

# CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR EM PACIENTES COM HEMOFILIA B

MARIANA ROST MEIRELES<sup>1</sup>, ANDERSON GUIMARÃES PANTOJA<sup>2</sup>, MARIANA RODRIGUES BOTTON<sup>2</sup>, ELIANE BANDINELLI<sup>2</sup>, FRANCISCO M. SALZANO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Genética



**UFRGS**  
PROPEAQ

**XXV SIC**  
Salão Iniciação Científica

**CB - Ciências Biológicas**

## INTRODUÇÃO

A Hemofilia B é uma doença hemorrágica hereditária, causada pela redução ou ausência da atividade coagulante do Fator IX (FIX), o que ocorre devido à mutações no gene que codifica a proteína. A doença resulta em sangramentos espontâneos ou pós trauma e é classificada, conforme a atividade do FIX, em grave (FIX<1%), moderada (FIX 1-5%) e leve (FIX>5%). O padrão de herança é recessivo ligado ao sexo e a frequência dessa patologia é 1:50.000 homens aproximadamente. O gene F9 localiza-se no cromossomo Xq27.1 e está organizado em 8 éxons. A Hemofilia B apresenta grande heterogeneidade alélica, sendo que até o momento foram descritas cerca de 600 mutações individuais. As grandes alterações estruturais (deleções e inserções) estão presentes em cerca de 5% dos pacientes

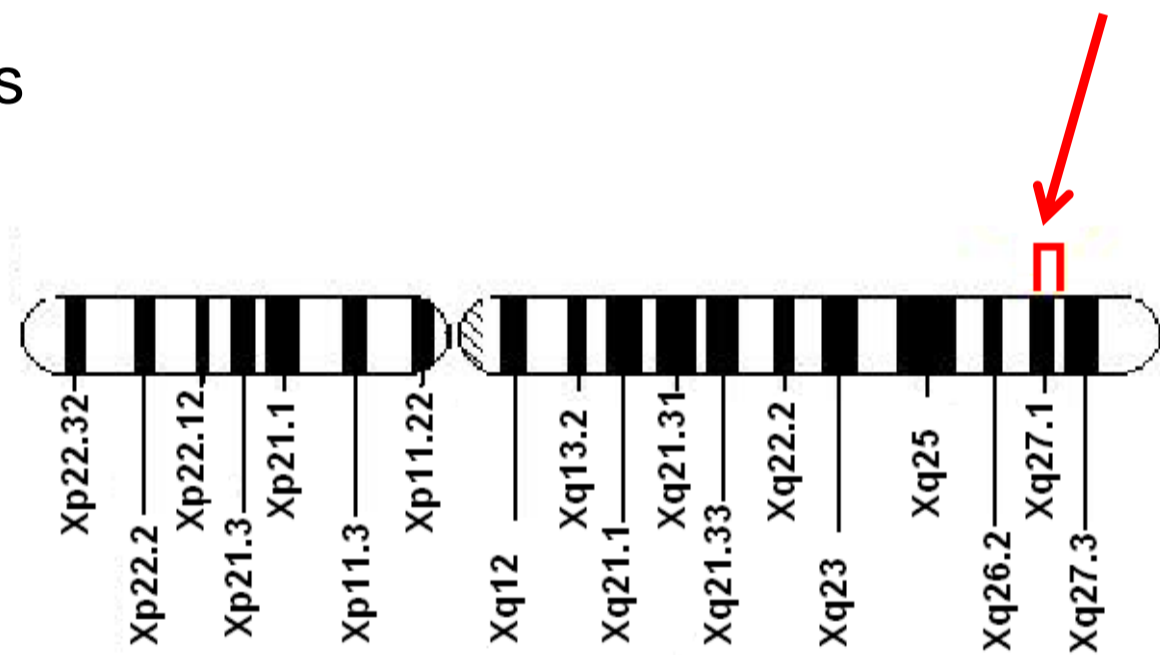


Fig 1: Localização do gene do FIX no cromossomo X.

## OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho é avaliar a presença de deleções no gene F9 em indivíduos com Hemofilia B do Rio Grande do Sul.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para o estudo foram incluídos 42 pacientes masculinos com hemofilia B e sem parentesco. Os pacientes foram encaminhados de maneira regular ao Laboratório por meio de médicos atuantes no HEMOCENTRO- RS. O DNA foi extraído dos leucócitos do sangue periférico pelo método não enzimático descrito por Lahiri & Nurnberger (1991). Os fragmentos relativos aos oito éxons do F9 foram amplificados por PCR (Polymerase Chain Reaction), separados por eletroforese em gel de agarose 1,5% e corados com brometo de etídio. A tabela 1 mostra as regiões do F9 que foram amplificadas, os tamanhos dos fragmentos amplificados, a temperatura de anelamento e a posição dos “primers” utilizados.

| Região              | Posição                        | Tamanho do Fragmento | Temperatura de Anelamento |
|---------------------|--------------------------------|----------------------|---------------------------|
| promotora e éxon 1  | -115 a -96<br>156 a 137        | 271 pb               | 60 C                      |
| éxon 2,3 e íntron 2 | 6246 a 6265<br>6745 a 6726     | 499 pb               | 56 C                      |
| éxon 4              | 10342 a 10361<br>10551 a 10532 | 209 pb               | 60 C                      |
| éxon 5              | 17626 a 17645<br>17851 a 17832 | 225 pb               | 60 C                      |
| éxon 6              | 20308 a 20327<br>20618 a 20598 | 310 pb               | 60 C                      |
| éxon 7              | 30001 a 30020<br>30195 a 30176 | 194 pb               | 56 C                      |
| éxon 8              | 30769 a 30788<br>31431 a 31412 | 662 pb               | 60 C                      |

Tabela1: Região, Posição, Tamanho dos Fragmentos e Temperatura de Anelamento para a amplificação do gene F9.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das amostras não demonstrou falha de amplificação para os oito éxons estudados, portanto não foram identificadas grandes deleções a partir da técnica de PCR. Nas próximas etapas do trabalho será feito o sequenciamento direto dos 8 éxons e as sequências obtidas serão comparadas com as sequências de referência do F9 no banco de dados NCBI (<http://ncbi.nlm.nih.gov>).

## REFERÊNCIAS

Choo, KH; Gould, KG; Rees, DJ; Brownlee, GG (1982). Molecular cloning of the gene for human anti-haemophilic factor IX. Nature, 1982; 299: 178-80

Lahiri, DK; Nurnberger, J (1991) A rapid nonenzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. Nucl Acids Res, 19:5444.

White, GC; Rosendaal, F; Aledort, Lm; Lusher, JM; Rothschild, C; Ingerslev, J. Factor VIII and Factor IX Subcommittee (2001). Defiitions in hemophilia – Recommendation of the Scientific Subcommittee on Factor VIII and Factor IX of the Scientific and Standartization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Thromb Haemost 85(3): 560.



MODALIDADE  
DE BOLSA

Iniciação Científica