

SALÃO DE  
INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
**XXIX SIC**  
**UFRGS**  
PROPESQ



múltipla   
**UNIVERSIDADE**  
inovadora  inspiradora

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2017
<b>Local</b>	Campus do Vale
<b>Título</b>	Caracterização molecular das mutações em pacientes com a Doença de von Willebrand Tipo 3
<b>Autor</b>	LARA HOCHSCHEID STELMACH
<b>Orientador</b>	FRANCISCO MAURO SALZANO

Caracterização molecular das mutações em pacientes com a Doença de von Willebrand Tipo 3.  
Stelmach, Lara H., Salzano, Francisco M.  
UFRGS

A Doença de von Willebrand (DvW) é um distúrbio hemorrágico resultante de alterações genéticas no gene do FvW - responsável pela síntese da proteína FvW - que se situa no braço curto do cromossomo 12 e possui 178 kilobases distribuídas em 52 éxons. A DvW é causada por alterações quantitativas ou qualitativas no FvW, uma glicoproteína plasmática que medeia a agregação plaquetária nos locais de rompimento dos vasos sanguíneos; além de se ligar ao Fator VIII, protegendo-o da degradação pela ação de proteases presentes no plasma. Alterações quantitativas causam a DvW tipo 1 e tipo 3, sendo que pacientes do tipo 1 apresentam níveis reduzidos de FvW (entre 3-50%) e pacientes tipo 3 apresentam níveis indetectáveis de FvW (menores que 3%), enquanto que anormalidades qualitativas causam a DvW tipo 2. O padrão de herança da DvW tipo 3 é autossômico recessivo, sendo que os afetados podem ser homozigotos ou heterozigotos compostos.

O presente trabalho está integrado a um projeto que visa a detecção de mutações em pacientes com DvW tipo 3, no Rio Grande do Sul. Neste estudo foi analisada a região do éxon 28 do gene do FvW, que codifica os Domínios A1, A2 e parte do Domínio A3 da proteína.

No estudo foram incluídos 30 pacientes sem parentesco, diagnosticados previamente com a DvW tipo 3. O DNA destes pacientes foi extraído de leucócitos do sangue periférico através de método não enzimático descrito por Lahiri&Nurnberger (1991). O fragmento relativo ao éxon 28 foi amplificado por PCR, sendo confirmado por eletroforese em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídeo, e os amplicons foram preparados para o sequenciamento utilizando as enzimas Exonuclease I e Shrimp Alkaline Phosphatase. As amostras foram então encaminhadas a uma empresa terceirizada que realizou o sequenciamento.

As sequências obtidas após o sequenciamento foram comparadas com a sequência referência do FvW do banco de dados NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), através do alinhamento pelo programa CodonCodeAligner implementado no MEGA 5.04. A predição do efeito das mutações sem sentido foi realizada utilizando cinco algoritmos diferentes: PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping v2), SiFT (SortingIntoleranttoTolerant), HOPE (HaveyOurProteinExplained), PROVEAN (ProteinVariationEffectAnalyzer) e Mutation Taster.

Até o momento foram encontradas 8 mutações de sentido trocado na região que corresponde ao Domínio A1 da proteína, sendo elas: Val1279Ile, Ile1343Val, Val1360Ala, Phe1369Ile, Ser1378Phe, Arg1379Cys, Thr1381Ala e Ser1442Gly.

Dentre as mutações analisadas, 6 foram preditas como possivelmente danosas (Val1279Ile, Ile1343Val, Val1360Ala, Phe1369Ile, Ser1378Phe e Arg1379Cys), e apenas 2 foram preditas como sendo benignas (Thr1381Ala e Ser1442Gly). Com exceção da Ser1378Phe, Thr1381Ala e Ser1442Gly, todas as mutações já estavam descritas no banco de dados do FvW (<http://www.vwf.group.shef.ac.uk/>) como prováveis causadoras da doença.

Os estudos prosseguem, visando uma descrição completa das mutações presentes em pacientes com DvW tipo 3 na população do Rio Grande do Sul e análise do papel destas mutações na determinação da doença.