

Título: PAINEL DE SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO PARA OSTEOGÊNESE IMPERFEITA: IDENTIFICAÇÃO DE MUTAÇÕES EM GENES DA BIOSÍNTESE DO COLÁGENO TIPO I.

Autores: Liliane Todeschini de Souza¹, Evelise Silva Brizola², Marina Bauer Zambrano², Ana Paula Vanz², Bruna de Souza Pinheiro², Têmis Maria Félix^{1,2}

Instituição: ¹ Laboratório de Medicina Genômica, Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Porto Alegre - RS; ² Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Porto Alegre - RS

Resumo: Osteogênese Imperfeita (OI) é causada por mutações nos genes da biossíntese do colágeno tipo 1 e se caracteriza pela fragilidade óssea com susceptibilidade a fraturas ao mínimos traumas. Em 85-90% dos casos é causada por mutações autossômicas dominantes nos genes *COL1A1* e *COL1A2*. Em 10-15 % dos casos, estão envolvidos genes relacionados nas modificações pós-traducionais do procolágeno com padrão de herança autossômica recessiva. Devido à variabilidade fenotípica e a heterogeneidade genética envolvidas na OI o sequenciamento de múltiplos genes através do método de Sanger é trabalhoso e de alto custo. A tecnologia do sequenciamento de nova geração veio a facilitar essa análise. O objetivo desse estudo foi identificar mutações nos 18 genes da biossíntese do colágeno tipo 1 associados à OI através do sequenciamento de nova geração (NGS) em pacientes com as formas moderada a grave (OI tipo III e IV). Foram incluídos 28 pacientes com OI tipo III e IV de famílias não relacionadas registrados no CROI- HCPA sem diagnóstico molecular. Todos os pacientes e/ou responsáveis legais assinaram termo de consentimento livre (CEP: 1.283.670; CAAE: 14619713.4.0000.5327). O painel de *primers* foi customizado através da ferramenta Ion AmpliSeq Designer com cobertura de 99,6% e incluiu regiões codificantes dos genes *COL1A1*, *COL1A2*, *CRTAP*, *LEPRE1*, *PPIB*, *WNT1*, *TMEM38B*, *SERPINH1*, *BMP1*, *SP7*, *SERPINF1*, *FKBP10*, *SMPD3*, *CREB3L1*, *PLOD2*, *P4HB*, *PLS3*, *IFITM5* e região 5'UTR do *IFITM5*. Os dados foram processados pelo Ion Torrent Suite Server (v.5.0) segundo sequência referência (hg19). As variantes foram analisadas através do IonReporter (v.5.0) e classificadas segundo bancos de dados (ClinVar e LOVD 2.0) e análises *in silico* (SIFT, Polyphen-2, PredictSNP e Mutation taster). Foram identificadas 404 variantes sendo 266 em introns, 101 em exons e 37 em sítios de *splicing* e região UTR(3' e 5'). Dessas variantes 19% (27/404) foram classificadas como potencialmente patogênicas sendo que: 40,7%(11/27) foram em *COL1A1*, 29,6%(8/27) em *COL1A2*, 7,4%(2/27) *LEPRE1*, 7,4%(2/27) *SERPINF1*, 3,7%(1/27) *PLOD2*, 3,7%(1/27) *BMP1*, 3,7%(1/27) *CREB3L1* e 3,7%(1/27) *P4HB*. Este painel customizado foi capaz de identificar mutações em genes relacionados com as formas dominantes e recessivas da doença. Esse diagnóstico é fundamental para o aconselhamento genético e também poderá auxiliar um melhor entendimento da história natural e contribuir para o tratamento.

Palavras-chaves: Osteogênese Imperfeita, Análise molecular, sequenciamento de nova geração

Agência Fomento: FAPERGS