

LTQ FT Ultra MS e DDA – Avaliação do potencial de implantação de embriões humanos através dos meios de cultura

*Adriana T Godoy¹ (PG), Eduardo M Schmidt^{1,2} (PG), Sylvia S Cortezzi³ (PQ), Edson Borges Jr³ (PQ), Marcos N Eberlin¹ (PQ)

adriana.godoy@gmail.com

¹Laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massas – Universidade Estadual de Campinas;

²Nova Analítica Importação e Exportação LTDA – São Paulo

³Instituto Sapientiae – Centro Educacional e Pesquisa de Reprodução Assistida, São Paulo

Palavras Chave: espectrometria de massas, meio de cultura, alta resolução, DDA.

Introdução

O desenvolvimento de métodos não invasivos capazes de prever a viabilidade de um embrião ser implantado se tornou um alvo essencial para a medicina reprodutiva. Geralmente são utilizadas técnicas que se baseiam em parâmetros morfológicos, mas muitas vezes não é suficiente para prever uma implantação bem sucedida. A aplicação da espectrometria de massas (MS) se mostra promissora e já vem sendo empregada em métodos para comparação e classificação de amostras com base em perfis metabólicos e identificação de íons discriminatórios.¹ A aquisição de conjuntos de dados dependentes, *data-dependent acquisition* (DDA), demonstra maximizar a quantidade de dados com uma interferência mínima do operador.²

Neste trabalho foi determinado os parâmetros MS para um espectrômetro de massas híbrido com os analisadores ressonância ciclônica de íons com transformada de Fourier (FT ICR) e *ion trap* linear (LQT) para detectar um padrão fingerprinting nas amostras de meio de cultura usados no desenvolvimento de embriões humanos bem como identificar metabólitos presentes.

Resultados e Discussão

Os meios de cultura utilizados para a incubação de 85 embriões foram recolhidos após a transferência do embrião e essas amostras foram divididas em grupos de acordo com resultados: 100%, 66,7% (3 embriões transferidos e 2 embriões implantados), 50% (2 embriões transferidos e 1 implantado), 33,3% (3 embriões transferidos e 1 implantado) e 0% de implantação.

As amostras (10 µL) foram dissolvidas em 200 µL de MeOH/H₂O 4:1 (v/v) contendo 0.1% NH₄OH injetadas com infusão direta por meio da fonte de ionização nanoelectrospray nas condições: fluxo de 200 nL/min, 0.3 psi pressão de suporte, e 1.5 a 2.0 kV voltagem no electrospray, modo negativo, durante 120 s. Os espectros de massas foram adquiridos através de um 7.2T LTQ FT Ultra-MS (ThermoScientific, Bremen, Alemanha), operando em modo paralelo com espectros MS, modo varredura completo, e MS/MS dos íons selecionados

37^ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

em DDA no LQT, durante a execução do ICR no modo de varredura completa em 100000 resolução (*m/z* 400) (Figura 1).

A análise dos dados foi realizada no MatLab 7.0 usando mínimos quadrados parciais - Análise discriminante (PLS-DA), sendo considerados os íons e suas intensidades relativas de cada espectro.

Dentre os compostos identificados estão: ácido oleico, lactose, arginina, triptofano, metionina, colesterol, estradiol, entre outros.

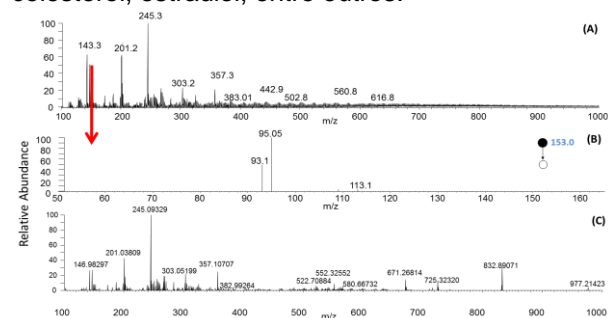


Figura 1. ESI(-): a) LTQ fingerprinting, b) LTQ MS/MS e c) FT ICR.

Conclusões

A análise utilizando DDA forneceu mais informações com menos amostra e menor tempo. O modelo PLS-DA descreveu mais que 92,2% (y-bloco) da variância dos dados.

Os resultados mostram que o MS-fingerprinting por LTQ FT Ultra-MS é uma maneira rápida e não-invasiva para prever o potencial de implantação do embrião individualmente além de permitir a identificação de alguns compostos.

Agradecimentos

Ao Instituto Sapientiae pelo apoio financeiro e fornecimento das amostras

¹ Ferreira, C. R.; Eberlin, M. N.; *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2009**, *23*, 1313-1320.

² Kalli, A.; Smith, G.T.; Sweredoski, M.J.; Hess, S.; *J. Proteome*, **2013**, *12*, 3071-3086.