

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**ASPECTOS GENÉTICOS DA HOMOCISTINÚRIA CLÁSSICA NO BRASIL:  
CARACTERIZAÇÃO DE HAPLÓTIPOS E DE VARIANTES**

GABRIELA GARCIA SILVANO

Porto Alegre

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**ASPECTOS GENÉTICOS DA HOMOCISTINÚRIA CLÁSSICA NO BRASIL:  
CARACTERIZAÇÃO DE HAPLÓTIPOS E DE VARIANTES**

GABRIELA GARCIA SILVANO

Orientadora: Profa. Dra. Ida Vanessa D. Schwartz

Co-orientadora: Profa. Dra. Fernanda Sperb-  
Ludwig

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Medicina: Ciências Médicas da  
Faculdade de Medicina da Universidade Federal  
do Rio Grande do Sul como requisito parcial para  
obtenção do título de mestra em Ciências Médicas.

Porto Alegre

2024

CIP - Catalogação na Publicação

Silvano, Gabriela Garcia  
ASPECTOS GENÉTICOS DA HOMOCISTINÚRIA CLÁSSICA NO  
BRASIL: CARACTERIZAÇÃO DE HAPLÓTIPOS E DE VARIANTES /  
Gabriela Garcia Silvano. -- 2024.  
71 f.

Orientadora: Ida Vanessa Doederlein Schwartz.

Coorientador: Fernanda Sperb-Ludwig.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de  
Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2024.

1. Erros Inatos do Metabolismo. 2. Homocistinúria  
Clássica. 3. Gene CBS. 4. Haplótipos. 5. Variante  
p.Trp323Ter. I. Schwartz, Ida Vanessa Doederlein,  
orient. II. Sperb-Ludwig, Fernanda, coorient. III.  
Título.

## **Agradecimentos**

Agradeço às professoras doutora Ida Vanessa Doederlein Schwartz pela oportunidade e orientação no mestrado e professora doutora Fernanda Sperb-Ludwig pelas ajudas, ensinamentos e coorientação. E à doutora Soraia Poloni pelos ensinamentos e auxílios.

Aos meus pais e minha família, por todo amor me dado, por me apoiarem sempre nas minhas escolhas e por torcerem por mim.

Ao meu namorado e amigos, por estarem comigo, me ajudar a suportar dias difíceis e sempre torcerem pelo meu sucesso.

## RESUMO

**Introdução:** Os erros inatos do metabolismo (EIM) são distúrbios genéticos raros causados por defeitos na atividade enzimática ou em transportadores, e que resultam em manifestações clínicas sistêmicas. A Homocistinúria Clássica é um erro inato do metabolismo, de herança autossômica recessiva, na qual há um déficit da enzima cistationina-beta-sintase (CBS) e elevação dos níveis plasmáticos da homocisteína e da metionina e diminuição dos níveis de cisteína. Estima-se que sua prevalência mundial seja de aproximadamente 0,38:100.000 indivíduos. As principais manifestações clínicas são *ectopia lentis*, osteoporose e tromboembolismo. Seu tratamento é realizado através da administração de piridoxina (vitamina B6) e de dieta restrita na ingestão de metionina e com suplementação de aminoácidos essenciais. O gene que codifica a cistationina-beta-sintase, *CBS*, localiza-se no cromossomo 21q22.3 e apresenta grande heterogeneidade alélica. De acordo com nosso grupo, a variante patogênica p.Trp323Ter (c.969G>A), inicialmente descrita na Arábia Saudita, foi previamente relatada em pacientes oriundos da região nordeste (Retirolândia – Bahia) com uma frequência alélica de 11,3%, sugerindo um possível efeito fundador da variante no Brasil.

**Objetivo Geral:** Caracterizar aspectos genéticos da Homocistinúria Clássica no Brasil.

**Objetivos Específicos:** 1) Investigar a possível origem única da variante p.Trp323Ter no gene *CBS* em pacientes brasileiros; 2) Determinar o genótipo de uma amostra de pacientes brasileiros com Homocistinúria Clássica.

**Métodos:** Para o cumprimento do objetivo específico 1: Foram incluídos 10 pacientes (sexo masculino: 6; média de idade 18,7 anos) com diagnóstico molecular de Homocistinúria Clássica e presença em homozigose da variante patogênica p.Trp323Ter, da região nordeste do Brasil. Os dados clínicos de diagnóstico, manifestações clínicas e antropométricos foram pesquisados em prontuários e fichas clínicas. Foram utilizadas amostras de DNA de sangue periférico, amplificadas por PCR e analisadas por sequenciamento de Sanger. Seis marcadores intragênicos (gene *CBS*) foram sequenciados pelo método de Sanger: c.844\_845ins68; c.1080C>T; g.13514G>A; g.13617A>G; g.13715C>T; g.13800G>A; Para o cumprimento do objetivo específico 2: Foi analisada uma coorte de 20 pacientes brasileiros com Homocistinúria Clássica (sexo feminino: 13) de três regiões brasileiras (Nordeste, Sudeste e Sul). Os dados de diagnóstico e manifestações clínicas foram pesquisados em prontuários e fichas clínicas. As amostras de DNA foram extraídas, amplificadas por PCR convencional para os éxons 1-16, purificadas e analisadas por sequenciamento de Sanger. Novas variantes foram classificadas de acordo com as diretrizes da *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) e avaliadas para patogenicidade através de mapas funcionais gerados por ensaio de complementação de alto rendimento em leveduras.

**Resultados:** Objetivo específico 1: a média de idade de início dos sintomas foi de 3,9 anos, e todos eram não responsivos à piridoxina. Dentre as manifestações clínicas, 10/10 pacientes apresentaram comprometimento ocular, 8/10 déficit cognitivo, 8/10 alterações ósseas, e 5/10 eventos tromboembólicos prévios. A mediana nos níveis de homocisteína total foi de 157,5  $\mu\text{mol/L}$  e de metionina foi de 199,9  $\mu\text{mol}$ . Apenas um haplótipo (H1: -CGACG) foi encontrado. Objetivo específico 2: a média de idade do início dos sintomas foi de 6,3 anos. Os indivíduos eram de 16 famílias (consanguinidade foi relatada em 2 famílias), de três regiões do Brasil, 70% foram classificados como não-responsivos à piridoxina. Dentre as manifestações clínicas, 18 (94,7%) pacientes apresentaram comprometimento ocular, 11 (57,8%) apresentaram algum sintoma relacionado ao SNC, 9 (47,3%) apresentaram alterações ósseas e 5 (26,3%) complicações vasculares. A mediana nos níveis de homocisteína total e de metionina para pacientes responsivos foi de 50  $\mu\text{mol/L}$  e 136  $\mu\text{mol}$ , e para pacientes não-responsivos foi de 204,8  $\mu\text{mol/L}$  e 393,8  $\mu\text{mol}$ . Foram encontradas 14 variantes diferentes, sendo três inéditas (p.Asp129Gly, p.Gly351Asp e p.Val533Gly). As variantes mais frequentes foram p.Trp323Ter (23,3%), p.Ile278Thr (13,3%), e p.Thr353Met (10%).

**Conclusão:** A variante p.Trp323Ter parece estar associada a um fenótipo clínico e bioquímico grave, e ser frequente no Brasil. A sua alta frequência e a presença de apenas um haplótipo é provavelmente resultado de um efeito fundador. A determinação do genótipo de novos pacientes e caracterização clínica, sugere um perfil clínico e genético muito particular da Homocistinúria Clássica no Brasil. Além disso, o estudo encontrou três novas variantes de importância para a doença (p.Asp129Gly, p.Gly351Asp e p.Val533Gly).

**Palavras-chave:** Homocistinúria Clássica; gene *CBS*; haplótipo; variante p.Trp323Ter.

## ABSTRACT

**Background:** Inborn errors of metabolism (IEM) are rare genetic disorders caused by defects in enzymatic activity or transporters, which result in systemic manifestations. Classical Homocystinuria is an inborn error of metabolism, of autosomal recessive inheritance, in which there is a deficit of the enzyme cystathionine-beta-synthase (CBS) and elevation of plasmatic levels of homocysteine and methionine and decrease of cysteine levels. Its worldwide prevalence is estimated to be approximately 0.38:100,000 individuals. The main clinical manifestations are subluxated lens, osteoporosis and thromboembolism. Its treatment is carried out through the administration of pyridoxine (vitamin B6) and a diet restricted in the intake of methionine and supplementation of essential amino acids. The gene that encodes cystathionine-beta-synthase, *CBS*, is located on chromosome 21 (21q22.3) and presents great allelic heterogeneity. According to our group, the pathogenic variant p.Trp323Ter (c.969G>A), initially described in Saudi Arabia, was previously reported in patients from the Northeast region (Retiroândia – Bahia) with an allelic frequency of 11.3%, suggesting a possible founder effect of variant in Brazil.

**General Objective:** To characterize genetic aspects of Classical Homocystinuria in Brazil.

**Specific Objectives:** 1) Investigate the possible unique origin of the p.Trp323Ter variant in the *CBS* gene in Brazilian patients; 2) Determine the genotype of a sample of Brazilian patients with Classical Homocystinuria.

**Methods:** To achieve specific objective 1: 10 patients were included (male sex: 6; mean age 18.7 years old) with a molecular diagnosis of Classical Homocystinuria and the homozygous presence of the pathogenic variant p.Trp323Ter, from the northeast region of Brazil. Clinical diagnostic data, clinical manifestations and anthropometric data were researched in medical records and clinical records. Peripheral blood DNA samples were used, amplified by PCR and analyzed by Sanger sequencing. Six intragenic markers (*CBS* gene) were sequenced by the Sanger method: c.844\_845ins68; c.1080C>T; g.13514G>A; g.13617A>G; g.13715C>T; g.13800G>A; To achieve specific objective 2: A cohort of 20 Brazilian patients with Classical Homocystinuria (female sex: 13) was analyzed, from three Brazilian regions (Northeast, Southeast and South). Diagnostic data and clinical manifestations were searched in medical records and clinical records. DNA samples were extracted, amplified by conventional PCR for exons 1-16, purified and analyzed by Sanger sequencing. Novel variants were classified according to the *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) guidelines and evaluated for pathogenicity through functional maps generated by high-throughput complementation assay in yeast.

**Results:** Specific objective 1: the average age at onset of symptoms was 3.9 years old, and all were non-responsive to pyridoxine. Among the clinical manifestations, 10/10 patients presented ocular involvement, 8/10 cognitive deficit, 8/10 bone changes, and 5/10 previous thromboembolic

events. The median total homocysteine levels were 157.5  $\mu\text{mol/L}$  and methionine levels were 199.9  $\mu\text{mol}$ . Only one haplotype (H1: -CGACG) was found. Specific objective 2: the average age at symptom onset was 6.3 years old. The individuals were from 16 families (consanguinity was reported in 2 families), from three regions of Brazil, 70% were classified as non-responsive to pyridoxine. Among the clinical manifestations, 18 (94.7%) patients presented ocular involvement, 11 (57.8%) presented symptom related to the CNS, 9 (47.3%) presented bone changes and 5 (26.3%) vascular complications. The median total homocysteine and methionine levels for responsive patients were 50  $\mu\text{mol/L}$  and 136  $\mu\text{mol}$ , and for non-responsive patients it was 204.8  $\mu\text{mol/L}$  and 393.8  $\mu\text{mol}$ . 14 different variants were found, three of which were novel (p.Asp129Gly, p.Gly351Asp and p.Val533Gly). The most frequent variants were p.Trp323Ter (23.3%), p.Ile278Thr (13.3%) and p.Thr353Met (10%).

**Conclusion:** The p.Trp323Ter variant appears to be associated with severe clinical and biochemical phenotype, and to be common in Brazil. Its high frequency and the presence of only one haplotype is probably the result of a founder effect. The determination of the genotype of novel patients and clinical characterization suggests a very particular clinical and genetic profile of Classical Homocystinuria in Brazil. Furthermore, the study found three novel variants of importance for the disease (p.Asp129Gly, p.Gly351Asp and p.Val533Gly).

**Key Words:** Classical Homocystinuria; *CBS* gene; haplotype; variant p.Trp323Ter.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Rotas do metabolismo da homocisteína .....	18
<b>Figura 2</b> - Localização da variante p.Trp323Ter e marcadores SNPs no gene <i>CBS</i> .....	24
<b>Figura 3</b> – Marco conceitual da Homocistinúria Clássica .....	26

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Bases de dados utilizadas e seus resultados de busca por termos .....	15
<b>Tabela 2</b> - Classificação dos EIM, segundo SSIEM.....	16

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACMG	<i>American College of Medical Genetics and Genomics</i> (Faculdade Americana de Genética e Genômica Médica)
CBS	enzima cistationina-beta-sintase
<i>CBS</i>	gene cistationina-beta-sintase
DBS	<i>Dried Blood Spots</i> (Gotas de Sangue Seco)
DL	desequilíbrio de ligação
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> (ácido desoxirribonucléico)
EIM	Erro Inato do Metabolismo
HC	Homocistinúria Clássica
Hcy	homocisteína
HGMD	<i>Human Gene Mutation Database</i> (Banco de Dados de Mutação Genética Humana)
ICIMD	<i>International Classification of Inborn Metabolic Disorders</i> (Classificação Internacional de Erros Inatos do Metabolismo)
kDa	unidade de medida kilodalton
mRNA	<i>messenger Ribonucleic Acid</i> (ácido ribonucleico mensageiro)
NBS	<i>Neonatal Screening</i> (Triagem Neonatal)
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (Polimorfismo de Nucleotídeo Único)
SSIEM	<i>Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism</i> (Sociedade para o Estudo de Erros Inatos do Metabolismo)
SUS	Sistema Único de Saúde
TMS	<i>Tandem Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de Massa em Tandem)

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações.....	15
2.2 Erros inatos do metabolismo.....	15
2.3 Homocistinúria Clássica. ....	17
2.3.1 Diagnóstico. ....	18
2.3.2 Manifestações clínicas.....	19
2.3.3 Tratamento.....	20
2.3.4 Triagem Neonatal.....	21
2.3.5 Aspectos genéticos.....	22
2.3.5.1 Localização e estrutura do gene <i>CBS</i> .....	22
2.3.5.2 Variantes patogênicas no gene <i>CBS</i> .....	23
2.3.6 Haplótipos e efeito fundador.....	24
3. MARCO CONCEITUAL.....	26
4. JUSTIFICATIVA.....	27
5. OBJETIVOS.....	28
5.1 Objetivo Geral.....	28
5.2 Objetivos Específicos.....	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	29
7. ARTIGO.....	35
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36
9. PERSPECTIVAS FUTURAS .....	37
10. ANEXOS.....	38
Anexo 1 – Ficha clínica.....	38
Anexo 2 – Certificado Apresentação Oral 40 Semana Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.....	40
Anexo 3 - Certificado Prêmio VIII Congresso da SBTEIM.....	41
Anexo 4 – Carta de aprovação do projeto 2019/0683.....	42
Anexo 5 – STROBE Artigo 1.....	43
Anexo 6 – STROBE Artigo 2.....	46

## 1. INTRODUÇÃO

Os erros inatos do metabolismo (EIM) são distúrbios genéticos raros causados por defeitos na atividade enzimática ou transportadora inadequada e resultam no acúmulo de substratos tóxicos ou na deficiência de metabólitos essenciais. Embora individualmente raros, os EIMs são coletivamente bastante comuns, com uma incidência estimada de 1 em 2500 recém-nascidos (Schuck *et al.*, 2020).

A Homocistinúria Clássica (OMIM #236200) é uma doença autossômica recessiva, que faz parte dos erros inatos do metabolismo. Apresenta uma deficiência da enzima cistationina-beta-sintase (CBS, EC 4.2.1.22) (realiza a conversão de homocisteína em cistationina) e resulta no aumento dos níveis de homocisteína (Hcy), metionina, S-adenosil homocisteína e redução de cistationina e cisteína nas células e no plasma (Donis *et al.*, 2018; Gus *et al.*, 2018).

A Homocistinúria Clássica causa alterações em diferentes sistemas do corpo. Os sintomas geralmente começam no primeiro ano de vida, mas podem ser assintomáticos por muitos anos. As principais manifestações clínicas são *ectopia lentis*, osteoporose, tromboembolismo e comprometimento cognitivo (Gus *et al.*, 2018).

Seu tratamento é realizado para diminuir as concentrações de homocisteína através da administração de piridoxina (vitamina B6). Caso não haja resultados, existem tratamentos através de betaína, suplementação alimentar com folato e/ou restrição dietética de metionina (Olivar *et al.*, 2012).

O diagnóstico da doença é realizado em conjunto com a avaliação das manifestações clínicas e exames laboratoriais. O padrão-ouro é a avaliação da atividade enzimática, porém o diagnóstico por análise de ácido desoxirribonucleico (DNA) é especialmente útil. Segundo o *Human Gene Mutation Database* (HGMD), já foram descritas 238 variantes patogênicas no gene cistationina-beta-sintase (CBS). Variantes patogênicas no gene CBS podem alterar a estabilidade ou atividade da enzima ou do ácido ribonucleico mensageiro (mRNA), a ligação do piridoxal fosfato ou do grupamento heme, ou prejudicar a regulação alostérica (Miles e Kraus, 2004; Ministério da Saúde, 2020).

Uma destas variantes de importância clínica é a p.Trp323Ter (c.969G>A; ENST00000398165.8\_7), de nucleotídeo único e patogênica. Havia sido relatada somente na Arábia Saudita, mas estudos brasileiros encontraram-na em uma frequência alélica significativa em pacientes da região nordeste do Brasil, o que levanta a hipótese de um efeito fundador da variante no país (Hoss *et al.*, 2020; Poloni *et al.*, 2018; Zaidi *et al.* 2012).

Efeito fundador é o processo de estabelecimento de uma nova população de indivíduos

derivados de uma população maior, que resulta na alteração das frequências gênicas através de deriva genética, endogamia ou isolados geográficos. Para o estudo do efeito fundador pode ser utilizado a técnica de construção de haplótipos, pois eles são informativos na identificação de pares de alelos herdados pelas progênes, sendo provenientes de um ancestral em comum e capturam com maior eficiência informações de evolução histórica (Arce, 2018; Major *et al.*, 2021; Marin, 2013; Ribeiro, 2019; Souza *et al.*, 2011).

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações

Esta revisão da literatura está focada em trazer informações sobre o diagnóstico da Homocistinúria Clássica (sintomas, genótipos e tratamento), assim como sobre as variantes no gene *CBS* e os eventos evolutivos. A estratégia de busca está localizada na Tabela 1 e envolveu as seguintes bases de dados: LILACS, SciELO, PubMed e banco de teses da CAPES, no período de 1971 a 2023. Foram realizadas buscas através dos termos “inborn errors of metabolism”, “homocystinuria”, “haplotype”, “*CBS* gene” e suas combinações “homocystinuria” AND “haplotype”; “homocystinuria” AND “*CBS* gene”.

A dissertação foi elaborada utilizando as fontes que melhor preencheram as necessidades metodológicas e teóricas. Além das estratégias de busca, referências bibliográficas específicas identificadas acerca da discussão do tema de pesquisa foram utilizadas e indicadas nas referências. Foram selecionados 66 artigos que se enquadraram no perfil desejado da pesquisa.

Foram encontrados 50267 artigos em duas ou mais bases de dados para o termo “inborn errors of metabolism”, 19 artigos para o termo “homocystinuria”, 137 artigos para o termo “haplotype”, 1251 artigos para o termo “*CBS* gene”, 14 artigos para a combinação “homocystinuria” AND “haplotype” e 93 artigos para a combinação “homocystinuria” AND “*CBS* gene”.

**Tabela 1: Bases de dados utilizadas e seus resultados de busca por termos**

	LILACS	PubMed	SciELO	CAPES
Inborn errors of metabolism	296	99065	243	1180414
Homocystinuria	34	1459	7	21
Haplotype	421	75024	248	219
<i>CBS</i> gene	13	3206	5	16182
Homocystinuria AND haplotype	-	14	-	1405171
Homocystinuria AND <i>CBS</i> gene	2	151	-	1405387

### 2.2 Erros inatos do metabolismo

Os erros inatos do metabolismo (EIM) são um grupo de doenças genéticas raras causadas por defeitos em diferentes tipos de proteínas, incluindo enzimas, proteínas estruturais ou transportadoras que podem afetar a via metabólica intermediária com manifestações multissistêmicas. Foi descrito pela primeira vez no início do século XX pelo médico inglês

Archibald E. Garrod, que identificou quatro doenças (alcaptonúria, pentosúria, cistinúria e albinismo) (Escribá *et al.*, 2021; Ramos *et al.*, 2022; Schuck *et al.*, 2020).

A incidência de erros inatos varia amplamente e estima-se 1:800-2500. Individualmente cada EIM é raro, mas juntos representam um número considerável de pessoas afetadas. Atualmente, mais de 1000 condições foram descritas, afetando as vias do metabolismo de lipídios, carboidratos e aminoácidos, entre outras (Burgt, 2023; Ramos *et al.*, 2022; Schuck *et al.*, 2020).

Podem ser divididos em três grupos com base o ponto de vista fisiopatológico: grupo de intoxicação (grupo 1), grupo de falha de energia (grupo 2) e distúrbio de armazenamento (grupo 3). No entanto, essa classificação simplificada não leva em conta a diversidade e a biologia celular (Balakrishnan, 2021; Falsaperla *et al.*, 2021). A *Society for the study of inborn errors of metabolism* (SSIEM - Sociedade para o Estudo de Erros Inatos do Metabolismo) classifica os EIMs em 15 grupos com base nas vias bioquímicas (Tabela 2) (SSIEM, 2012), mas existem outras classificações mais aprofundadas, como a *International Classification of Inborn Metabolic Disorders* (ICIMD) que classificou os EIMs em 24 categorias e 124 grupos de acordo com envolvimento da via e patomecanismos (Ferreira *et al.*, 2021).

**Tabela 2: Classificação dos EIM, segundo SSIEM**

<b>Classificação</b>
Doenças do metabolismo de aminoácidos e peptídeos
Doenças do metabolismo de carboidratos
Doenças do metabolismo de ácidos graxos e corpos cetônicos
Doenças do metabolismo energético
Doenças do metabolismo de purinas, pirimidinas e nucleotídeos
Doenças do metabolismo de esteroides
Doenças do metabolismo de porfirinas e grupamento heme
Doenças do metabolismo de lipídeos e lipoproteínas
Doenças congênitas de glicosilação e outras desordens de modificação proteica
Doenças lisossomais
Doenças peroxissomais
Doenças do metabolismo de neurotransmissores
Doenças do metabolismo de vitaminas e cofatores (não proteicos)
Doenças do metabolismo de metais e elementos traços
Doenças e variantes do metabolismo de xenobióticos

Frequentemente, os EIMs se apresentam durante a primeira infância, mas alguns podem se manifestar durante a adolescência ou idade adulta, sem sintomas precedentes durante a infância. A maioria não apresenta características clínicas específicas e podem acometer qualquer órgão/tecido do corpo (Balakrishnan, 2021; Burgt, 2023).

O diagnóstico pode ser feito por meio de uma variedade de ferramentas, desde exames

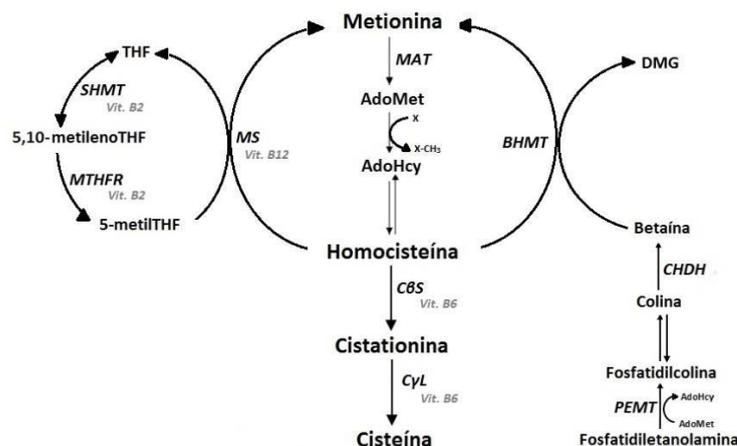
laboratoriais mais simples até o sequenciamento genético. Alguns EIMs podem ser diagnosticados em uma fase pré-sintomática através da triagem neonatal (NBS, do inglês *Neonatal Screening*), que permite um diagnóstico rápido e o início imediato de uma terapia específica. Altos índices de suspeita entre os médicos são essenciais para o diagnóstico, que devem considerar investigações diagnósticas imediatas, aconselhamento genético e risco de recorrência (Falsaperla *et al.*, 2021; Ford *et al.*, 2022).

As terapias disponíveis para o tratamento dos EIM incluem a regulação da ingestão de substrato por meio de dietas especiais, administração de cofatores, terapia de reposição enzimática, terapia de redução de substrato e terapia gênica. E embora várias abordagens terapêuticas tenham se mostrado eficazes no tratamento de vários erros inatos, ainda não há cura para a maioria deles, enfatizando a necessidade crítica de desenvolver estratégias modificadoras da doença que possam melhorar ou interromper a progressão da doença (Chiesa e Bernardo, 2022; Escribá *et al.*, 2021; Turner *et al.*, 2022).

### **2.3 Homocistúria Clássica**

A Homocistinúria Clássica é uma doença genética de herança autossômica recessiva, onde há um erro congênito do metabolismo. Apresenta um déficit da enzima cistationina-beta-sintase, o que acarreta no acúmulo de metionina e homocisteína e diminuição dos níveis de cisteína no plasma, urina e tecidos (Ministério da Saúde, 2020; Olivar *et al.*, 2012).

A enzima cistationina-beta-sintase é o catalisador da reação pela via de transulfuração, onde a homocisteína, ligada à serina, é convertida, irreversivelmente, à cistationina. A cistationina-beta-sintase (CBS) é a única enzima no corpo humano capaz de degradar irreversivelmente a homocisteína e depende do cofator piridoxal fosfato, forma ativa da vitamina B<sub>6</sub>. Os outros dois cofatores envolvidos na remetilação da metionina incluem a vitamina B<sub>12</sub> e o ácido fólico. Como resultado da deficiência enzimática, na homocistinúria há aumento sérico de homocisteína, metionina, S-adenosil homocisteína e redução da concentração sérica de cistationina e cisteína, alterando várias vias metabólicas pela indução do estresse oxidativo e uma incorporação aumentada da homocisteína nos diferentes sistemas do organismo (Bonnot *et al.*, 2014; Cornejo *et al.*, 2015; Fowler, 1997; Marcão *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2022). O metabolismo da homocisteína é sumarizado na figura 1.



**Figura 1. Rotas do metabolismo da homocisteína.** MAT: ATP-L-metionina S-adenosiltransferase; MS: metionina sintase; THF: tetrahidrofolato; MTHFR: 5,10 metilenotetrahidrofolato redutase; SHMT: serina hidroximetil transferase; BHMT: betaína:homocisteína metiltransferase; CBS: cistationina  $\beta$ -sintase; DMG: dimetilglicina; CHDH: colina desidrogenase; PEMT: fosfatidiletanolamina N-metiltransferase (Poloni *et al.*, 2015).

Atualmente, se conhece aproximadamente 238 variantes patogênicas relacionadas ao gene *CBS*. As duas variantes patogênicas mais frequentes são p.Ile278Thr, que está associada à resposta ao tratamento com B6, e p.Gly307Ser, que não responde à B6 (Hoss *et al.*, 2020; Olivar *et al.*, 2012; Vannucchi e Melo, 2009).

Estima-se que a prevalência mundial da doença seja de aproximadamente 0,38:100.000 indivíduos. Na população europeia, a prevalência da doença é dita em 0,72:100.000, na população africana 0,20:10.000 e na população asiática 0,02:100.000. Apenas em países como o Catar, devido a alta taxa de consanguinidade, que foi relatada uma frequência de 55:100.000, (Hoss *et al.*, 2020; Morris *et al.*, 2017; Poloni *et al.*, 2018). No Brasil, o estudo de Hoss *et al.* (2020) estimou uma prevalência de 9,7:100.000 indivíduos com Homocistinúria Clássica, através da análise de frequências de alelos patogênicos na base de dados gnomAD, destacando a alta frequência da doença no estado da Bahia.

### 2.3.1 Diagnóstico

A presença dos sinais clínicos pode levar a suspeita da Homocistinúria Clássica (HC), porém o diagnóstico definitivo é realizado através de exames laboratoriais. O diagnóstico de HC pode ser feito pela determinação de aminoácidos plasmáticos em jejum, pela dosagem da atividade da enzima deficiente (padrão-ouro) ou pela detecção de variantes patogênicas no gene *CBS*.

Quando um paciente é diagnosticado, deve ser oferecido rastreamento de outros membros da família com medida de homocisteína total e, se necessário, análise de DNA (Ministério da Saúde, 2020; Pico e Bermúdez, 2006).

### 2.3.2 Manifestações clínicas

A Homocistinúria Clássica é uma doença multissistêmica de curso lento e progressivo, em que os recém-nascidos podem não demonstrar manifestações clínicas. Alguns pacientes têm uma doença grave com início na infância, enquanto outros são assintomáticos na idade adulta. As principais complicações clínicas da doença afetam os sistemas ocular, ósseo, nervoso central e vascular (Carvalho *et al.*, 2021; Donis *et al.*, 2018; Ferreira *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2022). A seguir são descritas as principais manifestações de cada sistema.

**Sistema Ocular:** o achado mais consistente é a *ectopia lentis* (luxação do cristalino). Pode ser notada nos estágios iniciais da vida, com apenas 4 semanas de vida e em pacientes não tratados, onde o aparecimento geralmente ocorre na infância. Outras complicações são miopia, glaucoma, descolamento e degeneração da retina, catarata e atrofia óptica (Bashir *et al.*, 2015; Morris *et al.*, 2017; Mudd *et al.*, 1985).

**Sistema Ósseo:** a osteoporose é a complicação mais comum na coluna vertebral e nos ossos longos. Outras manifestações são escoliose, vértebras bicôncavas, espículas metafisárias. Além da dolicostenomelia e aracnodactilia (alongamento dos ossos longos), associada a aparência “marfanóide” (Marcão *et al.*, 2016; Ministério da Saúde, 2020; Morris *et al.*, 2017).

**Sistema Vascular:** o tromboembolismo é a maior causa de mortalidade em pacientes homocistinúricos. A trombose venosa é mais comum que a arterial, mas pode ocorrer em qualquer vaso e em qualquer idade. A lesão vascular inclui crescimento da musculatura lisa vascular, maior adesividade plaquetária e ativação direta da cascata da coagulação, podendo resultar em uma necrose ou apoptose celular (Ministério da Saúde, 2020; Morris *et al.*, 2017; Vannucchi e Melo, 2009).

**Sistema Nervoso Central:** a anormalidade mais frequente é o atraso no desenvolvimento intelectual, presente durante o primeiro ou o segundo ano de vida. Outros distúrbios neurológicos incluem doenças mentais, como depressão e transtorno obsessivo compulsivo, comprometimento cognitivo, acidentes vasculares cerebrais. Pacientes que não respondem a piridoxina podem apresentar problemas comportamentais e convulsões (Bashir *et al.*, 2015; Morris *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2003).

### 2.3.3 Tratamento

O tratamento tem como objetivo controlar ou eliminar as anormalidades bioquímicas e tratar as complicações), diminuindo as concentrações de homocisteína total no plasma e mantendo as concentrações normais de metionina e outros aminoácidos essenciais. Os esquemas de administração variam conforme o tipo clínico e as recomendações sugeridas devem ser ajustadas à resposta terapêutica dos pacientes (Carvalho *et al.*, 2021; Olivar *et al.*, 2012).

Para aqueles indivíduos que são responsivos à piridoxina, o tratamento consiste na administração de piridoxina (vitamina B6) em combinação com o ácido fólico. Os pacientes parcialmente responsivos recebem piridoxina em combinação com o ácido fólico, dieta com restrição de metionina e fórmula metabólica isenta de metionina. E para pacientes não-responsivos à piridoxina, o tratamento é baseado em dieta isenta de proteínas de alto valor biológico e de alimentos com alto teor de metionina e utilização de fórmula metabólica isenta de metionina. Ácido fólico e vitamina B12 devem ser prescritos quando houver deficiência (Ministério da Saúde, 2020; Morris *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2022).

Além do tratamento medicamentoso, o tratamento para diminuir as manifestações clínicas requer cuidados por equipe multiprofissional e a melhor abordagem ou combinação para cada paciente dependerá da natureza do defeito e de fatores sociais. A prevenção das anormalidades clínicas graves associadas a esta doença requer um tratamento ao longo da vida e um impacto considerável no resultado em pacientes com tratamento adequado (Andria *et al.*, 2012; Ministério da Saúde, 2020; Olivar *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2001).

**Piridoxina:** o tratamento recomendado para pacientes responsivos é o uso de piridoxina, com doses de 10 mg/Kg/dia (evitando doses acima de 500 mg/dia). Ela atua aumentando a atividade residual da enzima CBS, o que ocasiona redução da concentração de homocisteína e metionina e aumento de cisteína. Aproximadamente 50% dos pacientes com HC apresentam algum nível de responsividade à vitamina B<sub>6</sub> (Donis *et al.*, 2018; Ministério da Saúde, 2020; Mudd *et al.*, 1985).

**Betaína:** o uso de betaína deve ser considerado como um tratamento adjuvante em pacientes que não conseguem alcançar os níveis alvo de homocisteína (Hcy) por outros meios e que tem dificuldade em aderir as restrições dietéticas e obter um bom controle metabólico, normalmente com uma dose de 150 mg/Kg/dia (dose máxima de 6-9 g para adultos). A betaína converte o

excesso de homocisteína em metionina, diminuindo as concentrações plasmáticas de homocisteína total e livre, mas aumentando as concentrações plasmáticas de metionina (Andria *et al.*, 2012; Clarke, 2005; Donis *et al.*, 2018; Morris *et al.*, 2017).

**Folato e vitamina B12:** o folato e a vitamina B12 otimizam a conversão da homocisteína em metionina pela metionina sintase, ajudando a diminuir a concentração plasmática da homocisteína. Recomenda-se os suplementos de folato e vitamina B12 quando houver deficiência, independente da responsividade à piridoxina, em baixas doses e monitorar seus níveis. O ácido fólico deve ser utilizado na dose de 5 mg/dia e a vitamina B12 na dose de 1000 mcg 1x/mês ou a critério do médico assistente (Ministério da Saúde, 2020; Morris *et al.*, 2017; Rao *et al.*, 2008).

**Restrição dietética de metionina:** Em pacientes onde o tratamento com piridoxina não funciona, os níveis de homocisteína são controlados por uma dieta com pouca proteína natural, com suplementos de aminoácidos sem metionina (“metionina free”), que reduz a produção de homocisteína pela via de transsulfuração. A dieta pode ser usada como único tratamento com a administração de piridoxina e/ou betaína e deve ser mantida durante toda a vida. A fórmula metabólica isenta de metionina é composta por aminoácidos essenciais e não essenciais, enriquecida de vitaminas e minerais, e é utilizado na reposição dos aminoácidos essenciais que são retirados da dieta instituída ao paciente (exceto metionina). A quantidade de fórmula a ser utilizada vai variar de acordo com a quantidade de aminoácidos da fórmula, a idade, o peso do paciente e sua dieta (Andria *et al.*, 2012; Bashir *et al.*, 2015; Morris *et al.*, 2017).

Nos últimos anos, foram feitos avanços no desenvolvimento de novas estratégias para tratar a Homocistinúria Clássica. Entre elas, estão a terapia de reposição enzimática. A terapia de reposição enzimática controla temporariamente os níveis de homocisteína dos pacientes, através da substituição de uma enzima recombinante que assume a função da cistationina-beta-sintase. Há estudos avançados sobre segurança, tolerância, aspectos farmacológicos, farmacodinâmica e análise do resultado clínico de medicamentos como pegtibatina, pegtarviliase, CDX-6512, entre outros (Bittmann *et al.*, 2023; Kumar *et al.*, 2016; Majtan *et al.*, 2023).

#### 2.3.4 Triagem neonatal

A triagem neonatal tem como objetivo detectar os distúrbios metabólicos hereditários antes que os sintomas das doenças apareçam. É realizada a análise de gotas de sangue seco (DBS, do inglês *Dried Blood Spots*) de sangue capilar ou venoso para medir os níveis de aminoácidos

através da espectrometria de massa em tandem (TMS) (AlAnzi *et al.*, 2021; Morris *et al.*, 2017).

Muitos distúrbios metabólicos são detectados e bebês e crianças identificadas e com tratamento precoce crescem e desenvolvem-se normalmente. A triagem neonatal para Homocistinúria pode ser realizada detectando níveis de metionina como alvo primário e homocisteína como alvo secundário (Asamoah *et al.*, 2021; Morris *et al.*, 2017).

Nos Estados Unidos, desde 2006, o *American College of Medical Genetics* (ACMG - Faculdade Americana de Genética e Genômica Médica, Richards *et al.*, 2015) recomendou que todos os programas de triagem neonatal incluísse a HC em seu painel (Levy, 2021). No Kuwait, em outubro de 2014, o Ministério da Saúde do Kuwait, ampliou o rastreamento neonatal, incluindo a Homocistinúria e em maio de 2019, começou a cobrir 100% dos neonatos (Alsharhan *et al.*, 2021).

No Brasil, a triagem neonatal oferecida pelo Sistema Único de Saúde (SUS) conta com a detecção de sete doenças (Fenilcetonúria, Fibrose Cística, Hipotireoidismo Congênito, Hiperplasia Adrenal Congênita, Doenças Falciformes, Deficiência de Biotinidase e Toxoplasmose Congênita). Atualmente, a Homocistinúria não faz parte deste perfil, somente em teste de triagens particulares, mas uma nova lei (nº 14.154 / 26.05.2021) foi aprovada para a inclusão da doença (Mallmann *et al.*, 2020; Ministério da Saúde, 2023; Neto *et al.*, 2023).

### **2.3.5 Aspectos genéticos**

#### **2.3.5.1 Localização e estrutura do gene CBS**

A CBS humana é uma proteína composta por quatro subunidades idênticas de 63 kDa (kilodalton) e está localizada no cromossomo 21, na posição 21q22.3. Cada subunidade se liga a três grupos prostéticos: ao piridoxal fosfato, em seu domínio catalítico; à AdoMet, um ativador alostérico; e a um grupamento heme, necessário para ativação completa da enzima (Cornejo *et al.*, 2015; Miles e Kraus, 2004; Silva *et al.*, 2022).

A região 5'-UTR do mRNA da CBS humana é formada por um de cinco éxons alternativos, denominados -1a a -1e; mais o éxon 0, invariavelmente presente. A região 3'-UTR é composta por parte do éxon 16 e pelo éxon 17. O éxon 15 codifica 14 aminoácidos e sofre *splicing* alternativo, sendo incorporado em poucas moléculas humanas maduras de mRNA. Em estudos de expressão, demonstrou-se que a presença ou ausência do éxon 15 não altera a atividade catalítica da CBS (Kraus *et al.*, 1998; Bashir *et al.*, 2015).

### 2.3.5.2 Variantes patogênicas no gene *CBS*

Segundo o Human Gene Mutation Database, já foram descritas 238 variantes patogênicas no gene *CBS*, que podem alterar a estabilidade ou atividade da enzima ou do mRNA, a ligação do piridoxal fosfato ou do grupamento heme, ou prejudicar a regulação alostérica. A maioria dessas variantes patogênicas são de troca de sentido (n=142, 66,3%), mas podem ser sem sentido, variantes patogênicas de splicing, deleções e variantes patogênicas de inserção. No mundo, as variantes mais comuns em 925 alelos no gene *CBS* são: p.Ile278Thr, p.Thr191Met, p.Gly307Ser, p.Arg336Cys e c.844ins68. Juntas, correspondem a 51% dos alelos mutados (Bashir *et al.*, 2015; Hoss *et al.*, 2020; Ministério da Saúde, 2020).

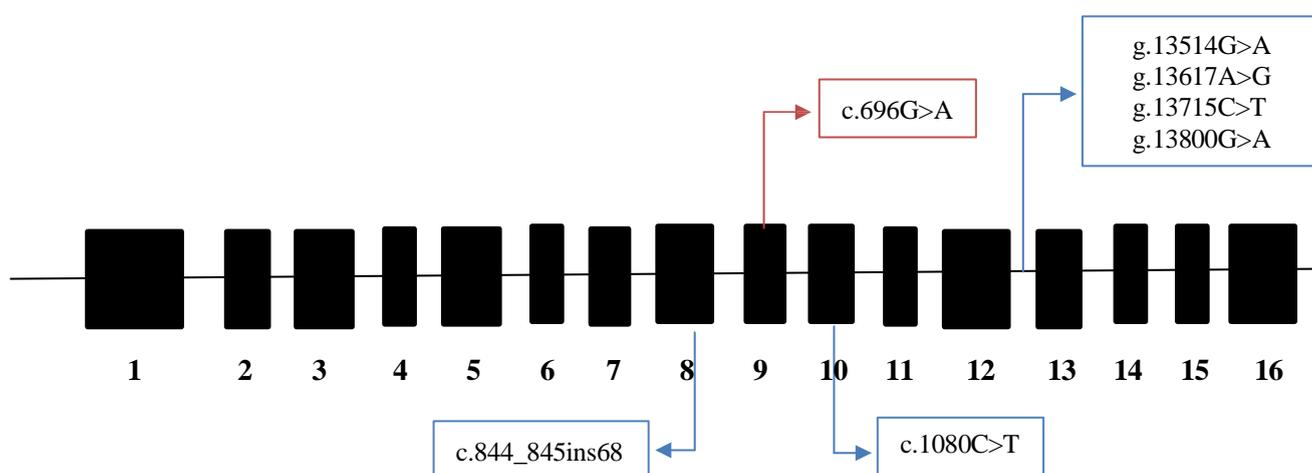
O perfil genético da população brasileira possui grande heterogeneidade alélica, com grande número de variantes privadas, o que contribui para possíveis efeitos fundadores da doença no país. Assim como já foi observado em outras populações, como judeus e o gene *BRCA1* e a própria população brasileira de Monte Santo na doença Mucopolissacaridose tipo VI (Poloni *et al.*, 2016; Richau, 2021; Walter *et al.*, 2022).

No Brasil, o perfil genético e clínico de pacientes com Homocistinúria Clássica é pouco conhecido. Desde 2010, o grupo de pesquisa em EIM (erros inatos do metabolismo) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre vem realizando um trabalho multicêntrico de abrangência nacional para elucidar aspectos de prevalência e perfil genético da Homocistinúria Clássica no país. Um dos trabalhos já publicado descreveu dados clínicos e bioquímicos ao diagnóstico e em tratamento de 72 pacientes brasileiros com Homocistinúria Clássica, a maior coorte já descrita no país (Poloni *et al.*, 2018).

Outro estudo já publicado descreveu as variantes patogênicas de 35 pacientes provenientes de 4 regiões do país. Neste estudo, o sequenciamento do gene *CBS* revelou 21 variantes patogênicas diferentes, sendo as mais prevalentes a p.Ile278Thr, p.Thr191Met, r.[737\_828del92, 828\_931ins104] e p.Trp323Ter, além de oito nunca descritas na literatura. Destas variantes patogênicas frequentes, duas chamaram a atenção: a r.[737\_828del92, 828\_931ins104], descrita previamente em apenas um paciente com Homocistinúria no mundo (República Tcheca), e a p.Trp323Ter, pois trata-se de uma variante patogênica comum na Arábia Saudita e que em nosso estudo foi altamente prevalente na Bahia (Poloni *et al.*, 2018).

A variante p.Trp323Ter (c.969G>A) foi relatada em pacientes da Arábia Saudita (77% dos

alelos) e resulta em perda completa da atividade da enzima e está associada a fenótipos graves. No estudo brasileiro, a variante patogênica teve uma frequência alélica de 11,3%, todos os pacientes com a variante eram homozigotos e não responsivos à piridoxina e as famílias eram oriundas da região nordeste do Brasil (Hoss *et al.*, 2020; Poloni *et al.*, 2018; Zaidi *et al.*, 2012). Esses dados sugerem a ocorrência de um possível efeito fundador na população brasileira. A figura 2 ilustra a localização da variante p.Trp323Ter e de marcadores de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP, do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*) no gene *CBS*.



**Figura 2. Localização da variante p.Trp323Ter e marcadores SNPs no gene *CBS*.** Mapa do gene *CBS* mostrando a localização da variante p.Trp323Ter (em vermelho) e de marcadores SNPs (em azul). Os éxons são representados por caixas pretas sólidas e os íntrons pela linha preta horizontal.

### 2.3.6 Haplótipos e efeito fundador

O material genético é herdado em pedaços, não como nucleotídeos únicos, o que implica que cada nucleotídeo será passado para a próxima geração cercado por um grupo específico de variantes no segmento de DNA herdado. A recombinação é um evento amplamente aleatório (embora existam locais específicos, que são mais propensos à recombinação), o que significa que sua taxa pode ser calculada ao longo do genoma para estimar uma probabilidade relativamente constante em qualquer local (desequilíbrio de ligação) (Abondio *et al.*, 2022).

Haplótipos são regiões genômicas de polimorfismos adjacentes com poucas evidências de recombinação histórica compostas por marcadores que apresentam alto desequilíbrio de ligação (DL) entre si. O sinal contido nos dados do haplótipo captura as informações de DL entre os locais vizinhos ao longo do genoma. O desequilíbrio de ligação refere-se à associação não aleatória entre alelos de loci adjacentes e permite que análises de evolução do gene sejam realizadas. Ao contabilizar a estrutura do haplótipo, deve ser possível fazer inferências mais precisas e eficientes

sobre a origem de variantes. Os haplótipos carregam informações não apenas da variante patogênica, mas também da recombinação, o que pode ajudar a revelar eventos passados (Arce, 2018; Leitwein *et al.*, 2020; Shipilina *et al.*, 2022).

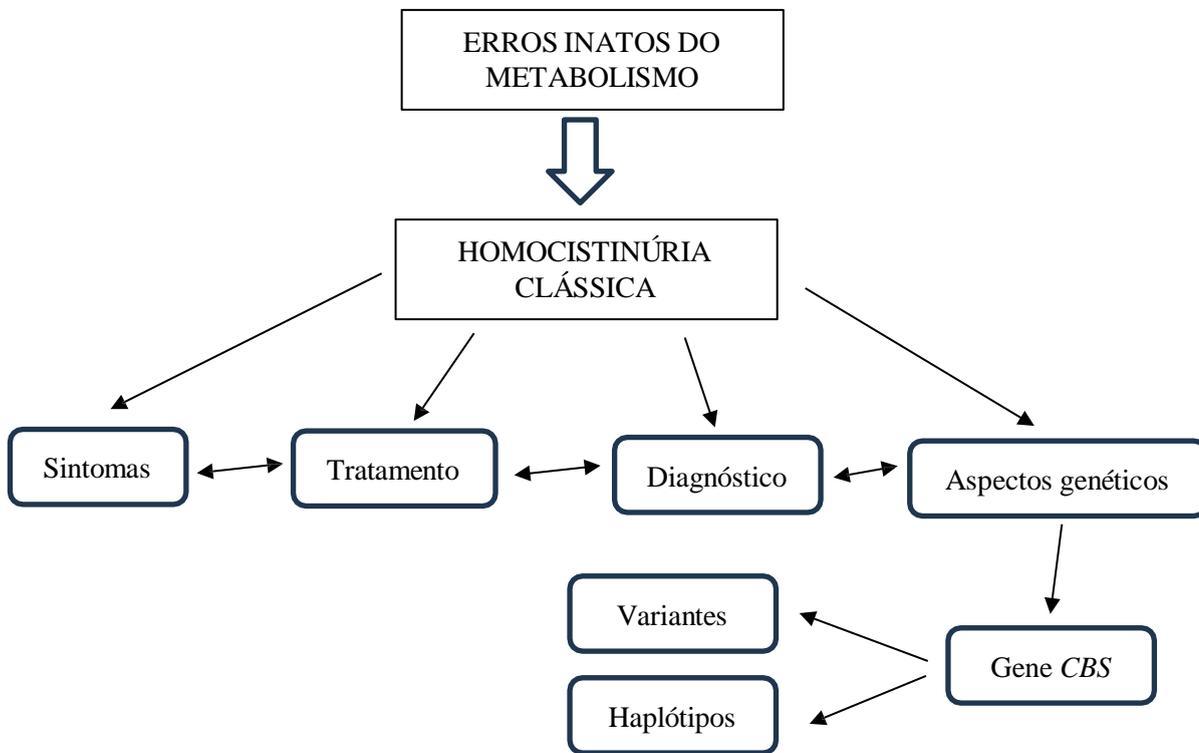
A identificação de variantes patogênicas através de haplótipos possui a habilidade de capturar interações epistáticas entre SNPs em um loco, capturar com maior eficiência informações de evolução histórica e fornecer maior poder de detecção devido sua composição ser uma sequência de marcadores em um loco. Além disso, a informação de haplótipos tem um papel crucial em diversos contextos, incluindo análise de ligação, estudos de associação, genética populacional e genética clínica (Arce, 2018; Snyder *et al.*, 2015).

Os haplótipos podem estar associados a doenças ou características em uma população. As informações de haplótipos são fundamentais para a genética médica e populacional, uma vez que possui relevância biológica e beneficiam o diagnóstico de doenças genéticas, o que é crucial para a tomada de decisão no que diz respeito à intervenção apropriada (Garg, 2021; Papachristou e Biswas, 2020).

Além disso, os haplótipos são mais informativos na identificação de pares de alelos herdados pelas progênes, sendo provenientes de um ancestral em comum e capturam com maior eficiência informações de evolução histórica e fornecem maior poder de detecção devido sua composição ser uma sequência de marcadores em um loco. As pesquisas em genética de populações podem elucidar várias questões relativas à estruturação de populações selvagens ou cultivadas de diversas espécies, tais como origem, movimentos migratórios, tamanhos da população, seleção natural e eventos históricos (Arce, 2018; Marin, 2013; Ribeiro, 2019).

A análise dos haplótipos pode trazer dados importantes sobre efeito fundador. O efeito fundador é um fenômeno que refere-se à migração de um pequeno grupo de pessoas de uma população maior para se estabelecer em outro ambiente, trazendo consigo uma parte da informação genética que existia na população original, ou quando uma nova população é formada a partir de uma amostra não representativa da população inicial. Isto pode reduzir a quantidade de variabilidade genética que existe na nova população e, como resultado, certos fenótipos ou certos genes podem ser destacado ou atenuada nesta população (Cajal *et al.*, 2016; Hernández *et al.*, 2021; Scalco, 2015).

### 3. MARCO CONCEITUAL



**Figura 3: Marco conceitual da Homocistinúria Clássica.**

#### 4. JUSTIFICATIVA

A Homocistinúria Clássica é um erro inato do metabolismo, que leva ao acúmulo de homocisteína e metionina e diminuição de cisteína. Concentrações elevadas de homocisteína prejudicam sistemas importantes do corpo, alterando seu funcionamento e causando complicações sérias. A identificação da doença em seu estágio inicial permite um melhor resultado terapêutico e prognóstico dos casos, sendo inquestionavelmente benéfico para o paciente.

A doença é de difícil detecção clínica, e pode ser assintomática até a idade adulta ou gravíssima ainda na infância. Entender as alterações genéticas da doença pode auxiliar no melhor manejo clínico e tratamento adequado, visto que há uma boa relação genótipo-fenótipo nesses pacientes, além de permitir o aconselhamento genético.

A Homocistinúria Clássica é uma linha de pesquisa do grupo de pesquisa em Erros Inatos do Metabolismo do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e alguns trabalhos já foram publicados. Dar continuidade e realizar novos estudos sobre a doença é de importância nacional, já que os trabalhos são multicêntricos.

Um destes estudos (Poloni *et al.*, 2018), descreveu as variantes patogênicas de 35 pacientes brasileiros e a variante p.Trp323Ter chamou a atenção devido a alta prevalência em pacientes do estado da Bahia, estimulando a pesquisa sobre a origem da variante no Brasil.

A investigação de haplótipos permite a identificação de variantes em genes associados a doenças e o conhecimento da história demográfica de populações através de sua análise. É uma ferramenta importante para entender a origem da variante p.Trp323Ter causadora da Homocistinúria no nordeste do Brasil, onde se acredita que a alta frequência seja decorrente por um efeito fundador.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo Geral**

- 1.** Caracterizar aspectos genéticos da Homocistinúria Clássica no Brasil.

### **5.2 Objetivos Específicos**

- a) Investigar a possível origem única da variante frequente p.Trp323Ter no gene *CBS* em pacientes brasileiros;
- b) Determinar o genótipo de uma amostra de pacientes brasileiros com Homocistinúria Clássica.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABONDIO, P. et al. Inferring Signatures of Positive Selection in Whole-Genome Sequencing Data: An Overview of Haplotype-Based Methods. **Genes**, v. 13, n. 5, p. 926, May 2022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9141518/>>.
2. ANDRIA, G. et al. Disorders of Sulfur Amino Acid Metabolism. **Inborn metabolic diseases: Diagnosis and treatment**, ed. 4, p. 311-321, 2012. Disponível em: <[https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-15720-2\\_21](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-15720-2_21)>.
3. ALANZI, T. et al. The first Saudi baby with classic homocystinuria diagnosed by universal newborn screening. **Saudi Medical Journal**, v. 42, n. 2, p. 219-222, 2021. Disponível em: <<https://smj.org.sa/content/42/2/219>>.
4. ARCE, C. D. S. Comparação de Métodos de Construção de Haplótipos em estudo de Associação Genômica ampla com dados simulados. Dissertação (mestrado). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. São Paulo, 2018.
5. ASAMOAHA, A. et al. Diagnosis of Classic Homocystinuria in Two Boys Presenting with Acute Cerebral Venous Thrombosis and Neurologic Dysfunction after Normal Newborn Screening. **International Journal of Neonatal Screening**, v. 7, n. 3, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8395908/>>.
6. BALAKRISHNAN, U. Inborn Errors of Metabolism-Approach to Diagnosis and Management in Neonates. **Indian Journal Pediatric**, v. 88, p. 679-689. June 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34097229/>>.
7. BASHIR, H. E. et al. Resultados neurodesenvolvimentais e cognitivos da homocistinúria clássica: experiência do Catar. **JIMD Reports**, v. 21, pg 89-95, fev 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4470953/>>.
8. BITTMANN, S. et al. Current and Novel Therapeutical Approaches of Classical Homocystinuria in Childhood With Special Focus on Enzyme Replacement Therapy, Liver-Directed Therapy and Gene Therapy. **Journal of Clinical Medicine Research**, v. 15, n. 2, p. 76-83, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9990725/>>.
9. BONNOT, O. et al. Implicações diagnosticas e terapêuticas da psicose secundária a distúrbios metabólicos tratáveis em adultos: uma revisão sistemática. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 9, n. 65, abr 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4043981/>>.
10. BURGT, N. et al. Psychiatric manifestations of inborn errors of metabolism: A systematic review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 144, jan 2023. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763422004596?via%3Dihub>>

11. CAJAL, A. R. et al. Mutación fundadora en síndrome de Lynch tipo II. **Medicina**, v. 76, n. 3, p. 180-182, 2016. Disponível em: <[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0025-76802016000300009](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802016000300009)>.
12. CARVALHO, F. G. et al. Suspeita de homocistinúria clássica numa adolescente nascida antes do rastreio neonatal precoce. **Nascer e Crescer - Birth and Growth Medical Journal**, v. 30, n. 1, p. 44-47, 2021. Disponível em: <<https://revistas.rcaap.pt/nascercrescer/article/view/18753/17803>>.
13. CHIESA, R.; BERNARDO, M.E. Haematopoietic stem cell gene therapy in inborn errors of metabolism. **British Journal of Haematology**, v. 198, n. 2, p. 227-243, julho 2022. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bjh.18179>>.
14. CLARKE, J. T. R. **A Clinical Guide to Inherited Metabolic Diseases**, ed. 3, cap. 10. Cambridge, 2005.
15. CORNEJO, M. R. Et al. Homocystinuria, a metabolic disease of late diagnosis in Peru. **Revista neuropsiquiatria**, Lima, v. 78, n. 4, p. 240-247, out 2015. Disponível em: <[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-85972015000400007&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-85972015000400007&lng=es&nrm=iso)>.
16. DONIS, K.C. et al. Alterações Psiquiátricas e Qualidade de Vida em Pacientes com Homocistinúria Clássica. 2018
17. ESCRIBÁ, R. et al. Inborn errors of metabolismo: Lessons from iPSC models. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v. 22, n. 4, p. 1189-1200, jul 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8724155/>>.
18. FALSAPERLA, R. et al. Neonatal seizures as anset of Inborn Errors of Metabolism (IEMs): from diagnosis to treatment. A systematic review. **Metabolic Brain Disease**, v. 36, n. 8, p. 2195-2203, agosto 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8580891/>>.
19. FERREIRA, C. R. et al. An international classification of inherited metabolic disorders (ICIMD). **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 44, n. 1, p. 164-177, jan 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jimd.12348>>.
20. FERREIRA, F. et al. Homocistinúria clássica: doença muito rara em Portugal com risco trombótico associado. **Nascer e Crescer**, Porto, v. 25, supl. 1, p. 21, dez. 2016. Disponível em <[http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0872-07542016000400022&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0872-07542016000400022&lng=pt&nrm=iso)>.
21. FORD, L. et al. Chapter Three - Clinical metabolomics for inborn errors of metabolism. **Advances in Clinical Chemistry**, v. 107, p. 79-138, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0065242321000755?via%3Dihub>>.
22. FOWLER, B. Disorders of homocysteine metabolism. **Journal of Inherited Metabolic**

- Disease**, v. 20, p. 270-285, 1997. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9211199/>>.
23. GARG, S. Computational methods for chromosome-scale haplotype reconstruction. **Genome Biology**, v. 22, april 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8040228/>>.
24. GUS, P. I. et al. Homocistinúria clássica e ceratocone: um relato de caso. **Arq. Bras. Oftalmol.**, São Paulo, v. 81, n. 4, p. 336-338, Ago, 2018. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-27492018000400336&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27492018000400336&lng=en&nrm=iso)>.
25. HERNÁNDEZ, D. T. et al. La endogamia como causa de consanguinidad y su asociación con anomalías congénitas. **Medicina y Laboratorio**, v. 25, n. 1, 2021. Disponível em: <<https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/10/1292646/consanguinidad.pdf>>
26. HOSS, G.R.W. et al. Classical homocystinuria: A common inborn error of metabolism? An epidemiological study based on genetic databases. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**, v. 8, n. 6. Junho 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mgg3.1214>>
27. KRAUS, J. P. et al. The Human Cystathionine  $\beta$ -Synthase (CBS) Gene: Complete Sequence, Alternative Splicing, and Polymorphisms. **Genomics**, v. 52, p. 312–324, 1998. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9790750/>>.
28. KUMAR, T. et al. Homocystinuria: Therapeutic approach. **Clinica Chimica Acta**, v. 458, p. 55-62, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898116301267?via%3Dihub>>
29. LEITWEIN, M. et al. Using Haplotype Information for Conservation Genomics. **Trends in Ecology & Evolution**, V. 35, n. 3, p. 245-258. March 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169534719303040?via%3Dihub>>
30. LEVY, H. L. Early Development of Newborn Screening for HCU and Current Challenges. **International Journal of Neonatal Screening**, v. 7, n. 4, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8628950/>>
31. MAJTAN, T. et al. Recent therapeutic approaches to cystathionine beta-synthase-deficient homocystinuria. **British Journal of Pharmacology**, v. 180, n. 3, p. 264-278, 2023. Disponível em: <<https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.15991>>.
32. MAJOR, T. et al. Founder Effects in Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 8, p. 1682, april 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8070971/>>.
33. MALLMANN, M. B. et al. Exames de triagem neonatal no Brasil: taxas de prevalência e desigualdades regionais e socioeconômicas. **Journal da Pediatria**, v. 96, n. 4, p. 487-494, 2020. Disponível em:

- <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021755718308167?via%3Dihub>>
34. MARCÃO, A. et al. Rastreo neonatal da homocistinúria clássica revela uma elevada frequência da deficiência em MAT I/III na Península Ibérica. **Instituto Nacional de Saúde**, v. 7, n. 2, 2016. Disponível em: <[https://www.insa.min-saude.pt/wp-content/uploads/2017/01/observacoesNEspecia7-2016\\_artigo5.pdf](https://www.insa.min-saude.pt/wp-content/uploads/2017/01/observacoesNEspecia7-2016_artigo5.pdf)>.
  35. MARIN, J. M. Análise da estrutura genética populacional de duas espécies de Characiformes (*Pygocentrus nattereri* e *Potamorhina latior*) na região da bacia do Rio Madeira, Rondônia. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista. São Paulo, 2013.
  36. MILES, E. W.; KRAUS, J. P. Cystathionine  $\beta$ -Synthase: Structure, Function, Regulation, and Location of Homocystinuria-causing Mutations. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 29, p. 29871–29874, 2004.
  37. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Homocistinúria Clássica. Ministério da Saúde, jan 2020. Disponível em: <[https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/protocolos-clinicos-e-diretrizes-terapeuticas-pcdt/arquivos/2020/pcdt\\_homocistinriaclassica.pdf](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/protocolos-clinicos-e-diretrizes-terapeuticas-pcdt/arquivos/2020/pcdt_homocistinriaclassica.pdf)>.
  38. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Ampliação de triagem neonatal beneficia diagnóstico de doença ultrarrara no SUS. Ministério da Saúde, maio 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/conitec/pt-br/assuntos/noticias/2023/maio/ampliacao-de-triagem-neonatal-beneficia-diagnostico-de-doenca-ultrarrara-no-sus>>
  39. MORRIS, A.A.M. et al. Guidelines for the diagnosis and management of cystathionine beta-synthase deficiency. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 40, ed. 1, p. 49-74, jan. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27778219/>>.
  40. MUDD S.H. et al. The natural history of homocystinuria due to cystathionine  $\beta$ -synthase deficiency. **American Journal of Human Genetics**, v. 37, n. 1, p. 1-31, 1985. Available at <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1684548/>>.
  41. NETTO, A. B. O. et al. Neonatal screening for spinal muscular atrophy: A pilot study in Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v 11, n. 46, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10718293/>>.
  42. OLIVAR R. J. et al. Homocistinúria; curso clínico y tratamiento dietético: a propósito de dos casos. **Nutr. Hosp.**, Madrid, v. 27, n. 6, p. 2133-2138, 2012. Disponible en <[http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112012000600046&lng=es&nrm=iso](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000600046&lng=es&nrm=iso)>.
  43. OLIVEIRA, T. et al. Dismorfia Facial e Atraso de Crescimento Intra-Uterino na Acidúria Metilmalónica Associada a Homocistinúria Caso Clínico. **Acta Paediatrica**, v. 34, n. 3, p. 177-179, 2003. Disponível em: <<https://www.rcaap.pt/detail.jsp?id=oai:ojs.revistas.rcaap.pt:article/5086>>.
  44. PAPACHRISTOU, C., BISWAS, S. Comparison of haplotype-based tests for detecting

- gene–environment interactions with rare variants. **Briefings in Bioinformatics**, v. 21, n. 3, p. 851-862, may 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7299304/>>.
45. PICO, M.L.C., BERMUDEZ, J.M.F. Homocistinuria y alteraciones del metabolismo de folatos y vitamina B12. In: SANJURJO, P.; BALDELLON, A. **Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias**, 2º ed., Madrid: Majadahonda, 2006.
46. POLONI, S. et al. Stearoyl-CoA Desaturase-1: Is It the Link between Sulfur Amino Acids and Lipid Metabolism? **Biology (Basel)**, v. 4, n. 2, p. 383-96, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/biology4020383>>.
47. POLONI, S. Homocistinúria Clássica no Brasil: um estudo clínico e genético com foco na investigação da relação entre composição corporal e metabolismo lipídico em pacientes tratados. Dissertação (doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2016.
48. POLONI, S. et al. Diagnosis and Management of Classica Homocystinuria in Brazil: A Summary of 72 Late-Diagnosed Patients. **J. inborn errors metab. Screening**, Porto Alegre, v. 6, e180007, 2018. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2326-45942018000100312&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2326-45942018000100312&lng=en&nrm=iso)>.
49. POLONI, S. et al. CBS mutations are good predictors for B6-responsiveness: A study based on the analysis of 35 Brazilian Classical Homocystinuria patients. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**, v. 6, n. 2, p. 10-170. Março 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mgg3.342#>>.
50. RAO, T. N. et al. Homocystinuria due to cystathionine beta synthase deficiency. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 74, ed. 4, p. 375-378. 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18797062/>>.
51. RAMOS, B. C. F. et al. Vaccination strategies for people living with inborn errors of metabolism in Brazil. **Jornal da Pediatria**. Rio de Janeiro, v. 99, n. 1, p. 70-80. Dezembro 2022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10066440/>>
52. RIBEIRO, J. S. V. Análise de marcadores do cromossomo Y em populações da região oriental do Paraguai. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2019
53. RICHARDS, S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genetics in Medicine**, v. 17, n. 5, p. 405-424. Maio 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4544753/>>.
54. RICHAU, C. S. Prevalência de mutações somáticas e germinativas em BRCA1, BRCA2 e TP53 em pacientes com câncer de ovário. Dissertação (Mestrado). Instituto Nacional

- de Câncer. Rio de Janeiro, 2021.
55. SCALCO, R. C. Estudo da mutação STAT5B em Criciúma – Santa Catarina: frequência e caracterização fenotípica de indivíduos heterozigotos. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. São Paulo, 2015.
  56. SCHUCK, P. F. et al. Recent advances in the pathophysiology of inherited metabolic diseases. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 80, n. 1, p. 50-51. Janeiro 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jdn.10007>>
  57. SHIPILINA, D. et al. On the origin and structure of haplotype blocks. **Molecular ecology**, v. 32, n. 6, p. 1441-1457. Novembro 2022. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/mec.16793>>.
  58. SILVA, A. R. et al. Triagem Neonatal: uma revisão sobre a sua importância. **Revista Conexão Ciência**, v. 17, n. 3, pg. 126-151, 2022.
  59. SNYDER, M. et al. Haplotype-resolved genome sequencing: experimental methods and applications. **Nature Reviews Genetics**. Reino Unido, v. 16, p. 344-358. May 2015. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrg3903#citeas>>.
  60. SOUZA, C. F. M. et al. Estratégias de tratamento para os erros inatos do metabolismo. **Revista Hospital de Clínicas de Porto Alegre**, v. 3, p. 387-396, 2001.
  61. SOUZA, I. R. et al. Genética Evolutiva. **Biblioteca Universitária da Universidade Federal de Santa Catarina**, cap. 7, p. 155, 2011.
  62. TSAI, M.Y. et al. High Prevalence of a Mutation in the Cystathionine B-Synthase Gene. **Am J Hum Genet**, v.59, p.1262-1267, 1996. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8940271/>>.
  63. TURNER, A. et al. Advancements in therapeutics for inborn errors of metabolism. **Current Opinion in Pediatrics**, v. 34, n. 6, p. 559-564, December 2022. Disponível em: <[https://journals.lww.com/co-pediatrics/fulltext/2022/12000/advancements\\_in\\_therapeutics\\_for\\_inborn\\_errors\\_of.7.aspx](https://journals.lww.com/co-pediatrics/fulltext/2022/12000/advancements_in_therapeutics_for_inborn_errors_of.7.aspx)>.
  64. VANNUCCHI, H.; MELO, S. S. Hiper-homocisteinemia e risco cardiometabólico. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo , v. 53, n. 5, p. 540-549, July 2009 . Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-27302009000500007&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302009000500007&lng=en&nrm=iso)>.
  65. WALTER, C. L. et al. Caracterização De Indivíduos Portadores De Mucopolissacaridose: Das Estratégias Nutricionais De Enfrentamento Aos Desafios No Campo Da Saúde Coletiva. **Revista Saúde UNIFAN**, v. 2, n. 2, p. 13-25, 2022.
  66. ZAIDI, S. et al. Clinical and molecular findings of 13 families from Saudi Arabia and a family from Sudan with homocystinuria. **Clinical Genetics**, v. 81, n. 6, p. 563-570. June 2012. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-0004.2011.01690.x>>

## **7. ARTIGO**

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Essa dissertação possuiu como objetivo geral caracterizar aspectos genéticos da Homocistinúria Clássica no Brasil. Consideramos que este objetivo tenha sido atingido, visto que foi realizado a determinação do genótipo de novos pacientes, assim como sua caracterização clínica. O perfil clínico e genético muito particular da Homocistinúria Clássica no Brasil reforça a importância de um diagnóstico precoce, seja através da triagem neonatal ou por análises moleculares.

O primeiro objetivo específico foi investigar a possível origem da variante frequente p.Trp323Ter no gene *CBS* em pacientes brasileiros. Consideramos que este objetivo tenha sido atingido, uma vez que nossos resultados sugerem um processo endogâmico nesses indivíduos de acordo com o resultado encontrado no único haplótipo. Este estudo foi o primeiro registro de análise de efeito fundador em pacientes brasileiros.

Além disso, avaliamos os principais achados clínicos, bioquímicos e antropométricos dos pacientes, estabelecendo uma caracterização dos pacientes brasileiros com a variante p.Trp323Ter. Assim, esses dados ajudam a entender o comportamento desta variante no país, e servem de base para futuras pesquisas sobre análises de processos endogâmicos e a relação haplótipo-fenótipo na HC.

O segundo objetivo específico era determinar o genótipo de uma amostra de pacientes brasileiros com Homocistinúria Clássica. Consideramos que este objetivo também tenha sido atingido, já que, 20 pacientes foram analisados geneticamente e foram encontradas 14 variantes, sendo três nunca descritas na literatura.

Para estes pacientes, atendidos pelo Hospital de Clínicas de Porto Alegre, também avaliamos os principais achados clínicos e bioquímicos, auxiliando ainda mais na caracterização dos pacientes brasileiros com Homocistinúria Clássica.

## **9. PERSPECTIVAS FUTURAS**

Como perspectiva futura, acreditamos ser fundamental continuar com o trabalho de caracterização do perfil clínico e genético de pacientes brasileiros com Homocistinúria Clássica e ampliar as amostras analisadas em conjunto com centros de todo Brasil. As informações coletadas podem ser utilizadas para outras análises, que não foram realizadas no presente estudo e incluídos em estudos com maior abrangência e complexidade.

Além disso, acreditamos ser importante um estudo piloto de triagem neonatal molecular no nordeste da Bahia, visto que a Homocistinúria ainda não faz parte do perfil de doenças detectadas e devido a alta frequência da variante p.Trp323Ter na região, novos casos poderão ser identificados.

## 10. ANEXOS

### ANEXO I Ficha clínica

#### 1. Identificação:

Iniciais do paciente: \_\_\_\_\_

Instituição de Origem: \_\_\_\_\_

Médico responsável: \_\_\_\_\_

Nº Prontuário: \_\_\_\_\_

Data de Nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_ Sexo: ( ) masculino ( ) feminino

#### 2. História Clínica – dados do diagnóstico

Motivo da investigação de Homocistinúria: \_\_\_\_\_

Idade do início dos sintomas \_\_\_\_\_ Data do 1º exame : \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Dosagem de Homocisteína: \_\_\_\_\_ Dosagem de Metionina: \_\_\_\_\_

Idade do diagnóstico definitivo: \_\_\_\_\_

Outros exames realizados no diagnóstico: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Outras complicações presentes ao diagnóstico: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

3. Responsividade à piridoxina: ( ) Sim ( ) Não ( ) parcial

4. Consanguinidade: ( ) Sim ( ) Não (se possível, desenhar heredograma)

**5. Últimos dosagens de Homocisteína e Metionina e dados antropométricos**

<b>Data</b>	<b>Homocisteína (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	<b>Metionina (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	<b>Peso (kg)</b>	<b>Altura (cm)</b>

**6. Tratamento prescrito atualmente, incluindo fórmula metabólica  
(discriminar dose/dia)**

**7. Adesão ao tratamento (impressão da equipe)?** ( ) Sim ( ) Não ( ) Parcial

**8. Profissionais que compõe equipe de atendimento:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**9. Complicações referentes à Homocistinúria atualmente:**

**Oculares:** \_\_\_\_\_

**Vasculares:** \_\_\_\_\_

**Ósseas:** \_\_\_\_\_

**Neurológicas:** \_\_\_\_\_

**Psiquiátricas:** \_\_\_\_\_

**Outras:** \_\_\_\_\_

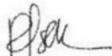
## ANEXO II

### Certificado Apresentação Oral 40 Semana Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre



Certificamos que o trabalho **CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E BIOQUÍMICA DE PACIENTES COM HOMOCISTINÚRIA CLÁSSICA PORTADORES DA VARIANTE P.TRP323TER** apresentado por **GABRIELA GARCIA SILVANO** e coautoria de **SORAIA POLONI; EMILIA KATIANE EMBIRUÇU; GIOVANA WEBER-HOSS; GUSTAVO MOTTIN RIZOWY; KARINA COLONETTI; PATRÍCIA PONTES CRUZ; TACIANE BORSATTO; IDA VANESSA DOEDERLEIN SCHWARTZ**, foi apresentado na modalidade oral na **40ª Semana Científica do HCPA**, realizada no formato digital, no período de 9 de novembro a 13 de novembro de 2020.

  
Prof. Nadine Oliveira Clausell  
Diretora-Presidente do Hospital de Clínicas

  
Prof. Patrícia Ashton-Prolla  
Coordenadora do GPPG

a autenticidade deste documento pode ser verificada através da URL:  
<https://sgce.hcpa.edu.br/sgce/validar/54708AC1>



Promoção

GPPG  
Grupo de Pesquisa  
e Pós-graduação



## ANEXO III

### Certificado Prêmio VIII Congresso da SBTEIM



**VIII**  
**CONGRESSO DA**  
**SBTEIM**  
SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRIAGEM  
NEONATAL E ERROS INATOS DE METABOLISMO  
3 E 4 DE JUNHO DE 2022 • **ONLINE**

# CERTIFICADO

Trabalho Científico

#### **CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E BIOQUÍMICA DE PACIENTES BRASILEIROS COM HOMOCISTINÚRIA CLÁSSICA PORTADORES DA VARIANTE SAUDITA P.TRP323TER**

**Autores:** GABRIELA GARCIA SILVANO, SORAIA POLONI, EMILIA KATIANE EMBIRUÇU, FERNANDA SPERB- LUDWIG, GIOVANA WEBER-HOSS, GUSTAVO MOTTIN RIZOWY, KARINA COLONETTI, PATRICIA PONTES CRUZ, TACIANE BORSATTO, IDA VANESSA DOEDERLEIN SCHWARTZ

Recebendo o Prêmio **CLOVIS WANNMACHER** com o Primeiro Lugar na categoria de melhores trabalhos apresentados na área de Erros Inatos do Metabolismo

no VIII CONGRESSO DA SBTEIM - Triagem Neonatal no Século XXI: Ampliar, Abranger, Cuidar, realizado totalmente ONLINE nos dias 03 e 04 de junho de 2022

Patrocínio da Premiação:

**CHROMSYSTEMS**  
DIAGNOSTICS BY HPLC & LC-MS/MS  
Distribuidor exclusivo no Brasil: [biogate.com.br](http://biogate.com.br)



**TANIA SANCHEZ BACHEGA**  
Presidente do Congresso

**CAROLINA FISCHINGER MOURA DE SOUZA**  
Presidente da Comissão Científica Erros Inatos de  
Metabolismo

**CRISTIANE KOPACEK**  
Presidente da Comissão Científica Triagem Neonatal

**ANEXO IV**  
**Carta de aprovação do projeto 2019/0683**



**HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**

**Grupo de Pesquisa e Pós Graduação**

**Carta de Aprovação**

**Projeto**

2019/0683

**Pesquisadores:**

**SORAIA POLONI**

GABRIELA GARCIA SILVANO

KARINA COLONETTI

IDA VANESSA DOEDERLEIN  
SCHWARTZ

**Número de Participantes:** 20

**Título:** Análise do gene CBS e construção de haplótipos para investigação da origem comum de mutações frequentes em pacientes brasileiros com Homocistinúria Clássica

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos, metodológicos, logísticos e financeiros para ser realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Esta aprovação está baseada nos pareceres dos respectivos Comitês de Ética e do Serviço de Gestão em Pesquisa:

- Os pesquisadores vinculados ao projeto não participaram de qualquer etapa do processo de avaliação de seus projetos.

- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG).

27/12/2019



Assinado digitalmente por:  
**PATRICIA ASHTON PROLLA**

Grupo de Pesquisa e Pós-graduação  
03012020 11:50:36

## ANEXO V

### Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) – Artigo

#### 1

Número	Item	Recomendação	Página
1	Título e Resumo	Indique o desenho do estudo no título ou no resumo, com termo comumente utilizado Disponibilize no resumo um sumário informativo e equilibrado do que foi feito e do que foi encontrado	34-35
<b>Introdução</b>			
2	Contexto Justificativa	Detalhe o referencial teórico e as razões para executar a pesquisa	35-36
3	Objetivos	Descreva os objetivos específicos, incluindo quaisquer hipóteses pré-existentes	36
<b>Métodos</b>			
4	Desenho do estudo	Apresente, no início do artigo, os elementos-chave relativos ao desenho do estudo.	36
5	Contexto	Descreva o contexto, locais e datas relevantes, incluindo os períodos de recrutamento, exposição, acompanhamento (follow-up) e coleta de dados.	36
6	Participantes	Estudos de Coorte: Apresente os critérios de elegibilidade, fontes e métodos de seleção dos participantes. Descreva os métodos de acompanhamento. Estudos de Caso-Controle: Apresente os critérios de elegibilidade, as fontes e o critério-diagnóstico para identificação dos casos e os métodos de seleção dos controles. Descreva a justificativa para a eleição dos casos e controles. Estudo Seccional: Apresente os critérios de elegibilidade, as fontes e os métodos de seleção dos participantes. Estudos de Coorte: Para os estudos pareados, apresente os critérios de pareamento e o número de expostos e não expostos. Estudos de Caso-Controle: Para os estudos pareados, apresente os critérios de pareamento e o número de controles para cada caso.	37
7	Variáveis	Defina claramente todos os desfechos, exposições, preditores, confundidores em potencial e modificadores de efeito. Quando necessário, apresente os critérios diagnósticos.	37
8	Fonte de dados/mensuração	Para cada variável de interesse, forneça a fonte dos dados e os detalhes dos métodos utilizados na avaliação (mensuração). Quando existir mais de um grupo, descreva a comparabilidade dos métodos de avaliação	37
9	Viés	Especifique todas as medidas adotadas para evitar potenciais fontes de vies	37
10	Tamanho do estudo	Explique como se determinou o tamanho amostral.	37
11	Variáveis quantitativas	Explique como foram tratadas as variáveis quantitativas na análise. Se aplicável, descreva as categorizações que foram adotadas e porque.	37
12	Métodos estatísticos	Descreva todos os métodos estatísticos, incluindo aqueles usados para controle de confundimento. Descreva todos os métodos utilizados para examinar	37-38

		<p>subgrupos e interações. Explique como foram tratados os dados faltantes (“missing data”)</p> <p>Estudos de Coorte: Se aplicável, explique como as perdas de acompanhamento foram tratadas.</p> <p>Estudos de Caso-Controle: Se aplicável, explique como o pareamento dos casos e controles foi tratado.</p> <p>Estudos Seccionais: Se aplicável, descreva os métodos utilizados para considerar a estratégia de amostragem.</p> <p>Descreva qualquer análise de sensibilidade</p>	
<b>Resultados</b>			
13	Participantes	<p>Descreva o número de participantes em cada etapa do estudo (ex: número de participantes potencialmente elegíveis, examinados de acordo com critérios de elegibilidade, elegíveis de fato, incluídos no estudo, que terminaram o acompanhamento e efetivamente analisados)</p> <p>Descreva as razões para as perdas em cada etapa. Avalie a pertinência de apresentar um diagrama de fluxo</p>	38
14	Dados descritivos	<p>Descreva as características dos participantes (ex: demográficas, clínicas e sociais) e as informações sobre exposições e confundidores em potencial. Indique o número de participantes com dados faltantes para cada variável de interesse.</p> <p>Estudos de Coorte: Apresente o período de acompanhamento (ex: média e tempo total)</p>	38-40
15	Desfecho	<p>Estudos de Coorte: Descreva o número de eventos-desfecho ou as medidas-resumo ao longo do tempo</p> <p>Estudos de Caso-Controle: Descreva o número de indivíduos em cada categoria de exposição ou apresente medidas-resumo de exposição.</p> <p>Estudos Seccionais: Descreva o número de eventos-desfecho ou apresente as medidas-resumo.</p>	38-40
16	Resultados principais	<p>Descreva as estimativas não ajustadas e, se aplicável, as estimativas ajustadas por variáveis confundidoras, assim como sua precisão (ex: intervalos de confiança). Deixe claro quais foram os confundidores utilizados no ajuste e porque foram incluídos.</p> <p>Quando variáveis contínuas forem categorizadas, informe os pontos de corte utilizados.</p> <p>Se pertinente, considere transformar as estimativas de risco relativo em termos de risco absoluto, para um período de tempo relevante.</p>	38-40
17	Outras análises	Descreva outras análises que tenham sido realizadas. Ex: análises de subgrupos, interação, sensibilidade.	38-40
<b>Discussão</b>			
18	Resultados principais	Resuma os principais achados relacionando-os aos objetivos do estudo	40-41
19	Limitações	Apresente as limitações do estudo, levando em consideração fontes potenciais de viés ou imprecisão. Discuta a magnitude e direção de vieses em potencial.	40-41
20	Interpretação	Apresente uma interpretação cautelosa dos resultados, considerando os objetivos, as limitações, a multiplicidade das análises, os resultados de estudos semelhantes e outras evidências relevantes.	40-41

21	Generalização	Discuta a generalização (validade externa) dos resultados	40-41
<b>Outras Informações</b>			
22	Financiamento	Especifique a fonte de financiamento do estudo e o papel dos financiadores. Se aplicável, apresente tais informações para o estudo original no qual o artigo é baseado.	42

## ANEXO VI

### Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) – Artigo 2

Número	Item	Recomendação	Página
1	Título e Resumo	Indique o desenho do estudo no título ou no resumo, com termo comumente utilizado Disponibilize no resumo um sumário informativo e equilibrado do que foi feito e do que foi encontrado	46-47
<b>Introdução</b>			
2	Contexto Justificativa	Detalhe o referencial teórico e as razões para executar a pesquisa	47-48
3	Objetivos	Descreva os objetivos específicos, incluindo quaisquer hipóteses pré-existentes	48
<b>Métodos</b>			
4	Desenho do estudo	Apresente, no início do artigo, os elementos-chave relativos ao desenho do estudo.	48
5	Contexto	Descreva o contexto, locais e datas relevantes, incluindo os períodos de recrutamento, exposição, acompanhamento (follow-up) e coleta de dados.	48-49
6	Participantes	Estudos de Coorte: Apresente os critérios de elegibilidade, fontes e métodos de seleção dos participantes. Descreva os métodos de acompanhamento. Estudos de Caso-Controle: Apresente os critérios de elegibilidade, as fontes e o critério-diagnóstico para identificação dos casos e os métodos de seleção dos controles. Descreva a justificativa para a eleição dos casos e controles. Estudo Seccional: Apresente os critérios de elegibilidade, as fontes e os métodos de seleção dos participantes. Estudos de Coorte: Para os estudos pareados, apresente os critérios de pareamento e o número de expostos e não expostos. Estudos de Caso-Controle: Para os estudos pareados, apresente os critérios de pareamento e o número de controles para cada caso.	48
7	Variáveis	Defina claramente todos os desfechos, exposições, preditores, confundidores em potencial e modificadores de efeito. Quando necessário, apresente os critérios diagnósticos.	48-49
8	Fonte de dados/mensuração	Para cada variável de interesse, forneça a fonte dos dados e os detalhes dos métodos utilizados na avaliação (mensuração). Quando existir mais de um grupo, descreva a comparabilidade dos métodos de avaliação	48-49
9	Viés	Especifique todas as medidas adotadas para evitar potenciais fontes de vies	48-49
10	Tamanho do estudo	Explique como se determinou o tamanho amostral.	48-49
11	Variáveis quantitativas	Explique como foram tratadas as variáveis quantitativas na análise. Se aplicável, descreva as categorizações que foram adotadas e porque.	48-49
12	Métodos estatísticos	Descreva todos os métodos estatísticos, incluindo aqueles usados para controle de confundimento. Descreva todos os métodos utilizados para examinar	48-49

		subgrupos e interações. Explique como foram tratados os dados faltantes (“missing data”) Estudos de Coorte: Se aplicável, explique como as perdas de acompanhamento foram tratadas. Estudos de Caso-Controle: Se aplicável, explique como o pareamento dos casos e controles foi tratado. Estudos Seccionais: Se aplicável, descreva os métodos utilizados para considerar a estratégia de amostragem. Descreva qualquer análise de sensibilidade	
<b>Resultados</b>			
13	Participantes	Descreva o número de participantes em cada etapa do estudo (ex: número de participantes potencialmente elegíveis, examinados de acordo com critérios de elegibilidade, elegíveis de fato, incluídos no estudo, que terminaram o acompanhamento e efetivamente analisados) Descreva as razões para as perdas em cada etapa. Avalie a pertinência de apresentar um diagrama de fluxo	49
14	Dados descritivos	Descreva as características dos participantes (ex: demográficas, clínicas e sociais) e as informações sobre exposições e confundidores em potencial. Indique o número de participantes com dados faltantes para cada variável de interesse. Estudos de Coorte: Apresente o período de acompanhamento (ex: média e tempo total)	49-52
15	Desfecho	Estudos de Coorte: Descreva o número de eventos-desfecho ou as medidas-resumo ao longo do tempo Estudos de Caso-Controle: Descreva o número de indivíduos em cada categoria de exposição ou apresente medidas-resumo de exposição. Estudos Seccionais: Descreva o número de eventos-desfecho ou apresente as medidas-resumo.	49-52
16	Resultados principais	Descreva as estimativas não ajustadas e, se aplicável, as estimativas ajustadas por variáveis confundidoras, assim como sua precisão (ex: intervalos de confiança). Deixe claro quais foram os confundidores utilizados no ajuste e porque foram incluídos. Quando variáveis contínuas forem categorizadas, informe os pontos de corte utilizados. Se pertinente, considere transformar as estimativas de risco relativo em termos de risco absoluto, para um período de tempo relevante.	49-52
17	Outras análises	Descreva outras análises que tenham sido realizadas. Ex: análises de subgrupos, interação, sensibilidade.	49-52
<b>Discussão</b>			
18	Resultados principais	Resuma os principais achados relacionando-os aos objetivos do estudo	52-54
19	Limitações	Apresente as limitações do estudo, levando em consideração fontes potenciais de viés ou imprecisão. Discuta a magnitude e direção de vieses em potencial.	52-54
20	Interpretação	Apresente uma interpretação cautelosa dos resultados, considerando os objetivos, as limitações, a multiplicidade das análises, os resultados de estudos semelhantes e outras evidências relevantes.	52-54

21	Generalização	Discuta a generalização (validade externa) dos resultados	52-54
<b>Outras Informações</b>			
22	Financiamento	Especifique a fonte de financiamento do estudo e o papel dos financiadores. Se aplicável, apresente tais informações para o estudo original no qual o artigo é baseado.	54



