

bioquímicos. MÉTODOS: Estudo transversal, multicêntrico, com amostragem por conveniência. O DNA foi extraído a partir de sangue total em EDTA com kit comercial, seguido de PCR, purificação e sequenciamento dos éxons 2, 3 e 4 do gene *BTD*. Para a determinação das variantes foi utilizada a sequência referência NG\_008019.1, e para predição de patogenicidade os softwares Polyphen2, SIFT e Mutation Taster. RESULTADOS: Foram analisados 35 indivíduos, incluindo um par de irmãos (sexo masculino=15, sem consanguinidade parental), de diferentes regiões do Brasil (sudeste=2, nordeste=12 e sul=21 pacientes), a maioria identificados por triagem neonatal. Foram encontradas 14 variantes patogênicas. As mais frequentes foram: c.1330G>C (p.Asp444His) em 44,1% dos alelos, c.1368A>C (p.Gln456His) em 10,3%, e c.595G>A (p.Val199Met) em 5,9%. Foi identificada uma nova variante, c.1321G>A (p.Gly441Arg), predita como patogênica (in silico), em heterozigose em paciente com atividade enzimática equivalente a heterozigoto. Conforme a atividade enzimática em plasma, disponível para 30 indivíduos, os mesmos foram classificados como normal=5, heterozigotos=18, borderline heterozigoto/parcial=5, e DB parcial=2. A classificação da DB conforme o genótipo foi a seguinte: normal=7, heterozigotos=15, DB parcial=7 e indeterminado (fase indeterminada e mutação nova)=6. O genótipo correspondeu ao fenótipo bioquímico em 71% dos casos. CONCLUSÃO: Apesar da associação genótipo vs. fenótipo não ser clara, a análise genética auxilia na classificação dos casos borderline e nos resultados enzimáticos discordantes consecutivos. Unitermos: Biotinidase; Gene *BTD*; Sequenciamento.

### P1236

#### Quinze anos de experiência do centro de referencia para tratamento de osteogênese imperfeita no Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Carla Desengrini Girelli, Marina Bauer Zambrano, Bruna de Souza Pinheiro, Evelise Brizola, Liliane Todeschini de Souza, Solanger Perrone, Têmis Félix - HCPA

Objetivos: Em 2001, o Ministério da Saúde credenciou o HCPA como Centro de Referência para Tratamento de Osteogênese Imperfeita (OI) (CROI-HCPA). Este CROI coordena a Rede Brasileira de Osteogênese Imperfeita (ReBOI) e tem como objetivo realizar diagnóstico clínico, molecular, e tratamento. O objetivo deste estudo é descrever a experiência de atendimento, características clínicas e estudo molecular realizados nos últimos 15 anos. Métodos: Foi realizada análise descritiva dos atendimentos e casos registrados no CROI-HCPA no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2017. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre de número 15-0632. Todos os indivíduos assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Resultados: No CROI-HCPA são realizadas as consultas individuais periódicas e grupos de apoio com acompanhamento multidisciplinar incluindo médico, enfermeira, fisioterapeuta e nutricionista. Apresenta 176 indivíduos, de 126 famílias registradas, estando 80 indivíduos cadastrados na ReBOI. Noventa e oito (55,7%) pacientes são do sexo feminino, e 99 (56,3%) são pacientes pediátricos (0-19 anos). De acordo com a classificação clínica e radiológica dos pacientes com OI, 117 (66,5 %) indivíduos são do tipo I, 20 (11,4%) do tipo III, 33 (18,8%) do tipo IV, 5 (2,8%) do tipo V e 1 (0,6%) do tipo VIII. Oitenta e sete pacientes possuem história familiar positiva (49,4%). Cinquenta e quatro famílias realizaram diagnóstico molecular, 34 (62,9%) com mutação em *COL1A1*, 16 (29,6%) em *COL1A2*, 3 (5,5%) com mutação -14C>T no *IFITM5* e 1 (1,8%) com mutação em *LEPRE1*. Unitermos: Osteogênese imperfeita; Centro de referência.

### P1270

#### Análise in silico de variantes do gene *FBP1* encontradas em pacientes brasileiros com deficiência de Frutose-1,6-Bisfosfatase

Franciele Cabral Pinheiro, Rodrigo Ligabue-Braun, Fernanda Sperb-Ludwig, Ida Vanessa Doederlein Schwartz - UFRGS

Introdução: A frutose-1,6-bisfosfatase (FBPase; E.C.3.1.3.11) é uma enzima-chave na rota da gliconeogênese, a qual é codificada pelo gene *FBP1*. Mutações nesse gene causam a deficiência de frutose-1,6-bisfosfatase (DFB, OMIM 229700), um erro inato do metabolismo da frutose que acarreta em crises hipoglicêmicas em condições catabólicas. Em um estudo prévio, foi realizada a análise genética de seis pacientes brasileiros, os quais apresentavam diagnóstico de DFB por ensaio enzimático (n=3), análise genética de *FBP1* (n=1) ou ambos (n=1). Foram identificados três variantes e quatro genótipos diferentes: c.[472C>T;472C>T] (n=1), c.[472C>T;986T>C] (n=1); c.[958G>A;958G>A] (n=2) e c.[986T>C;986T>C] (n=1), sendo que não foram detectadas outras alterações potencialmente patogênicas nesses pacientes. Duas das variantes não haviam sido descritas previamente: c.958G>A (p.Gly320Arg) e c.986T>C (p.Leu329Pro). Objetivo: Analisar, por ferramentas in silico, o impacto das variantes p.Gly320Arg e p.Leu329Pro na estrutura ou atividade de FBPase. Métodos: As novas variantes foram avaliadas, por ferramentas in silico, em relação à: patogenicidade (por dez algoritmos preditores), conservação evolutiva dos aminoácidos envolvidos nas substituições, estrutura 3D e alterações físico-químicas (hidrofobicidade e eletrostática). Resultados: Os diferentes preditores indicaram a patogenicidade das duas mutações, as quais estão localizadas na região C-terminal de FBPase. Essa é uma região pouco conservada entre as diferentes espécies analisadas. Contudo, há sítios evolutivamente conservados como a Glicina e a Leucina, nas posições 320 e 329, respectivamente, sugerindo a importância dessas posições para a atividade adequada da proteína. O modelo 3D não evidenciou alterações estruturais nas FBPases mutantes. A análise de hidrofobicidade evidenciou pequenas alterações nas características eletrostáticas e hidrofóbicas no mutante p.Leu329Pro. A mutação p.Gly320Arg é interna à proteína, o que não permitiu avaliar este tipo de alterações. Conclusão: As ferramentas de predição e de conservação indicam a patogenicidade de ambas as mutações. Porém, não se evidenciou alterações significativas na estrutura ou nas características hidrofóbicas das proteínas mutantes que indicassem os mecanismos envolvidos. Ensaio funcionais in vitro são necessários para tanto. Unitermos: FBPase; *FBP1*; Erros inatos do metabolismo da frutose.

### P1296

#### Manifestações oftalmológicas e neurológicas nas fases pré-clínica e clínica da ataxia espinocerebelar tipo 7

Gabriela Ecco, Pietro Baptista Azevedo, Anastácia Guimarães Rocha, Leda Maria Neumann Keim, Daniel Lavinsky, Eduardo Preusser Mattos, Fernando Regla Vargas, Vanessa Bielefeldt Leotti, Maria Luiza Saraiva-Pereira, Laura Bannach Jardim - HCPA

Fundamentos: Ataxia espinocerebelar do tipo 7 (SCA 7) é uma poliglutaminopatia que afeta progressivamente o cerebelo, o tronco cerebral e a retina. A SCA 7 é extremamente rara e estudos referentes a identificação de biomarcadores e as características das fases pré-clínicas ainda são escassos. Objetivo: descrever achados neurológicos e oftalmológicos observados em portadores sintomáticos e pré-sintomáticos de SCA7. Métodos: escalas neurológicas (SARA, CCFs, SCAFI, NESSCA e INAS), acuidade visual (BCVA), campos visuais (MD), e espessura da camada de células maculares e ganglionares em tomografia de coerência óptica

(mOCT e gclOCT) foram avaliados em portadores sintomáticos e familiares em risco. Resultados: 13 portadores sintomáticos, 3 portadores pré-sintomáticos e 5 familiares controles foram recrutados. Portadores sintomáticos apresentaram escores significativamente diferentes dos controles na maioria dos escores neurológicos e oftalmológicos. Mudanças graduais nos escores dos controles para os pré-sintomáticos e então para portadores sintomáticos foram vistas no MD- -1,34 (1,15), -2,81 (1,66) e -9,56 (7,26)-, mOCT- 243,6 (22,2), 204,5 (14,1) e 137,95 (34,6) $\mu\text{m}$ -, e SCAFI- 1,16 (0,28), 0,65 (0,56) e -0,61 (0,44)-, respectivamente. MD, mOCT e SCAFI foram significativamente correlacionados com tempo para o desenvolvimento da doença (pré-sintomático)/duração da doença (portadores sintomáticos). Conclusão: MD, mOCT e SCAFI destacaram-se como candidatos para biomarcadores da SCA7 desde estágios pré-sintomáticos da doença. Unitermos: Ataxia espinocerebelar do tipo 7; Biomarcadores; Tomografia de coerência óptica.

### P1324

#### **Investigação de quadro de hepatoesplenomegalia, restrição de crescimento e dislipidemia conduz ao diagnóstico clínico e genético de intolerância a proteína lisinúrica**

Bibiana Mello de Oliveira, Karina Carvalho Donis, Daniella de Moura Coelho, Angela Sitta, Lilia Farret Refosco, Ida Vanessa Doederlein Schwartz, Carolina Fischinger Moura de Souza - HCPA

Descrição: Paciente do sexo feminino, 10 anos, com histórico de consanguinidade parental, foi encaminhada para avaliação genética devido à suspeita de glicogenose. Aos 6 meses passou a apresentar hepatoesplenomegalia, evoluindo posteriormente com baixo peso, diarreia crônica, aversão proteica, vômitos e otites de repetição. Aos 5 anos, biópsia hepática foi compatível com glicogenose e, apesar de nunca ter apresentado hipoglicemias, teria sido instituído tratamento para glicogenose. Realizou investigação molecular e radiológica para hemocromatose, sem evidência de depósito de ferro. Aos 9 anos, apresentava fadiga muscular e trofismo muscular reduzido, e teve fratura patológica de tibia secundária a osteoporose. Foram solicitados laboratoriais evidenciando hiperferritinemia (níveis superiores a 1000ng/mL), dislipidemia e hiperlactacidemia leve; investigação para doenças lisossômicas foi normal; dosagem de aminoácidos mostrou aumento de alanina e glutamina e redução de lisina. Procedeu-se à dosagem urinária, com aumento significativo de lisina, alanina e glutamina, associada a amônia pós-prandial aumentada, confirmando o diagnóstico de Intolerância a proteína lisinúrica. Sequenciamento do gene SLC7A7 identificou variante c.1109\_1133del (p.Leu370Serfs\*141), provavelmente patogênica, em homozigose. Discussão: A intolerância a proteína lisinúrica ou hiperaminoacidúria dibásica tipo 2 é um erro inato do metabolismo de herança autossômica recessiva caracterizado pela deficiência no transportador luminal de aminoácidos dibásicos (SLC7A7). Os sintomas mais prevalentes são má absorção intestinal, hiperamonemia, vômitos e hepatoesplenomegalia. O diagnóstico é realizado pela detecção de aumento da excreção urinária de lisina, arginina e ornitina, redução de lisina plasmática, hiperamonemia pós-prandial, hiperferritinemia e dislipidemia. O tratamento de manutenção envolve restrição proteica e administração de citrulina. Conclusão: Diante de fenótipos clínicos de baixa estatura, aversão alimentar específica e sinais somáticos é importante estabelecer a hipótese de doença metabólica hereditária, mesmo considerando a sua raridade. Destaca-se a importância do diagnóstico clínico definitivo para encerrar uma prolongada busca diagnóstica e permitir adequado manejo e aconselhamento genético em um erro inato do metabolismo raro, contudo com possibilidades de tratamento e ótima resposta clínica. Destaca-se também a descrição de uma nova variante no gene SLC7A7. Unitermos: Intolerância a proteína lisinúrica; Hiperaminoacidúria dibásica tipo 2; SLC7A7.

### P1358

#### **Análise in silico do impacto funcional de variantes em ilhas CPG de genes alvos de talidomida**

Ágata de Vargas Dupont, Bruna Duarte Rengel, Thayne Woycinck Kowalski, Fernanda Sales Luiz Vianna - UFRGS

Introdução: Alvos da talidomida têm sido identificados, sendo foco de estudos sobre a relação entre o uso de talidomida durante a gestação e o desenvolvimento de embriopatia de talidomida (TE). Variantes em genes-alvo são interessantes no estudo da teratogênese, pois podem gerar insights sobre a susceptibilidade genética à TE. As Ilhas CpG são alvo de metilação pela maquinaria epigenética e alterações nestas ilhas pode resultar na modificação da expressão gênica. Objetivo: Avaliar a presença de variantes em ilhas CpG de cinco genes alvo de talidomida. Materiais e Métodos: Cinco genes alvos de talidomida foram selecionados, sendo eles CRBN, DDB1, CUL4A (relacionados ao complexo ubiquitina E3 ligase) IKZF1, IKZF3 (fatores de transcrição regulados pelo complexo CRBN-CUL4A). Foi realizado sequenciamento de nova geração para estes cinco genes em amostras de trinta e cinco indivíduos com TE. Realizou-se a predição funcional das variantes com inserção da região flanqueadora encontradas através do programa MethPrimer (Urogene). Resultados: Para todos os genes avaliados foram identificadas 146 variantes, sendo 24 (16,3%) em ilhas CpG. Destas, 14 (9,5%) variantes não alteram a ilha CpG; das 10 (6,8%) restantes, uma se encontra em um intron de CRBN, uma em exon de IKZF3, quatro em CUL4A, sendo três localizadas em introns e uma em exon e, por fim, quatro variantes em IKZF1, sendo duas intrônicas, uma em região 5'UTR e a última em 3'UTR. Não foram identificadas variantes em DDB1. As variantes de CRBN e de IKZF3 são polimorfismos que causam alteração do início da ilha CpG. IKZF1 apresenta polimorfismos que causam alteração do início da ilha CpG, além de uma variante que resulta na criação de uma ilha. CUL4A apresenta quatro variantes com alterações distintas, uma provoca a criação de uma ilha CpG, uma a perda de uma ilha CpG, uma é um polimorfismo que diminui o tamanho da segunda ilha CpG do gene e, por fim, uma é um polimorfismo que altera início de uma ilha CpG. Conclusões: CUL4A e IKZF1 apresentaram maior número de variantes que afetam ilhas CpG, resultando em uma maior possibilidade de sofrer alterações epigenéticas e uma possível expressão diferencial destes genes em indivíduos com tais variantes. Essas variantes devem ser melhor investigadas para avaliar o real impacto dessas variantes em suas respectivas proteínas e na TE. Unitermos: Talidomida.

### P1362

#### **Incidência de homocistinúria clássica segundo número de heterozigotos em banco de dados genômicos**

Giovana Regina Weber Hoss, Fernanda Sperb-Ludwig, Henk J. Blom, Ida Vanessa Schwartz - HCPA

Introdução: A homocistinúria clássica (HCU) é a causa mais comum de homocistinúria. A incidência de HCU, segundo dados de triagem neonatal, é de aproximadamente 1: 130.000 na Alemanha, 1: 290.000 nos EUA e 1: 65.000 na Irlanda. Nos países asiáticos, é observada uma incidência muito menor como 1: 900.000 no Japão e 1: 1.600.000 em Taiwan, apesar de possuírem um programa de triagem eficaz. Estudos de estimativa de incidência segundo número de heterozigotos na população geral apresentam resultados altos como 1: 6.400 na Noruega. Assim, existe uma clara discrepância, cerca de 10 vezes, entre o número de pacientes conhecidos com HCU, e aqueles calculados através do número de heterozigotos detectados em populações relativamente