



**Poster 05. FORMA RARA DE Distrofia Muscular (Ligada ao Gene *CHKB*) Identificada através da Sequenciação Completa do Exoma**

**Jorge Oliveira<sup>1,5,6</sup>, Luís Negrão<sup>2</sup>, Isabel Fineza<sup>3</sup>, Ana Rita Gonçalves<sup>1,6</sup>, Hugo Froufe<sup>4</sup>, Conceição Egas<sup>4</sup>, Mário Sousa<sup>5,6\*</sup>, Rosário Santos<sup>1,6\*</sup>**

<sup>1</sup>Unidade de Genética Molecular (UGM), Centro de Genética Médica Dr. Jacinto Magalhães (CGMJM), Centro Hospitalar do Porto E.P.E. (CHP), Porto; <sup>2</sup>Consulta de Doenças Neuromusculares, Hospitais da Universidade de Coimbra, Centro Hospitalar Universitário de Coimbra, Coimbra; <sup>3</sup>Unidade de Neuropediatria, Centro de Desenvolvimento da Criança Luis Borges, Hospital Pediátrico de Coimbra, Centro Hospitalar Universitário de Coimbra. Coimbra; <sup>4</sup>Unidade de Sequenciação Avançada, Biocant, Parque Tecnológico de Cantanhede, Cantanhede; <sup>5</sup>Departamento de Microscopia (DM), Laboratório de Biologia Celular (LBC), Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS), Universidade do Porto (UP), Porto; <sup>6</sup>Unidade Multidisciplinar de Investigação Biomédica (UMIB), Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS), Universidade do Porto (UP), Porto. \* Autores com igual contribuição

**Introdução:** As distrofias musculares (DM) são um vasto grupo de patologias musculares hereditárias que partilham características histológicas distintivas na biópsia muscular. Pelo menos 53 genes foram já associados a estas patologias. O diagnóstico das DM requer a avaliação clínica e diferentes meios complementares de diagnóstico (eletromiograma, ressonância magnética nuclear cerebral e análise da biópsia muscular). Nos doentes sem clínica sugestiva ou sem alterações no estudo imunohistoquímico, a estratégia de diagnóstico e a orientação do estudo genético é mais complexa. Consequentemente, alguns doentes referenciados para a realização de estudos genéticos no âmbito destas patologias, encontram-se ainda sem diagnóstico definitivo.

**Objetivos:** O projecto CHP-336/13(196-DEFI/285-CES) pretende identificar as causas genéticas das miopatias hereditárias em doentes sem diagnóstico diferencial, através do desenvolvimento e aplicação de novas tecnologias de sequenciação ("next-generation sequencing", NGS). Descreve-se a utilização de uma técnica inovadora em Portugal - sequenciação do exoma - numa doente com distrofia muscular indeterminada.

**Material e Métodos:** A doente estudada, sem história familiar prévia de doença neuromuscular, apresenta fraqueza muscular progressiva desde os 4 anos, CK elevados, atraso mental, cardiomiopatia dilatada e aos 40 anos mantém a marcha. Oito genes candidatos foram excluídos por sequenciação convencional e MLPA. Para identificação do defeito genético subjacente foi efectuada a sequenciação do trio de exomas (doente e pais) por NGS. A análise bioinformática consistiu na: i) preparação das sequências, alinhamento e identificação das variantes; ii) anotação e filtro das variantes e iii) avaliação do efeito das variantes. Para comprovar o impacto de uma alteração identificada no gene da colina cinase beta (*CHKB*) no processamento do mRNA, foram analisados os respetivos transcritos. As alterações foram confirmadas por sequenciação convencional.

**Resultados:** A análise do trio de exomas foi efectuada através de diferentes abordagens exploratórias de filtragem de variantes, incidindo inicialmente nos 108 genes previamente associados às miopatias hereditárias. Esta estratégia identificou uma variante silenciosa no gene da *CHKB*, em homozigotia na doente e em heterozigotia nos pais, suscitando a inspeção visual do alinhamento das sequências do gene *CHKB*. Foi identificada uma segunda alteração (NM\_005198.4:c.1031+3G>C), anotada pelo software como heterozigótica. Contudo, no caso da doente a zigotia desta alteração suscitou dúvidas, devido à menor qualidade do alinhamento nesta região. A sequenciação convencional evidenciou que esta variante encontra-se em homozigotia na doente e em heterozigotia nos pais. A análise bioinformática sugeriu um possível efeito, da alteração c.1031+3G>C, ao nível do processamento do mRNA. O estudo da expressão do gene *CHKB* revelou a presença de transcritos mutados e ausência de transcritos normais, comprovando a patogenicidade desta mutação.

**Conclusões:** Reportamos a identificação de uma nova mutação c.1031+3G>C no gene *CHKB*, associado a uma forma muito rara de DM congénita (apenas 19 doentes descritos) com deficiência na biossíntese de fosfatidilcolina. Este trabalho evidencia as potencialidades da análise do exoma, constituindo-se como uma abordagem inovadora para a identificação de defeitos genéticos associados a doenças monogénicas, em particular no diagnóstico de patologias com elevada heterogeneidade genética e/ou clínica. Representa ainda o primeiro caso de um estudo genético alcançado através da análise do exoma, realizado em Portugal.

**Contatos:** Jorge Oliveira, Técnico Superior de Saúde, UGM, CGMJM/CHP; DM, LBC, ICBAS/UP; UMIB/ICBAS/UP: [jorge.oliveira@chporto.min-saude.pt](mailto:jorge.oliveira@chporto.min-saude.pt).