

433

GENOTIPAGEM DA INVERSÃO DO INTRON 22 EM HEMOFÍLICOS DO TIPO A SEVEROS DO RIO GRANDE DO SUL UTILIZANDO A TÉCNICA DE LD-SUBCYCLE PCR. *Leonardo Barbosa Leiria, Eliane Bandinelli, Israel Roisenberg (orient.) (UFRGS).*

Hemofilia A é uma doença hemorrágica com herança recessiva ligada ao X, com frequência de 1 em cada 5000 homens. É causada por alterações no gene do fator VIII, localizado na posição Xq28, que levam a uma atividade reduzida do fator VIII da coagulação. Cerca de 50% dos indivíduos afetados são hemofílicos severos (graves), apresentando menos de 1% de atividade coagulante do fator VIII. Na hemofilia A severa, a mutação mais freqüente é a inversão no intron 22 (Inv22), que ocorre em cerca de 42% dos casos. A Inv22 é causada por uma recombinação homóloga intra-cromossomal entre uma região do intron 22 e uma região homóloga extra-gênica de cópia invertida, localizada na região telomérica do cromossomo X. A detecção da Inv22 pode ser realizada por meio de técnicas como "southern blotting" e PCR "LD-subcycle", que se baseia na amplificação de fragmentos maiores de 10 kb, a partir de ciclos múltiplos de anelamento e extensão. O objetivo desse trabalho é a padronização da técnica de PCR "LD-subcycle" para a detecção da inversão do intron 22 em hemofílicos A severos e estimar a sua frequência na população de hemofílicos A do Rio Grande do Sul. Para amplificação dos fragmentos, normal e contendo a Inv22, foram utilizados dois pares de primers, resultando em fragmentos de 12 kb e 11 kb respectivamente. Dessa forma, foram estudados, até o momento, 18 famílias de hemofílicos severos, onde 7 famílias apresentaram o alelo contendo essa inversão, com uma frequência estimada de 39%. Esse trabalho visa futuramente colaborar nos estudos de diagnóstico e de detecção de hemofílicos e heterozigotas da inversão.