

que, a partir do banco de dados de sequência nucleotídicas do NCBI, não há potenciais off-targets das sequências estabelecidas em outro local no genoma humano. Por conseguinte, três sequências de 23 pares de bases foram escolhidas com base nos critérios mencionados. Conclusão: A seguir, essas sequências serão submetidas a ensaios experimentais por intermédio de cultivo celular para a confirmação in vitro da predição de off-targets. Unitermos: CRISPR-CAS9; Off-target; Terapia gênica.

P1151

Investigação clínica e análise por hibridização in situ fluorescente (FISH) em pacientes com suspeita de síndromes de microdeleções cromossômicas

Bruna Lixinski Diniz, Maiara Anschau Floriani, Andressa Schneiders Santos, Andressa Barreto Glaeser, Luiza Emy Dorfman, Rafael Fabiano Machado Rosa, Paulo Ricardo Gazzola Zen - UFCSPA

As síndromes de microdeleções cromossômicas (SM) são causadas por deleções submicroscópicas de genes contíguos, em regiões específicas do cromossomo, sendo relacionadas a malformações congênitas. O diagnóstico clínico pode ser difícil e o cariótipo não permite a sua identificação. Assim, se faz necessário a realização de análises complementares como, por exemplo, Hibridização in situ fluorescente (FISH). As síndromes de Willms (SW), Prader-Willi (SPW), Angelman (SA) e DiGeorge (SDG) são as mais prevalentes, porém com dificuldades para a sua confirmação, devido a necessidade de testes genéticos que não são oferecidos pelo SUS. Assim, é importante que se faça um diagnóstico clínico eficiente e a partir de uma estratégia de investigação, otimizar a realização dos testes genéticos, possibilitando assim um melhor acompanhamento e tratamento dos pacientes. O objetivo deste trabalho é realizar a investigação clínica e análise por FISH em pacientes com suspeita de SM, atendidos pelo Serviço de Genética Clínica da UFCSPA/HCSA. É um estudo prospectivo e de conveniência, onde foram coletados 5ml de sangue periférico para posterior cultivo de células e análise por FISH de indivíduos que apresentaram suspeita clínica de SW, de SA, de SPW e de SDG. Todos os indivíduos tinham cariótipo normal. Dos 12 indivíduos que apresentaram suspeita clínica, 1 indivíduo apresentou microdeleção no cromossomo 7 (del7q11.23), 1 indivíduo apresentou microdeleção no cromossomo 15 (del15q11-13), 8 indivíduos não apresentaram alterações cromossômicas e 1 indivíduo não teve seu diagnóstico confirmado devido a amostra estar contaminada. Através dos prontuários clínicos e da análise por FISH, foi possível diagnosticar 1 indivíduo com SW e 1 indivíduo com SA, onde seus achados clínicos foram compatíveis com a literatura. Devido à variedade de achados clínicos já descritos para a SDG, há dificuldade de se estabelecer critérios mais específicos para o encaminhamento para análise molecular. Sendo assim, concluímos que a análise molecular por FISH consegue superar a limitação do cariótipo, possuindo uma maior resolução e promovendo a análise de uma região específica. Porém, tem as desvantagens de não analisar o genoma completo e ser limitada ao tamanho da sonda. Para os casos onde a suspeita clínica foi descartada pela FISH, recomenda-se a investigação por meio de outras técnicas, como MLPA ou array-CGH. Unitermos: Microdeleções; FISH; Malformação congênita.

P1153

Investigação de lipodistrofia sindrômica conduz a diagnóstico de síndrome autoinflamatória relacionada ao proteassoma

Bibiana Mello de Oliveira, Pablo Brea Winckler, Fabiano de Oliveira Poswar, Jonas Alex Morales Saute - HCPA

Apresentação do Caso: Indivíduo do sexo masculino, 29 anos, filho de pais consanguíneos. Desde o período neonatal, apresentou pápulas eritematosas difusas recidivantes. A partir dos 3 anos iniciou restrição de crescimento, atrofia muscular progressiva, infecções de repetição e esplenomegalia. Aos sete anos passou a apresentar febre diária, associada à anemia microcítica, baquetamento digital e lipodistrofia parcial progressiva. Evoluiu com atraso puberal, caquexia e marcadas contraturas articulares. Realizou sorologias, ressonância magnética de crânio e investigação para erros inatos do metabolismo, que não evidenciaram alterações. Devido à suspeita de dermatomiosite, foi realizado tratamento com múltiplos imunossupressores sem resposta. Considerando-se fenótipo complexo de envolvimento muscular e lipodistrofia foi realizado sequenciamento do LMNA, que foi normal descartando a hipótese de laminopatia. Revisão de literatura evidenciou a descrição de um novo espectro de síndromes autoinflamatórias relacionado ao gene PSMB8 que geraria disfunção do proteassoma e que poderia explicar o quadro do paciente, tendo adicionalmente a presença de calcificações cerebrais. Foi solicitada então tomografia de crânio, a qual confirmou a presença de múltiplas calcificações simétricas em gânglios da base. Investigação molecular levou à identificação da variante patogênica c.224C>T (p.T75M) em homozigose, confirmando a hipótese diagnóstica. Discussão: O presente caso evidencia fenótipo complexo que inclui restrição de mobilidade articular, atrofia muscular, restrição de crescimento, lipodistrofia, visceromegalia, alterações hematológicas e cutâneas que, após longo período de investigação, teve seu diagnóstico conclusivo. Este espectro clínico foi associado a três síndromes descritas por diferentes grupos, até que, recentemente, com a descoberta de que o gene PSMB8 estaria relacionado aos 3 fenótipos, estes foram unificados sob o termo doenças relacionadas ao gene PSMB8, uma condição ultrarrara e sem descrição prévia na América Latina. Um promissor ensaio clínico aberto está em andamento no NIH para avaliar o benefício do inibidor JAK Baricitinib nesta condição. Comentários Finais: O presente relato ilustra a história clínica de indivíduo diagnosticado com doença rara recentemente descrita e com agente terapêutico em estudo. O diagnóstico confirmatório encerra um longo período de investigação e permite adequado aconselhamento genético ao paciente e seus familiares. Unitermos: Doenças neuromusculares; Doença autoinflamatória; PSMB8.

P1183

Diagnóstico genético e associação genótipo-fenótipo de 35 indivíduos brasileiros com atividade reduzida de biotinidase

Dévora Randon, Taciane Borsatto, Fernanda Sperb-Ludwig, Karina Carvalho Donis, Erlane Ribeiro, Carolina Fischinger Moura de Souza, Paula Medeiros, Ida Vanessa Doederlein Schwartz - UFRGS

INTRODUÇÃO: A enzima biotinidase (EC 3.5.1.12), codificada pelo gene BTBD9, é responsável pela absorção e reciclagem da biotina, um cofator para diversas carboxilases mitocondriais. Na deficiência de biotinidase (DB, OMIM: 253260), uma doença metabólica autossômica recessiva, a atividade da biotinidase é reduzida, podendo ocasionar manifestações neurológicas e dermatológicas na ausência de tratamento precoce. Indivíduos com atividade reduzida da biotinidase podem apresentar DB total, parcial, ou ser heterozigotos para variantes patogênicas no gene BTBD9. Devido à labilidade dessa enzima, a análise genética pode auxiliar no diagnóstico, sendo fundamental o entendimento da relação entre o fenótipo bioquímico e o genótipo. OBJETIVOS: Caracterizar o perfil genético de indivíduos brasileiros com atividade reduzida de biotinidase e avaliar a associação entre os achados genéticos e

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