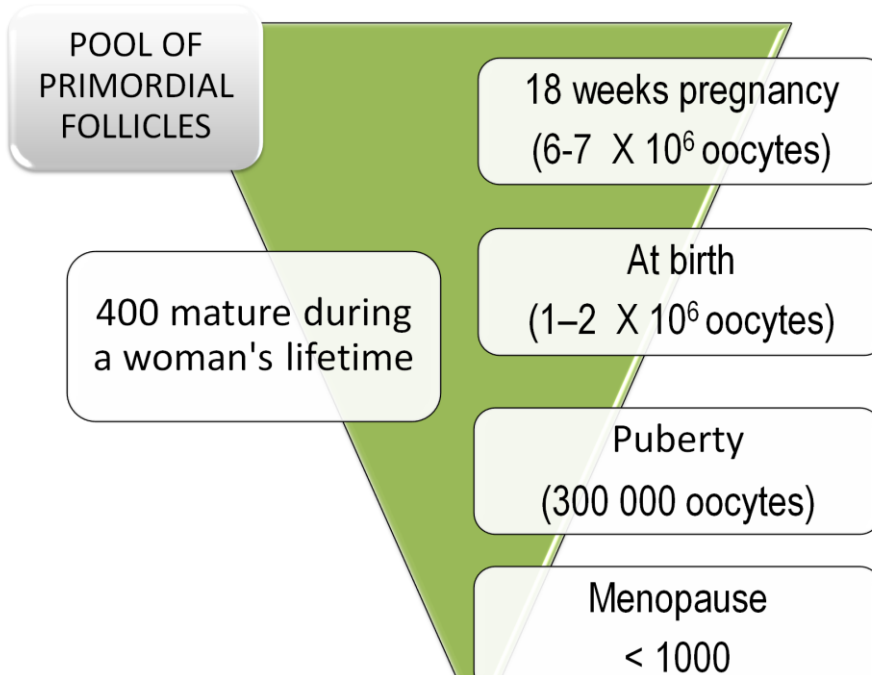
Além disso, diferentes protocolos de estimulação ovariana controlada podem resultar em assincronia folicular e variações no número e qualidade do oócitos.

INTRODUCTION



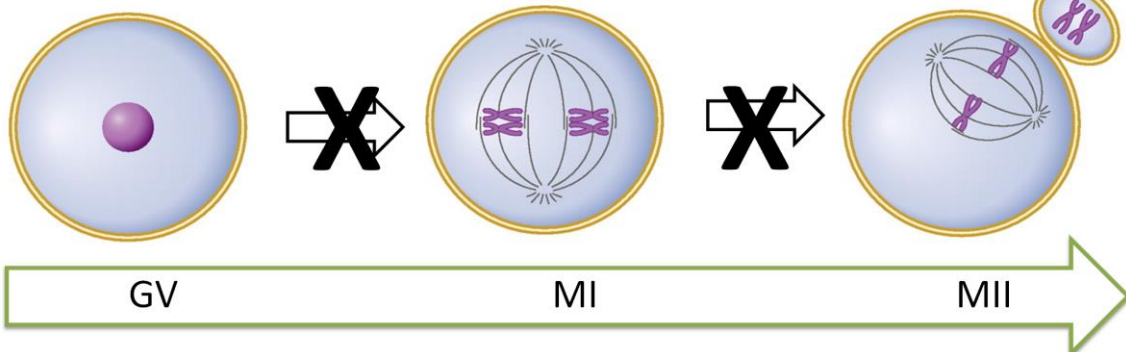
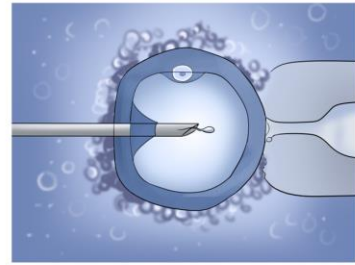
- No momento do nascimento, o ovário humano contém um pool de folículos primordiais quiescentes, sendo que cada um deles consiste de um pequeno oócito inativo, com seu desenvolvimento nuclear bloqueada na profase da primeira divisão meiótica rodeado de uma única camada de células da granulosa
- e o O destino de cada folículo é controlado por fatores endócrinos e parácrinos.

INTRODUCTION



Dos milhões de óócitos primordiais presentes ao nascimento, apenas cerca de 400 amadurecem durante a vida de uma mulher

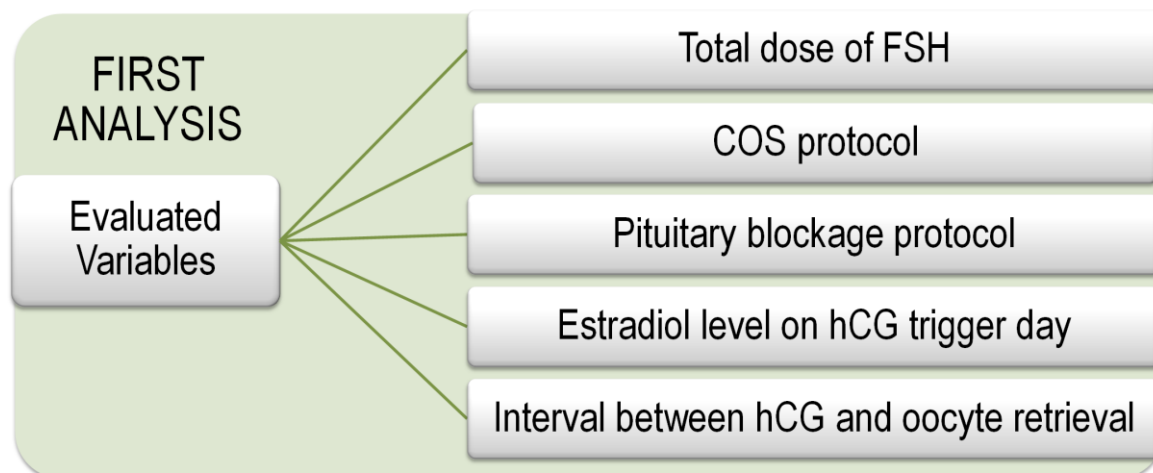
INTRODUCTION



Alguns dos oócitos imaturos podem extrusar o primeiro corpúsculo polar e progredir para a maturação durante o cultivo in vitro, e podem até ser considerados para a injeção de espermatozóides

Porém outros, sobretudo na prófase 1 podem não maturar in vitro

MATERIALS AND METHODS



A primeira análise avaliou a correlação entre a incidência de óocitos imaturos em:

dose total de FSH, protocolo de estimulação ovariana controlada, tipo de bloqueio hipotalâmico, nível de estradiol no dia do trigger de hCG, e o intervalo entre o hCG e a recuperação oocitária

MATERIALS AND METHODS

SECOND ANALYSIS

Evaluated Variables

Fertilisation rate

Embryo quality on cleavage stage

Blastocyst formation rate

Implantation rate

Pregnancy rate

Miscarriage rate

A segunda análise avaliou os efeitos das taxas de oócitos imaturos na taxa de fertilização, qualidade do embrião no estágio de clivagem, taxa de formação de blastocisto, taxa de implantação, taxa de gestação e taxa de aborto espontâneo.