

A hemofilia A (HA) é um distúrbio hemorrágico hereditário ligado ao cromossomo X, causado pela redução ou ausência da atividade do fator VIII da coagulação (FVIII:C) e resultante de mutações heterogêneas no gene do F8. Cerca de 50% dos indivíduos afetados apresentam a forma grave da doença, caracterizada por FVIII:C<1% e histórico clínico de sangramentos espontâneos ou após traumas leves. Mais de 700 mutações associadas com a HA grave já foram descritas em diferentes populações. O objetivo deste trabalho foi obter um perfil de alterações genéticas associadas com a doença e avaliar o potencial patogênico das mesmas. Foram estudados 48 pacientes com HA grave os quais não apresentam as inversões dos íntrons 22 e 1 (mutações mais comuns na forma grave da doença - 40-50% e 5%, respectivamente) e 100 indivíduos não-afetados. Os produtos da PCR foram purificados utilizando-se as enzimas *Exonuclease I* e *Shrimp Alkaline Phosphatase* e, em seguida, sequenciados pela empresa Macrogen Inc. Os softwares *Codon Code Aligner* e *MEGA5.04* foram utilizados na análise das sequências, e o programa *Polyphen-2* estimou o dano estrutural e funcional das mutações na proteína. Em uma análise de 6 éxons sequenciados (1,3,7,6,16 e 26D), dos 26 que constituem o gene, foram detectadas: 3 mutações de sentido trocado no éxon 3 (Ile76Thr, Asn90Tyr, Ser109Pro) e 1 mutação sem sentido no éxon 7 (Gly247\*). Tais mutações não foram detectadas no grupo controle, sugerindo a associação das mesmas com a hemofilia. As mutações no éxon 3 conferem um provável dano à proteína e não estão descritas na literatura, enquanto que a mutação sem sentido no éxon 7 está descrita no banco de dados *online* HAMSTeRS. As mutações encontradas estão situadas no domínio A1 da proteína, no qual foram descritos sítios de ligação ao  $Ca^{+2}$  e  $Cu^{+2}$  que apresentariam um papel importante no enovelamento da proteína. O estudo é o primeiro a abordar, em nosso estado, a caracterização molecular das mutações gênicas em pacientes com HA grave, aspecto importante para a avaliação das manifestações clínicas, a elaboração de terapias diferenciadas e o aconselhamento genético.