

Protocolo para sexagem fetal a partir da quarta semana de gestação por PCR Real Time utilizando DNA cell-free.

Recebido –
16/10/2017
Aceito -
28/08/2018

Edwin José Torres de Oliveira^{1,2}, Bruno Boiko Pereira de Figueiredo³, Rodrigo Juliano Oliveira^{1,2}, Raíssa Borges Ishikawa¹, Ana Paula Maluf Rabacow¹, Lucas Roberto Pessatto^{1,2}, Helder Pereira de Figueiredo³, Suzana Elisa Moreno³.

¹Centro de Estudos em Células Tronco, Terapia Celular e Genética Toxicológica, Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Técnicas empregadas nos exames pré-natais para diagnóstico de doenças genéticas e para a determinação do sexo dos fetos são invasivas e oferecem risco ao feto em desenvolvimento. No entanto, utilizando a biologia molecular é possível implantar e implementar rotinas seguras que se baseiam em DNA fetal encontrado no sangue periférico materno (DNA *cell-free*). O objetivo do presente trabalho foi descrever um protocolo padronizado com sensibilidade suficiente em inferir, com fidedignidade, o sexo fetal a partir das primeiras semanas de gestação. Os dados foram obtidos do sistema de cadastro de dados do Laboratório de Genética Molecular do Instituto de Perícias Científicas de Mato Grosso do Sul. Durante o processo de padronização do exame de sexagem fetal o laboratório convidou voluntárias (n=132) que se comprometeram a retornar com o resultado do exame de ultrassom. Essas voluntárias (n=132) foram divididas em grupo controle (não gestantes) e grupo experimental (gestantes). Amostras de sangue das voluntárias foram coletadas e o plasma obtido por centrifugação. Após, a extração do DNA ocorreu por meio de um método inédito *in house*, utilizando tampão de lise à base de tiocianato de guanidina (Tiocianato de guanidina 5mol/L, Tris HCL 11,2g/L, EDTA 7,43 g/L, 7,8mLTriton X-100) e a amplificação em PCR tempo real, utilizando o kit *Quantifiler Y™* e 5µL do DNA extraído. Amostras que amplificaram foram consideradas como positivas (feto do sexo masculino) e as que não amplificaram consideradas como negativas (fetos do sexo feminino). A técnica de extração foi eficiente para obtenção do DNA em quantidades suficientes e com grau de pureza adequado. A análise da sexagem fetal das 132 gestantes obteve 100% de concordância com o exame de ultrassom. A extração proporcionou ao teste a sensibilidade necessária para determinar o sexo fetal mesmo nos estágios iniciais de gestação, a partir da quarta semana. Esse dado é pioneiro e não havia sido relatado em nenhuma pesquisa, na literatura consultada pelo nosso grupo, o que viabiliza a sexagem fetal a partir da quarta semana de gestação e abre perspectivas para a aplicação dessa extração no diagnóstico de doenças genética, tornando-se uma ferramenta para o diagnóstico pré-natal, evitando assim técnicas invasivas que coloquem em risco o desenvolvimento fetal.

Palavras-chave: Câncer; Genotoxicidade; Apoptose; Ciclo celular; Viabilidade celular.

Apoio Financeiro: IPC, CAPES.