

resolved by capillary electrophoresis and analyzed by GeneMapper® ID v3.2 software. Results include the detection of expansions in both alleles in 10 individuals (16.67%) with clinical suspicion of FRDA that confirmed the diagnosis. One expanded allele and one normal allele were found in a single case (1.67%), and this sample has to be further analyzed for other mutations in the gene. The remaining 50 samples were shown to carry only alleles within the normal range. Among those 50, 12 (20.00%) were heteroallelic while the remaining 37 (61.67%) were homoallelic. All alleles from 62 control individuals were placed within the expected range, being 43.55% (27/62) heteroallelic for the GAA tract. Therefore, we can conclude that the protocol allowed the establishment of allelic distribution of normal alleles, and those ranging from 7-9 repeats were responsible for 76.23% (186/244). This data is similar to those reported in other populations. In addition, the protocol was also able to successfully diagnose new patients with FRDA. Hence, protocol presented here was already translated to the clinic (Financial support: PROBIC-FAPERGS, CNPq and FIPE-HCPA).

eP3123

Potencial mutagênico de sedimentos e água superficial do Rio Taquari em locais de captação de água para abastecimento público

Paula Hauber Gameiro; Ismael Krüger Pescke; Livia de Oliveira Rozino; Vera Maria Ferrão Vargas
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução: Mananciais hídricos degradados alteram os sedimentos e reduzem a qualidade da água superficial, prejudicando seus usos, como abastecimento. Agentes genotóxicos são depositados ao longo do tempo no sedimento, que pode servir como fonte de poluentes para água. A pureza da água potável depende da qualidade dos mananciais, pois contaminantes podem ser carregados até o tratamento final. **Objetivo:** O estudo avaliou o potencial mutagênico em extratos orgânicos de sedimento e água superficial, em áreas com captação de água. **Métodos:** Os locais amostrados foram: Ta063 Bom Retiro do Sul; Ta032 Taquari; Ta011 Triunfo; Ta006 General Câmara. A mutagênese foi avaliada pelo ensaio Salmonella/microsoma, método de microsuspendição, com linhagens que detectam erro no quadro de leitura (TA98; TA97a) e substituição de pares de bases do DNA (TA100), ausência e presença de ativação metabólica (S9). Do sedimento, os compostos orgânicos (moderadamente polares) foram extraídos por ultrassom, concentrados em rotavapor (40°C) e acondicionados a -20°C. As amostras de água foram submetidas à extração para compostos orgânicos em resinas XAD4, pH natural e ácido, com eluição em metanol/diclorometano (compostos moderadamente polares/apolares) e metanol/etilacetato (compostos polares), respectivamente, e os eluatos concentrados em rotavapor. **Resultados:** No sedimento, a mutagênese foi expressiva em TA100-S9, observada no ponto Ta032, (1987±285,4 rev/g) e TA97a+S9 nos pontos Ta063 e Ta011 (25±12,9 rev/g e 16±6,2 rev/g respectivamente). Para a água, resultados significativos foram encontrados no ponto Ta063 647,1±81,8 rev/L (neutra) e 1065,6±27,2 rev/L (ácida); e Ta011 617,6±65 rev/L (neutra) e 566±66 rev/L (ácida). **Conclusões:** Os valores dos metais e HPAs foram baixos, não explicando a presença da mutagênese observada em sedimentos. Também não foram encontrados nitrocompostos quando utilizadas as linhagens sensíveis. Esta pequena contribuição dos grupos químicos analisados para explicar a potência mutagênica gerou preocupação quanto a possível mistura complexa de poluentes presentes nos locais de captação de água potável. Assim, a continuidade do diagnóstico nestas áreas permitirá conclusões sobre a influência da qualidade do manancial na pureza da água distribuída para a população. Apoio PIBIC-CNPq/FEPAM; CAPES; CNPq 308272/2015-3.

eP3126

Testagem preditiva para doenças neurogenéticas: um fluxograma do perfil de quem segue com o exame

Rhaná Carolina Santos; Greice Toscani Chini; Karina Carvalho Donis; Laura Bannach Jardim
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: Testes pré-sintomáticos (TP) detectam a presença de genótipos que causarão no portador uma doença no futuro. Não há prevenção na maioria dos casos e poucos sujeitos os solicitam. **Objetivos:** Descrever o perfil dos sujeitos que buscaram o TP nos últimos 12 meses em nosso serviço e compará-los com os atendidos entre 1999-2009[1], e 2010-2012[2]. **Métodos:** Pessoas em risco de 50% para uma mutação conhecida e que buscaram TP em ambulatório específico em 2018 foram estudadas. O TP foi realizado conforme já descrito [2]. Número de consultas, doença em risco e dados demográficos registrados eletronicamente foram revisados. **Resultados:** 53 pessoas (36 mulheres, 69%) iniciaram TP em 2018: 37 estavam em risco para a ataxia espinocerebelar tipo 3 (SCA3) (71%); 7, para Doença de Huntington (13%); 2, para Distrofinopatia; 2, para Charcot-Marie Tooth tipo 1A; e uma pessoa, para SCA1, SCA2, SCA6, SCA7 e para heterozigose de Ataxia Telangectasia. A idade média foi de 35.5±12.5 anos; 45% das pessoas eram casadas, 58% tinham filhos e 73% tinham escolaridade além de oito anos. Treze (24%) apresentaram sintomatologia psiquiátrica de depressão e/ou ansiedade ao longo dos atendimentos realizados; 6 estavam fazendo uso de psicofármacos. Após as sessões de AG, 25/53 indivíduos compareceram às sessões de acompanhamento psicológico e 21/53 (40%) optaram por realizar o exame. **Discussão:** O número de pessoas que buscaram TPs estabilizou-se a partir de 2010. Foi de 184 entre 1999-2009 (18/ano) [1], 159 (79/ano) entre 2010-2012 [2] e 53 em 2018 (53/ano). A proporção dos que realizaram o TP variou entre 40 e 54% no intervalo, sugerindo que o AG e o acompanhamento psicológico ajudam os sujeitos a tomarem sua decisão de forma mais refletida. O predomínio de mulheres, a faixa etária, a escolaridade elevada e a existência de filhos permanecem estáveis. Manifestações depressivas parecem ter sido mais detectadas agora - 24% em 2018 versus 10% até 2009 -, o que merece melhor averiguação. As motivações para a realização do TP são variadas e devem ser analisadas de forma individual. Sendo o resultado do TP, informação sigilosa não é possível divulgar dados referentes à prevalência das doenças nesta amostra. Follow-ups a longo prazo permitirá medir o impacto do TP na qualidade de vida dos envolvidos. Ref: [1] Rodrigues et al 2011, PMID: 21717286; [2] Schuler-Faccini et al 2014, PMID 24764760

eP3142

Mutographs of cancer: descobrindo as causas do câncer através das mutações de diferentes ambientes e hábitos

Taiana Haag; Johanna Henriques Nehm; Mariana Rodrigues Botton; Francine Hehn de Oliveira; Alessandro Bersch Osvaldt; Daniel de Carvalho Damin; Brasil Silva Neto; Ismael Maguilnik; Grupo Mutographs - Porto Alegre; Patricia Ashton-Prolla
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: Mutographs of cancer é uma iniciativa internacional liderada pelo Wellcome Sanger Institute e o International Agency for

Research in Cancer (IARC) que envolve a contribuição de 18 países, através de uma rede de 25 centros oncológicos e acadêmicos. Um dos centros acadêmicos que participa é o Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) que está entre as quatro instituições brasileiras participantes. O estudo envolve a investigação de assinaturas mutacionais que são diferentes padrões de mutações somáticas, ou seja, um tipo de “impressão digital” gerada por diferentes fatores ambientais, de estilo de vida e genéticos que contribuem para a geração do câncer. Mais de cinco mil amostras de tumores de rim, pâncreas, esôfago e de intestino coletadas nos cinco continentes serão incluídas de forma prospectiva. Objetivo do HCPA: coletar materiais biológicos, dados clínicos e informações sobre hábitos e exposição a riscos ambientais de 400 pacientes com os diferentes tumores. Métodos: são incluídos no projeto, mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, pacientes com diagnóstico patológico de carcinoma invasivo primário para um dos quatro tipos diferentes de tumores. A coleta, o processamento e o armazenamento das amostras e as informações clínicas dos pacientes seguem protocolos rigorosos e padronizados pelo IARC. Um questionário de estilo de vida é administrado ao indivíduo por meio de entrevista treinada. Por meio do sequenciamento do genoma destes tumores, serão investigadas assinaturas mutacionais para buscar uma relação com as diferenças geográficas na incidência das doenças. Resultados: o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em 2018. As coletas iniciaram em setembro do mesmo ano e até o momento foram incluídos 83 pacientes, sendo 37 com carcinoma de rim, 25 de intestino, 12 de esôfago e 9 de pâncreas. Ainda, a participação do HCPA no projeto está auxiliando a implementação do Biobanco dessa instituição, uma vez que um espelho das amostras coletadas está sendo armazenado para futuras pesquisas. Conclusão: a participação do HCPA nesse projeto multicêntrico traz maior visibilidade internacional ao hospital e auxilia no desenvolvimento de protocolos para o Biobanco da instituição. Ainda, por meio da compreensão das causas dos diferentes tipos de câncer abordados, esta iniciativa poderá levar a novas abordagens para a prevenção e tratamento destas doenças nas diferentes regiões geográficas estudadas.

eP3159

Síndrome DICER1 – relato de um caso diagnosticado no ambulatório de oncogenética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Daniele Konzen; Joshua Werner Bicalho da Rocha; Cristina Brinckmann Oliveira Netto; Rafael Selbach Scheffel; Ana Luiza Silva Maia; Patrícia Ashton-Prolla

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

INTRODUÇÃO: Variantes patogênicas germinativas no gene DICER1 causam uma síndrome de predisposição ao câncer e ao desenvolvimento de alterações benignas (cistos pulmonares, nefroma cístico, hiperplasia nodular de tireóide, entre outros). Um dos tumores mais comumente envolvidos na síndrome é o blastoma pleuropulmonar, podendo ser diagnosticado no período neonatal. Tumores renais, ovarianos e de tireoide também são observados. O medulo epitelioma intraocular aqui relatado é descrito em associação com a síndrome e foi relatado somente em outros 5 pacientes na literatura. Esta síndrome tem herança autossômica dominante e penetrância incompleta. **CASO:** Paciente masculino, 13 anos, após iniciar investigação de sopro cardíaco aos 3 anos, realiza raio-x de tórax evidenciando opacidade pulmonar e desvio mediastinal; após longa investigação e tentativas de tratamento de pneumonia, é diagnosticado com blastoma pleuropulmonar. Aos 8 anos, já fora de tratamento oncológico, paciente relata diminuição da acuidade visual e, ao exame, é observado estrabismo e leucocoria em olho esquerdo. Após exames complementares, recebe diagnóstico de medulo epitelioma intraocular. Devido raridade dos tumores, paciente é encaminhado ao ambulatório de oncogenética e em consulta com equipe foi referido história familiar de nódulos de tireoide nas duas irmãs de 17 e 14 anos e hipotireoidismo na mãe do paciente. Pela sua história pessoal e familiar foi aventada a hipótese diagnóstica de Síndrome DICER1 e foi solicitada análise molecular do gene DICER1, sendo identificada a variante patogênica em heterozigose c.757dupA (p.Ile253Asnfs*10) no éxon 7 do gene DICER1, confirmando o diagnóstico de Síndrome DICER1. Após entrega de resultados e aconselhamento genético foi solicitada a pesquisa de variante germinativa patogênica familiar para seus pais e irmãos, confirmando a presença da variante em sua mãe e nas duas irmãs. À posteriori, paciente foi submetido à tireoidectomia, com diagnóstico de Carcinoma Folicular de Tireoide. **CONCLUSÃO:** O diagnóstico precoce da Síndrome DICER1 permite o adequado seguimento dos pacientes conforme faixa etária de aparecimento dos tumores; a detecção pré-sintomática dos tumores leva a uma diminuição das comorbidades decorrentes assim como da mortalidade. A possibilidade de realização de teste molecular em familiares em risco evita o fardo de uma possível rotina de seguimento desnecessária em pacientes que não herdaram a variante patogênica presentes na família.

eP3186

Four N-Glycosylation sites are essential for GlcNac-1-Phosphotransferase activity

Nataniel Ludwig; Tatyana Danyukova; Renata Voltolini; Ida Vanessa Schwartz; Thomas Braulke
Outras Instituições

The N-acetylglucosamine (GlcNAc)-1-phosphotransferase modifies selectively ~70 soluble lysosomal enzymes at their N-linked glycans with mannose 6-phosphate residues required for proper targeting to lysosomes. Loss or reduced activity results in mucopolidiosis II and III, respectively, biochemically characterized by missorting and hypersecretion of lysosomal enzymes. GlcNAc-1-phosphotransferase is a hexameric complex ($\alpha_2\beta_2\gamma_2$). The α - and β -subunits are encoded by the GNPTAB gene and synthesized as a common precursor protein which is proteolytically activated by the Golgi-resident site-1-protease. The luminal domain of the α/β -subunit precursor contains an unusual high number of potential N-glycosylation sites. The precise location of used N-glycosylation sites and their role for S1P-mediated cleavage, catalytic activity, subcellular localization and interaction with γ -subunits remains elusive. **Aim:** Determination of the used N-glycosylation sites in vivo and their impact for transport, stability and activity. **Results:** In total 42 substitutions of the 20 potential N-glycosylation sites were introduced in the α -subunit or the full length α/β -subunit precursor constructs by site-direct mutagenesis. With the exception of N250 all potential N-glycosylation sites are used. Most important, single mutation of N-glycosylation sites localized at stealth domain 1 (N83) and 2 (N376) of the α -subunit, as well as N1056 and N1129 of β -subunits leads to reduction of the GlcNAc-1-phosphotransferase activity by 77, 64, 72 and 95 %, respectively. Furthermore, substitution of these Asn residues to Gln did neither affect the transport of α/β -subunit precursor protein to the cis-Golgi apparatus nor its S1P-mediated cleavage. Simultaneous mutation of N-glycosylation sites in the γ -subunit binding domain did not impair the interaction with γ -subunits, cis-Golgi localization, proteolytic cleavage by S1P or enzyme activity. **Conclusions:** Our findings demonstrate that (i) N-glycosylation sites tested in the full length α/β -subunit precursor protein do neither affect stability nor transport to the cis-Golgi apparatus, and (ii) N-glycosylation does not interfere with α - γ -subunit interaction. The essential role of N-glycosylation