



PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE PCR PARA DETERMINAÇÃO DO POLIMORFISMO DE TAMANHO DO GENE AGRECAN NO DOMÍNIO CS1 DE PACIENTES COM DISCOPATIA DEGENERATIVA LOMBAR.

Leonardo Galato Zanchin (Voluntário), Asdrubal Falavigna, Leonardo Ruschel, Gabriela Gislaïne Secco, Bruno Laghi, Ana Paula Franco Lambert (Orientador(a))

A degeneração do disco intervertebral é o resultado de uma degradação lenta e progressiva e, simultaneamente, de uma tentativa oposta de remodelação sincronizada, com adaptação das estruturas do disco a mudanças na carga física e formação do tecido cicatricial. Essa degradação sugere uma etiopatogênese multifatorial, onde a genética desempenha um papel importante, visto que os genes podem atuar como fatores de susceptibilidade e predisposição, aumentando os riscos de desenvolvimento da patologia. A disfunção do disco esta intimamente relacionada ao proteoglicano agrecan, que interage com o ácido hialurônico formando grandes agregados, responsáveis pela habilidade do tecido em resistir às forças compressivas. Os dados clínicos de pacientes com discopatia degenerativa lombar, a senescência do disco intervertebral degenerado e sua correlação com o polimorfismo do gene agrecan, pela técnica de reação em cadeia polimerase (PCR) são as metas do projeto. O Objetivo deste estudo foi padronizar a técnica de reação em cadeia polimerase *in house*, para o polimorfismo de gene agrecan. Foi necessário padronizar o PCR para técnicas *in house*, uma vez que a literatura descrevia a técnica utilizando kits comerciais para fragmentos de longa extensão. Para a extração do DNA utilizou-se sangue venoso periférico coletado durante cirurgia de pacientes sintomáticos e refratários ao tratamento conservador. Após varias modificações nas concentrações dos reagentes do PCR foi possível obter resultados compatíveis aos encontrados utilizando o kit comercial para fragmentos de longa extensão (Expand Long Template PCR System – Roche). Este resultado nos possibilita a realização de mais análises, de uma forma mais econômica, pois utiliza uma reação de 25µL utilizando reagentes comuns em laboratório de técnicas moleculares, excluindo a necessidade de obtenção de kits importados de difícil obtenção e custos elevados.

Palavras-chave: agrecan, disco intervertebral, polimorfismo.

Apoio: UCS