UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

GABRIELLA MUSIKA MATHIAS

GABRIELLE REGINA MARTINS NUNES

TÉCNICA NÃO INVASIVA BASEADA EM PCR PARA DETERMINAÇÃO DO SEXO FETAL.

SÃO PAULO

2022

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE E BEM-ESTAR
CURSO DE BIOMEDICINA

Coordenador do Curso de Biomedicina: Prof. Daniel Garcia

Professor da Disciplina de TCC: Profa. Me. Priscila Ferreira Silva

Gabriella Musika Mathias
Gabrielle Regina Martins Nunes

Técnica Não Invasiva Baseada em PCR Para Determinação Do Sexo Fetal.

Projeto de pesquisa apresentado como exigência para a disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso I, do curso de Biomedicina da Universidade Anhembi Morumbi, sob a orientação da Prof. Me. Priscila Ferreira Silva

São Paulo

2022

Priscila Ferreira Silva /titulação/IES

Priscila Ferreira Silva

RESUMO

Determinação do sexo fetal através do método de PCR é uma inovação onde conseguimos descobrir a partir da décima terceira semana de gravidez, o sexo do feto. O exame é feito por uma simples coleta de sangue, onde por meio do sangue da mãe, podemos saber se tem o cromossomo Y expresso na corrente sanguínea da mesma. O método de PCR em tempo real consiste na amplificação de uma pequena quantidade de material genético, onde é extraído e amplificado o DNA através de uma sonda de florescência. A fluorescência deste alvo é captada pelo equipamento e interpretada em um gráfico, que indicará a presença do alvo investigado.

Palavras-chave: PCR, Sexo fetal e DNA.

ABSTRACT

Determination of fetal sex through the PCR method, is an innovation where we can know from the thirteenth week of pregnancy, which is the sex of the fetus, the exam is done by a simple blood collection, where through the mother's blood, we can know if you have the Y chromosome expressed in your bloodstream. The real-time PCR method consists of the amplification of a small amount of genetic material, where the DNA is extracted and amplified through a fluorescence probe. The fluorescence of this target is captured by the equipment and interpreted in a graph, which will indicate the presence of the investigated target.

Keywords: *PCR, DNA and fetal sex.*

SUMÁRIO

1. **INTRODUÇÃO**.....8
2. **JUSTIFICATIVA**.....9
3. **OBJETIVOS**.....10
   - **3.1. OBJETIVO GERAL**.....10
   - **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**.....10
4. **METODOLOGIA**.....10
5. **CRONOGRAMA**.....11
6. **REFERÊNCIAS**.....12

1. INTRODUÇÃO

O pré-natal é um conjunto de exames realizados durante a gestação, com objetivo de prevenir ou detectar alguma patologia tanto materna, como para o feto. Consiste numa série de exames, físicos, de imagens e de análises clínicas para observar o desenvolvimento do feto e a qualidade da saúde de ambos durante as semanas de gestação (SCHNNYDER, 2017).

Em 1977, Denis Lo, pesquisador da universidade de Oxford e atualmente professor de medicina na Universidade de Hong Kong, publicou um artigo seminal na Lancet, mostrando pela primeira vez a possibilidade de análises de DNA do cromossomo Y fetal circulando no plasma materno (ROCHA, 2012).

O DNA que está disponível na placenta é expulso para corrente sanguínea da mãe durante a apoptose das células normais, rompendo os cromossomos em pedaços menores, além de que, o RNA livre fetal que é derivado de genes placentários, também foi detectado no sangue materno em 2000 (ROCHA, 2012).

Para ratificar que tem propriedade similares as Cff DNA (*cell free fetal DNA*). As Cff DNA são precocemente eliminadas na corrente sanguínea, mas com o avanço gestacional as Cff DNA aumentam na circulação materna cerca de 5-10% do DNA total livre de células no sangue (LUN et al., 2008).

O Isolamento de Cff DNA da corrente sanguínea da mãe, que possui o seu próprio DNA livre em grandes quantidades, é um desafio para os métodos de diagnóstico hoje (ROCHA, 2012).

Hoje o mercado oferece uma variedade de métodos para o isolamento do Cff DNA, segundo da extração de DNA. Após o isolamento do DNA, pequenas diferenças entre as sequências de DNA fetal, para identificar a sequência de DNA fetal específica, podemos utilizar a reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. A PCR em tempo real com sondas de hidrólises consiste na amplificação e marcação dos alvos com uma sonda fluorescente (ROCHA, 2012).

O desenvolvimento do DNA fetal que circula no plasma materno, possibilitou a análise do sexo do feto, a partir de uma simples coleta de sangue. Conhecendo que as mulheres possuem dois cromossomos sexuais X e os homens expressam os cromossomos sexuais X e Y, as análises são realizadas extraindo o DNA do plasma

materno e amplificando a sequência específica do cromossomo Y através da técnica de PCR. As grávidas (XX) com o feto (XY) apresentam o exame positivo para o sexo masculino com a amplificação do cromossomo Y, se o feto for (XX) indica o exame negativo para o sexo masculino, ou seja, não houve amplificação do cromossomo Y, resultando em uma menina (ROCHA, 2012).

Métodos mais atualizados utilizam equipamentos de detecção em tempo real (real-time PCR), viabilizando o menor risco de contaminação e a obtenção de níveis mais altos de sensibilidade (BISCHOFF et al., 2002, BIANCHI, 2004). Ainda que seja mais sensível, este procedimento necessita de reagentes próprios que são muitos caros onde encarecem o custo do exame.

A técnica de PCR trouxe um avanço na medicina diagnóstica, permitindo identificar agentes patogênicos. A PCR em tempo real com sondas de hidrólise consiste na amplificação em marcação dos alvos com uma sonda de fluorescente. A cada ciclo de amplificação a sonda é hidrolisada e emite um sinal de fluorescência que é captado pelo sistema óptico do equipamento. A fluorescência captada é interpretada em um gráfico, que indica a presença do alvo investigado (ROCHA, 2012).

2. JUSTIFICATIVA

A técnica não invasiva baseada em PCR é importante pois é possível descobrir a partir da 13° semana de gravidez qual é o sexo do feto e identificar possíveis agentes patogênicos. O exame é feito por uma simples coleta de sangue, onde através do sangue da mãe conseguimos saber se a presença do cromossomo Y no plasma materno. Comprovada a reprodutibilidade e sensibilidade do método, estão investigando outros alvos, como; a determinação do genótipo Rh(D), a β-talassemia, a acondroplasia e alvos de diagnóstico para a identificação de fetos portadores da síndrome de Down A análise é feita através de PCR.

3. OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o método de determinação do sexo fetal pelas análises de DNA obtido do plasma materno na técnica de PCR em tempo real.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Verificar os novos alvos investigados pela técnica de PCR.
2. Verificar a constância dos resultados através da determinação do sexo fetal pela técnica de PCR.
3. Destingir a metodologia de análises para o DNA amplificado.

4. METODOLOGIA / MATERIAL E MÉTODOS:

O trabalho será desenvolvido a partir de um levantamento de artigos e pesquisas realizadas em sites como: Google Acadêmico e PubMed. Com enfoque em assuntos de sexagem fetal, PCR, pré-natal e análise do DNA livre plasmático materno.

5. CRONOGRAMA

MÊS / ETAPAS	Abr/22	Mai/22	Jun/22	Jul/22	Ago/22	Set/22	Out/22	Nov/22
Escolha do tema	X							
Levantamento bibliográfico		X	X	X				
Elaboração do projeto		X	X	X	X			
Escrita e Apresentação do projeto		X	X	X	X	X		
Coleta de dados		X	X	X				
Análise dos dados				X	X	X		
Organização dos dados				X	X			
Redação do trabalho						X	X	
Revisão e redação final							X	
Entrega do artigo científico e apresentação do pôster								X

6. REFERÊNCIAS

LEVI, J. E.; WENDEL, S.; TAKAOKA, D. T. Determinação pré-natal do sexo fetal por meio da análise de DNA no plasma materno. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 25, p. 687-690, 2003.

MALTA, F. S. V. et al. Determinação do sexo do feto através de uma nova técnica não invasiva baseada em PCR. **Rev. bras. anal. clin**, p. 203-204, 2008.

MELO, A. N. et al. A PCR-based method for fetal sex determination using ovine amniotic fluid. **Medicina Veterinária (Brasil)**, 2007.

ROCHA, B. G. Estabelecimento de metodologias de análise do DNA livre plasmático para o diagnóstico pré-natal não invasivo: sexagem fetal. 2011.