

**P2068****Diagnóstico genético diferencial de hiperfenilalaninemias e da doença da urina do xarope do bordo: abordagem utilizando painel de genes na plataforma Ion Torrent**

Rafael Hencke Tresbach, Fernanda Sperb-Ludwig, Tássia Tonon, Ida Vanessa Doederlein Schwartz - UFRGS

**Introdução:** Hiperfenilalaninemias genéticas (HPA) podem ser causadas por variantes patogênicas no gene fenilalanina hidroxilase (PKU, gene PAH) ou em genes codificadores de seu cofator tetrahydrobiopterina (deficiência de BH4, genes PTS, GCH1, GCHFR, QDPR, PCBD1 e SPR). A doença da urina do xarope do bordo (DXB) é devida a diminuição da desidrogenase dos alfa-cetoácidos de cadeia ramificada, codificada pelos genes BCKDHA, BCKDHB e DBT. Ambas as doenças possuem tratamento e o diagnóstico evita a progressão de desfechos neurológicos. O sequenciamento na plataforma Ion Torrent com painéis de genes permite analisar múltiplos genes de forma ágil, colaborando para o diagnóstico precoce. **Objetivos:** Realizar o diagnóstico genético de HPA por PKU ou deficiência de BH4 e DXB através da plataforma Ion Torrent. **Métodos:** Foram incluídos 24 pacientes com diagnóstico bioquímico de PKU (n=15), def. BH4 (n=3) e DXB (n=6). Entre eles, 11 tinham diagnóstico genético prévio realizado por Sanger (PKU=10; DXB=1), um tem pais consanguíneos e dois são irmãos. O DNA foi sequenciado em plataforma Ion Torrent (Thermo Fisher), utilizando painel que inclui todos os genes envolvidos com a HPA e DXB. Variantes foram filtradas com o software Enlis Genome Research (Enlis). A análise dos resultados foi efetuada de forma cegada em relação ao diagnóstico genético prévio. **Resultados:** O sequenciamento na plataforma Ion Torrent apresentou cobertura de aproximadamente 3,5 milhões de reads. O genótipo foi concluído em 21 pacientes. Foram encontradas cinco variantes novas, p.(Pro175Arg) no gene PAH; p.(Thr135Ala) e p.(Asn45Ile) no PTS; e p.(Gly131Val) e p.(Pro27fs) no BCKDHB. Em um caso, o genótipo foi discordante em relação ao prévio (p.[Arg408Trp];[Arg480Trp]), entretanto, o NGS provavelmente apresentou o resultado correto (p.[Arg408Trp];[Arg241His]), pois o paciente não provém de família consanguínea e também, a segunda variante encontrada ser conhecida como patogênica. Dois pacientes não tiveram nenhum alelo encontrado (DXB) e 1 teve apenas um dos alelos encontrados. (def. BH4). Cinco pacientes tiveram seu genótipo prévio concluído pelo NGS. Considerando a amostra total, foram identificadas 25 diferentes variantes patogênicas, sendo cinco delas novas (DXB=2;PKU=1;def. BH4=2). **Conclusões:** O diagnóstico foi concluído para 21 pacientes. Para os demais, limitações da técnica serão avaliadas. Resultados serão validados por sequenciamento de Sanger nos pacientes sem diagnóstico genético prévio. **Unitermos:** Hiperfenilalaninemias; Doença da Urina do Xarope do Bordo; Sequenciamento de nova geração.

**P2084****Desenvolvimento de uma abordagem NGS para o diagnóstico genético-molecular das lipofuscinoses ceróides neuronais**

Diana Elizabeth Rojas Malaga, Ana Carolina Brusius-Facchin, Maria Luiza Saraiva Pereira, Roberto Giugliani - HCPA

As lipofuscinoses ceróides neuronais (LCN) são o grupo de doenças neurodegenerativas mais comum na infância e são classificadas como doenças lisossômicas. Este grupo está formado por uma família de 14 desordens caracterizadas pelo acúmulo lisossomal de corpos fluorescentes tanto em neurônios como em outro tipo de células, geralmente levando à demência, epilepsia, deterioração motora e morte prematura. A maioria dos tipos é herdada de forma autossômica recessiva. O objetivo do presente trabalho foi o desenho e validação de um painel de genes NGS incluindo as regiões codificantes e junções exon-intron (20pb) dos 13 genes associados às LCN. Esta validação foi realizada utilizando DNA extraído de sangue periférico e de sangue impregnado em papel filtro na plataforma NGS Ion Torrent Personal Genome Machine. Foram utilizadas 20 amostras para a validação. A amplitude de cobertura do painel foi de 98,38%, e a profundidade de cobertura média de 300X. Mutações pontuais e pequenos INDELS foram detectados com alta sensibilidade e especificidade. Além disso, foi possível detectar a mutação frequente de 1.02kb no gene CLN3, em estado de homozigose. As limitações do painel também foram estabelecidas, entre elas a baixa cobertura de regiões com alto conteúdo GC. Este painel NGS poderá auxiliar no diagnóstico molecular de pacientes com suspeita de LCN, principalmente para os quais não está disponível um ensaio de atividade enzimática. **Unitermos:** Diagnóstico molecular; Sequenciamento de nova geração; Lipofuscinoses ceróides neuronais.

**P2125****Painel de sequenciamento de nova geração para distrofias musculares e miopatias hereditárias: rendimento diagnóstico em 59 famílias de um único centro**

Gustavo Dariva Machado, Pablo Brea Winckler, Bruna Cristine Chwal, Daniela Burguêz, Márcia Polese Bonatto, Filippo Pinto e Vairo, Marina Siebert, Márcia L. F. Chaves, Jonas Alex Morales Saute - HCPA

**Introdução e Objetivos:** Devido à grande heterogeneidade clínica e genética de distrofias musculares (MD) e miopatias hereditárias (HM), estudos genéticos por sequenciamento de nova geração (NGS) podem ser instrumentos tempo e custo-efetivos para diagnosticar essas doenças. Nós objetivamos avaliar o rendimento diagnóstico de um painel de NGS de 39 genes e prover conhecimentos iniciais sobre o perfil epidemiológico de MD/HM no Rio Grande do Sul, Brasil. **Materiais e Métodos:** Estudo observacional, transversal, em que foram recrutados casos sem diagnóstico de famílias consecutivas com suspeita clínica/neurofisiológica de MD/HM provenientes do ambulatório de genética das doenças neuromusculares do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. O painel de NGS de 39 genes mais frequentemente relacionados à MD/HM em outras populações foi realizado com Ion Torrent-PGM. **Resultados:** Entre os 51 casos, obtivemos um rendimento diagnóstico geral de 64,7% (33/51), diagnóstico definitivo em 39,2% (20/51) e ao menos um possível diagnóstico em 25,4%(13/51) dos casos. Rendimento diagnóstico para distrofias musculares de cintura (LGMD) foi de 58,3%(14/24), com 6 casos de LGMD2A(25%), 4 casos LGMD2B(16.6%), 1 caso de cada LGMD2D, LGMD2G, LGMD2K e 1 relacionado a RYR1. Para miopatias e distrofias musculares congênitas o rendimento diagnóstico foi de 66,6%(10/15), 2 casos de RYR1 e 1 caso de cada desordem relacionada a LAMA2, COL6A2, NEB, SEPN1 e POMGNT1. Para doenças musculares com contraturas articulares proeminentes, o rendimento diagnóstico foi de 80% (8/10). Não houve diferença no rendimento diagnóstico entre pacientes com história familiar/consanguinidade e casos isolados. **Conclusões:** Um provável diagnóstico molecular foi obtido em quase dois terços dos casos avaliados com o painel de NGS, indicando que esta ferramenta pode ser utilizada como primeira linha na investigação de MD/HM. Os tipos mais frequentes de MD/HM no Sul do Brasil foram LGMD2A e LGMD2B. **Unitermos:** Distrofias musculares; Miopatias hereditárias; Painel de sequenciamento de nova geração.