

Reação em Cadeia da Polimerase em Embriões Bovinos para Treinamento

Autor: Carlos Gilberto Almodin
Orientador: Prof. Dr. Antonio Fernandes Moron
Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Kulay Júnior

Apresentada ao Departamento de Obstetrícia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina para obtenção do Título de Doutor em Medicina, em 29 de julho de 2002.

Objetivos: Desenvolvimento de um protocolo animal para aprimoramento técnico do pessoal interessado em adquirir conhecimentos em reação em cadeia da polimerase (PCR).

Métodos: Ovários de vaca obtidos em abatedouro eram puncionados e os ovócitos encontrados eram maturados e submetidos à fertilização *in vitro*. No dia 3 pós-fertilização, os embriões eram biopsiados, com abertura mecânica da zona pelúcida, sendo 1 a 2 blastômeros removidos. Os blastômeros removidos ou o restante do embrião eram submetidos ao PCR para determinação do sexo. Para a amplificação, 2 pares de “primers” foram usados, um externo e outro interno (PCR “nested”). O produto do PCR “nested” foi submetido à ação da enzima de restrição PstI, que “corta” regiões específicas para sexagem.

Resultados: Foram analisados 50 embriões e 50 blastômeros biopsiados destes embriões, submetidos à amplificação de DNA para sexagem. Dos 50 embriões

avaliados, 41 (82%) amplificaram o DNA e 9 (18%) não amplificaram. Das 50 biópsias realizadas, 31 (62%) amostras amplificaram e 19 (38%) não amplificaram. Dos 41 embriões que amplificaram, 27 (65,9%) eram fêmeas e 14 (34,1%) machos. Em 40 (80%) dos casos, tanto os embriões como as amostras amplificaram e foi possível identificar o sexo e sempre foi concordante.

Conclusão: O menor numero de amplificação nas biópsias ocorreu devido à dificuldade no manuseio das amostras, provavelmente houve perda de algumas não tornando possível sua amplificação. A concordância dos resultados em 80% dos casos mostra que não houve contaminação com DNA estranho. Através desta técnica podem-se encontrar os erros e aprimorar o desempenho.

Palavras-chave: Reação em cadeia da polimerase. Embriões bovinos. Treinamento.

Curva de Probabilidade para o Parto Prematuro Espontâneo de Acordo com o Comprimento do Colo Uterino Avaliado pela Ultra-sonografia Transvaginal

Autor: Mário Henrique Burlacchini de Carvalho
Orientador: Prof. Dr. Roberto Eduardo Bittar

Tese de Doutorado em Medicina apresentada ao Programa de Pós-graduação em Obstetrícia e Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em 22 de maio de 2003.

O objetivo do estudo foi construir curva de probabilidade para o parto prematuro, com idade gestacional menor que 37 e menor ou igual a 34 semanas, baseado no comprimento do colo uterino pela ultra-sonografia transvaginal. Foram avaliadas 1958 gestantes da população geral, entre 21 e 24 semanas, sem sintomas de trabalho de parto prematuro. A incidência de parto com IG < 37 semanas foi de 8,9% e com IG < 34 semanas, de 3,4%. A média do comprimento do colo uterino foi de 35,3mm ($\pm 8,9$ mm). Quanto menor o comprimento do colo uterino, menor a idade gestacional média do parto, sendo de 33,3 semanas quando este media 15 mm ou menos e de 38 semanas, quando media 30 mm ou menos. Em relação ao parto com IG < 37 semanas, o comprimento do colo uterino menor ou igual a 20 mm teve sensibilidade de 26,9% para uma taxa de falso-positivo de 1,9%. A média do comprimento do colo,

entre as gestantes com parto prematuro, foi de 28,1 mm e, entre as gestantes com parto a termo, foi de 36 mm ($p < 0,0001$). Em relação ao parto com IG < 34 semanas, o comprimento do colo uterino teve sensibilidade de 51,5% e falso-positivo de 2,5%. A média do comprimento do colo uterino, entre as gestantes que evoluíram com parto com IG < 34 semanas, foi de 23,8 mm e de 35,6 mm nas gestantes com parto com IG > 34 semanas ($p < 0,0001$). O melhor ponto de corte do colo uterino para predição do parto com IG < 37 semanas e IG < 34 semanas foi de 20 mm. Pelo modelo de regressão logística multivariada, foi possível construir curvas de probabilidade para o parto com IG < 37 semanas e IG < 34 semanas, baseado no comprimento do colo uterino, afunilamento e antecedente de prematuridade.