

Atualização do panorama genético da Homocistinúria Clássica no Brasil

Gabriela Garcia Silvano¹; Fernanda Sperb- Ludwig¹; Frederick P. Roth²; Jochen Weile³; Bilin Nong³; Viktor Kozich⁴, Emily de Conto⁵; Ida Vanessa Doederlein Schwartz¹; Grupo Brasileiro de Homocistinúria Clássica

1: Instituto Nacional de Doenças Raras, InRaras, Brasil; 2: Department of Computational and Systems Biology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, USA; 3: University of Toronto, Toronto, Canada; 4: Department of Pediatrics and IEM, Charles University, Prague, Czech Republic; 5: Laboratório BRAIN – Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brasil
ISCHWARTZ@HCPA.EDU.BR

INTRODUÇÃO

A Homocistinúria Clássica (HCU) é uma doença genética com herança autossômica recessiva, causada pela atividade deficiente da cistationina-beta-sintase (CBS) devido a variantes bialélicas no gene *CBS*. Nosso grupo liderou um esforço nacional para caracterizar o perfil genético da HCU no Brasil e um estudo anterior descreveu as variantes de 35 pacientes de quatro regiões do Brasil.

OBJETIVO

Atualizar os achados clínicos e moleculares de pacientes brasileiros com HCU, incluindo 23 novos pacientes.

METODOLOGIA

Vinte e três indivíduos (19 famílias) com diagnóstico clínico e bioquímico de HCU foram incluídos. Dados diagnósticos e manifestações clínicas foram coletados de prontuários médicos. O DNA genômico foi obtido a partir de sangue total e os éxons 1-16 e as junções éxon/intron do gene *CBS* foram amplificados por PCR convencional. Novas variantes missense foram avaliadas usando mapas funcionais gerados por ensaio de complementação de alto rendimento em levedura. Como 3/19 famílias (15,7%) relataram consanguinidade parental, o número total de alelos foi considerado 35.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

As famílias, incluindo os novos pacientes, são de 4/5 regiões Brasileiras (figura 1).

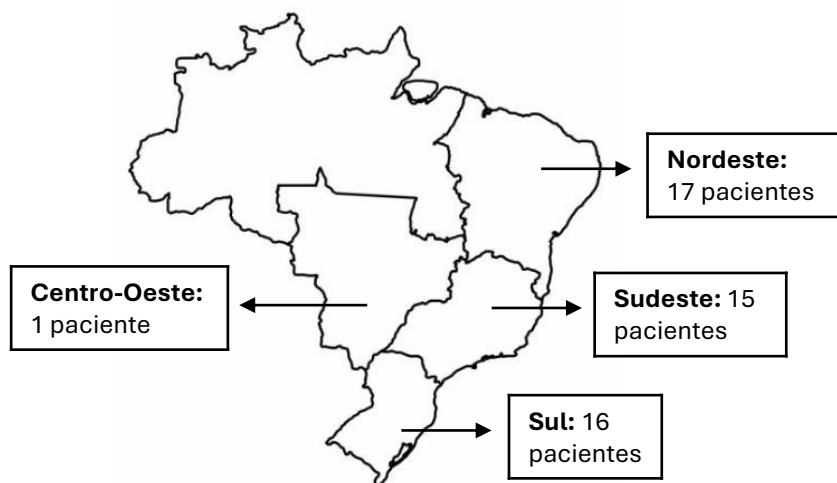


Figura 1. Mapa do Brasil por regiões.

Dos 58 pacientes analisados, 30 (51,7%) eram do sexo masculino, a média de idade de início das manifestações clínicas foi de $5,0 \pm 4,7$ anos e 47 (81,1%) pacientes foram classificados como não responsivos e 11 (18,9%) como responsivos à piridoxina. As variantes mais frequentes encontradas no gene *CBS* foram p.Trp323Ter (18,5%), p.Ile278Thr (14,8%) e p.Thr353Met (8,5%).

Para os 23 novos pacientes, quatro novas variantes foram identificadas: c.386A>G (p.Asp129Gly), c.450C>A (p.Thr150=), c.1052G>A (p.Gly351Asp) e c.1598T>G (p.Val533Gly). A figura 2 ilustra as variantes mais frequentes e as novas variantes encontradas.

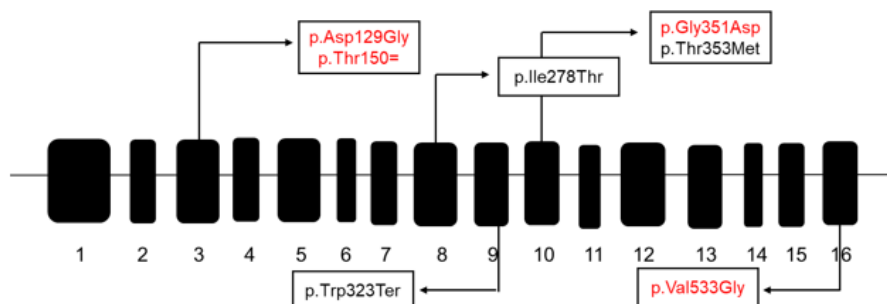


Figura 2. Localização das variantes no gene *CBS*. Mapa do gene *CBS* mostrando a localização das novas variantes (em vermelho) e as variantes mais frequentes (em preto). Os éxons são representados por caixas pretas sólidas e os introns pela linha preta horizontal.

Por meio dos mapas funcionais, a evidência encontrada foi que as variantes p.Asp129Gly e p.Val533Gly diminuem a função da proteína, mas não o suficiente para sustentar evidências a favor ou contra a patogenicidade e a p.Gly351Asp, observamos um escore de patogenicidade alta o suficiente para sustentar patogenicidade moderada (tabela 1).

Tabela 1. Análise de patogenicidade de novas variants usando mapas funcionais de alto rendimento e os critérios do American College of Medical Genetics.

Variante	Efeito na proteína	Pontuação Funcional	LLR p	Intervalo de confiança	Evidência	Classificação ACMG
c.386A>G	p.Asp129Gly	0.578	-0.164	[-0.836;1.051]	Neutro	Provavelmente patogênico
c.1052G>A	p.Gly351Asp	-00.15	0.833	[-0.815;3.981]	Patogênico moderado	Provavelmente patogênico
c.1598T>G	p.Val533Gly	0.400	0.085	[-0.302;0.706]	Neutro	VUS

Pontuação funcional: capacidade geral da proteína de funcionar. 0 = nulo e 1 = WT. LLR_p (logarithmic likelihood ratio): razão de verossimilhança logarítmica de patogenicidade. LLR positivo: patogenicidade; LLR negativo: benignidade; LLRs próximos de zero: probabilidade igual de serem patogênicos ou benignos. Evidência: suporte a favor ou contra a patogenicidade. VUS: variante de significado incerto.

No presente estudo, entre as manifestações clínicas, os fenótipos foram graves e as medianas de tHcy e Met foram elevadas, superiores ao recomendado, o que pode explicar as manifestações clínicas graves. Embora mapas funcionais tenham encontrado algumas evidências de que as variantes p.Asp129Gly e p.Val533Gly diminuem a função da proteína, esse foi um efeito muito modesto para fornecer evidências funcionais em relação à patogenicidade. No entanto, as evidências funcionais indicaram evidências moderadas em relação à patogenicidade para p.Gly351Asp.

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados corroboram nossos achados anteriores, mostrando intensa diversidade genética na população brasileira com HCU, onde as três variantes mais frequentes são responsáveis por quase metade dos alelos mutados. O perfil clínico desses pacientes reforça o fenótipo grave da Homocistinúria Clássica, ressaltando a importância do diagnóstico precoce.