

## **Resumo de Tese Mestrado**

**Estudo da viabilidade de embriões bovinos pós-biópsia e da amplificação de todo o genoma: modelo experimental para realização do diagnóstico pré-implantação (pgd)**

**AUTOR:** Juliana Polisseni

**ORIENTADOR:** Profa. Dra. Vera Maria Peters

**CO-ORIENTADOR:** Dr. Wanderlei Ferreira de Sá

Tese de mestrado apresentada e defendida perante a comissão examinadora composta de :

Profa. Dra. Vera Maria Peters (UFJF)

Profa. Dra. Martha de Oliveira Guerra (UFJF)

Dr. Wanderlei Ferreira de Sá (Embrapa Gado de Leite)

Programa de pós graduação em Saúde, área de concentração Reprodução Humana e Animal

JUIZ DE FORA, JUNHO DE 2008

### **RESUMO**

O impacto da técnica de biópsia sobre o desenvolvimento embrionário posterior ainda foi pouco estudado e também não foi estabelecido um protocolo único e universal para o PGD. Outro ponto a considerar é a pequena quantidade de DNA genômico disponível para se realizar os estudos genéticos, pelo número reduzido de células obtidas pela técnica de biópsia. Metodologias que utilizam *whole genome amplification* (WGA) vêm sendo desenvolvidas. Utilizando este método é possível gerar microgramas de DNA partindo de pequenas quantidades de DNA. Então, o objetivo deste estudo foi avaliar o desenvolvimento de embriões bovinos submetidos à biópsia nos estádios de 8-16 células e o uso da técnica de amplificação de todo o genoma nos blastômeros retirados, para posterior identificação do sexo através do PCR. Um grupo de 706 complexos *cumulus*-ovócitos (CCOs) foram maturados e fertilizados *in vitro*, em estufa incubadora a 38,8 °C, 95% de umidade e 5% de

CO<sub>2</sub>. Os zigotos foram semi-desnudados e cultivados no meio CR2aa sob as mesmas condições da fertilização. No quarto dia após a fertilização, embriões bovinos com 8-16 células foram randomicamente distribuídos entre dois grupos: controle (n=103) e biópsia (n=92). O número de células removidas correspondeu à quarta parte do embrião. Os blastômeros retirados foram submetidos à amplificação de todo o genoma seguido por PCR. Os embriões retornaram ao meio de cultivo para avaliação do desenvolvimento embrionário. A produção de blastocisto no oitavo dia de cultivo, a taxa de eclosão no décimo dia de cultivo, a eficiência da amplificação de todo o genoma e da identificação do sexo nos blastômeros removidos foram avaliados pelo teste do Qui-quadrado. Já o número de células embrionárias foi analisado por análise de variância ANOVA com SAS (Instituto SAS, Inc., Cary, NC, USA). A proporção de blastocisto no oitavo dia de cultivo foi avaliada pelo teste de Wilcoxon. Diferenças foram consideradas significantes se  $P < 0,05$ . Um total de 92 embriões bovinos foi utilizado para realização da técnica de biópsia e apresentaram produção de blastocisto de 53,3%, com 44,9% de taxa de eclosão. Essas taxas foram semelhantes ( $P > 0,05$ ) às dos 103 embriões do grupo controle (66,0% e 42,6%, respectivamente). Não houve variação no número de células embrionárias entre os grupos e também não ocorreu diferença na proporção de blastocisto entre os grupos controle e biópsia no oitavo dia de cultivo ( $P > 0,05$ ). Os blastômeros retirados foram submetidos à amplificação de todo o genoma, com 98,2% de eficiência. Entretanto, só foi possível identificar o sexo em 59% das amostras. Conclui-se que a técnica de biópsia realizada em embriões bovinos de 8-16 células não afetou o desenvolvimento embrionário subsequente nem a qualidade embrionária dos embriões. A utilização do kit de amplificação de todo o genoma mostrou-se eficiente nos blastômeros retirados, sendo possível identificar o sexo das amostras.

**Palavras-chaves:** PGD. Sexagem. Qualidade embrionária. Taxa de eclosão.