

LUÍSE GARCIA RIBEIRO

**ESTUDO DAS CAUSAS GENÉTICAS DO ALBINISMO EM
HUMANOS E A RELAÇÃO COM O DIAGNÓSTICO
DERMATOLÓGICO E ALTERAÇÕES OFTALMOLÓGICAS**

SÃO PAULO

2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA
DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA EXPERIMENTAL

LUÍSE GARCIA RIBEIRO

ESTUDO DAS CAUSAS GENÉTICAS DO ALBINISMO EM HUMANOS E A
RELAÇÃO COM O DIAGNÓSTICO DERMATOLÓGICO E ALTERAÇÕES
OFTALMOLÓGICAS

Versão corrigida

Dissertação apresentada ao Instituto de
Psicologia da Universidade de São Paulo
para obter título de Mestra em Ciências.

Área de concentração: Neurociências e
Comportamento.

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Maria Oliveira Bonci
Coorientador: Prof. Dr. Ronaldo Yuiti Sano

SÃO PAULO

2019

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E
PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação
Biblioteca Dante Moreira Leite
Instituto de Psicologia da Universidade de
São Paulo
Dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Garcia Ribeiro, Luíse

Estudo das causas genéticas do albinismo em humanos e a relação com o diagnóstico dermatológico e alterações oftalmológicas / Luíse Garcia Ribeiro; orientadora Daniela Maria Oliveira Bonci; co-orientador Ronaldo Yuiti Sano. -- São Paulo, 2019.

50 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento) -- Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, 2019.

1. Albinismo . 2. Humanos. 3. Gene TYR. 4. Gene OCA2. 5. Heterozigose Composta. I. Maria Oliveira Bonci, Daniela , orient. II. Yuiti Sano, Ronaldo, co-orient. III. Título.

Nome: Ribeiro, Luíse Garcia

Título: Estudo das causas genéticas do albinismo em humanos e a relação com o diagnóstico dermatológico e alterações oftalmológicas

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestra em Ciências

Programa de Neurociências e Comportamento

Aprovada em: 04 de outubro de 2019

Banca Examinadora

Profa. Dra. Einat Hauzman

Instituição: Instituto de Psicologia - Universidade de São Paulo

Assinatura: _____

Prof. Dr. Leonardo Dutra Henriques

Instituição: Instituto de Psicologia - Universidade de São Paulo

Assinatura: _____

Prof. Dr. Davi Chen Wu

Instituição: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo

Assinatura: _____

Profª. Dra. Daniela Maria Oliveira Bonci

Instituição: Instituto de Psicologia - Universidade de São Paulo

Assinatura: 

Prof. Dr. Ronaldo Yuiti Sano

Instituição: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo

Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente minha orientadora Daniela Bonci, pelo constante aprendizado, ensinamentos e por estar comigo do início ao fim, serei eternamente grata.

Ao meu coorientador Ronaldo Sano, que também sempre me acompanhou e me ensinou tanto sobre albinismo, além de ter fornecido dados oftalmológicos importantes para a realização desse trabalho, um super obrigada!

Agradeço ao laboratório de Psicofisiologia Sensorial por ter me acolhido tão bem por esses anos. Todos os ensinamentos que aprendi aqui me fizeram ser a bióloga e cientista que sou hoje, serei eternamente grata! Um especial obrigada à professora Dora, que tive o prazer de conhecer e que além de uma incrível cientista é uma ótima pessoa, muito obrigada!

Agradeço às agências de fomento CAPES e FAPESP, pelo financiamento deste trabalho tornando-o possível de ser realizado.

Ao programa Neurociências e Comportamento, do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, por ter tornado tudo isso possível.

Agradeço ao Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein do Hospital Israelita Albert Einstein pela parceria com o laboratório e pelo constante aprendizado.

Agradeço à Santa Casa de Misericórdia de São Paulo por ter a iniciativa de organizar um projeto tão bonito e interdisciplinar que é o “Projeto Pró-Albino”.

Agradeço aos participantes desse projeto, que deram a honra de poder conhecê-los melhor e por terem me permitido realizar esse trabalho.

Agradeço os médicos dermatologistas da Santa Casa Marcus Maia e Carolina Marçon por terem fornecido dados tão importantes para o meu trabalho.

Agradeço aos membros da banca por terem aceitado tão prontamente meu convite para avaliar esse mestrado.

Agradeço à Einat por ter se tornado mais que colega de laboratório, por ter compartilhado tanto conhecimento e me ensinado tanta coisa da Biologia Molecular.

Agradeço aos amigos do labvis que eu fiz nessa jornada e que sempre me ajudaram e me ensinaram muito, em especial ao Diego Vinícius que além de um amigo, esteve sempre à disposição em me ajudar e à Maria Júlia que foi uma verdadeira irmã acadêmica que eu ganhei, compartilhando e aprendendo juntas muitas coisas.

Agradeço minhas duas famílias, que sempre me apoiaram e estiveram comigo acreditando em mim nessa etapa da minha vida, obrigada por serem pais tão presentes e um irmão tão carinhoso.

Aos meus amigos que sempre me acompanharam, me deram forças e incentivaram minha vida acadêmica, pelos momentos de descontração e por todo apoio emocional que tive durante todo esse período, vocês são fundamentais na minha vida! Em especial à Angelica e Samar por terem entrado e permanecido na minha vida.

Agradeço ao amor da minha vida André Ramalho, meu maior fã e incentivador deste mestrado, obrigada por fazer tanto por mim e sempre recarregar minhas energias quando eu precisei. Eu te amo pra sempre!

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OA – *Ocular albinism*

OCA – *Oculocutaneous albinism*

OCA1 - *Oculocutaneous albinism type 1*

OCA1A - *Oculocutaneous albinism type 1A*

OCA1B - *Oculocutaneous albinism type 1B*

OCA2 - *Oculocutaneous albinism type 2*

OCA1-TS – *Oculocutaneous albinism type 1- temperature sensitive*

HPS – *Hermansky – Pudlak syndrome*

CHS – *Chédiak – Higashi syndrome*

OCT – *Optical coherence tomography*

FW – *Forward*

RV – *Reverse*

GTI – *Grau de transiluminação da íris*

GTR – *Grau de transparência da retina*

AV – *Acuidade visual*

OE – *Olho esquerdo*

OD – *Olho direito*

ND – *Não definido*

logMAR – *Logaritmo do ângulo mínimo de resolução*

HGMD – *The human gene database*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Desenho esquemático da ultraestrutura de um melanócito presente na epiderme, onde a partir da entrada da tirosina para dentro da célula, inicia-se a cascata de eventos no complexo de Golgi para a produção da melanina com ação da enzima tirosinase. Em seguida a melanina polimerizada deposita-se em pequenas vesículas denominada melanosomas, que se deslocam pelos prolongamentos dos melanócitos até saírem da célula, como grãos de melanina, e serem depositados no interior dos ceratinócitos (TOLEDO, 2004; MIOT et al., 2009).

..... 11

Figura 2 - Esquema simplificado dos processos bioquímicos da melanogênese. A tirosinase catalisa duas etapas na síntese de melanina, incluindo a primeira e segunda reação: hidroxilação da DOPA e a oxidação da DOPA em DOPAquinona (LEVIN et al., 2011; KALAHROUDI et al., 2014; SANO, 2017).

..... 12

Figura 3 - Representação do gene *TYR* com seus 5 éxons e as mutações descritas até 2014, responsáveis por causar albinismo do tipo OCA1 (KALAHROUDI et al., 2014).

..... 16

Figura 4 - Representação da região codificante do gene *OCA2*, com suas mutações *missense* na parte superior da figura e na parte inferior temos mutações *nonsense*, *frameshift* e *splice site* essa última mutação ocorre nas extremidades de um éxon e um intron – região de splice – e essa alteração pode interromper o *splicing* do RNA, que resulta na perda de éxons ou inclusão de introns, além de uma sequência alterada na síntese de proteínas (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2019). Fonte: <http://www.ifpcs.org/albinism/oca2map.htm>.

..... 17

Figura 5 - Comparação da fóvea de um indivíduo não albino (A) com um indivíduo albino (B). Nas fotos da esquerda, temos o fundo do olho (área da fóvea) dos indivíduos enquanto as fotos da direita são imagens de OCT - Tomografia de Coerência Óptica - exame de imagem capaz de mostrar cortes seccionais das estruturas oculares com alta resolução, mostrando as camadas da retina, evidenciando que os indivíduos albinos não apresentam a depressão foveal, vista em indivíduos não albinos. Fonte: <http://webvision.med.utah.edu/book/electrophysiology/visual-and-auditory-anomalies-associated-with-albinism/>

..... 20

Figura 6 - Classificação do grau de transiluminação da íris em albinos, proposto por SANO (2017). Grau 1: Raras áreas pontuais de transiluminação irídica na periferia da zona ciliar da íris. Pigmentação irídica intensa; Grau 2: Áreas pontuais de transiluminação irídica de forma difusa ou irregular, em toda zona ciliar da íris. Pigmentação irídica moderada; Grau 3: Presença de pigmentação somente na zona pupilar da íris. Transparência importante da zona ciliar, possibilitando observar áreas da vascularização

da íris. Pigmentação irídica mínima; e Grau 4: Ausência completa de pigmentação da íris, possibilitando observar toda a vascularização da íris, transiluminação total.

..... 26

Figura 7 - Classificação do grau de transparência da retina em albinos, proposto por SANO (2017). Grau 1: Pigmentação do Epitélio Pigmentado da Retina (EPR) intensa, que se estende da região do polo posterior, passa pela área das arcadas vasculares temporais e chega até a região periférica da retina. A pigmentação pode apresentar padrão irregular. Grau 2: Pigmentação do EPR moderada, que se estende da região do polo posterior até a área das arcadas vasculares temporais. A pigmentação pode apresentar padrão irregular; Grau 3: Pigmentação do EPR mínima, localizada na região do polo posterior da retina. A pigmentação pode apresentar padrão irregular; e Grau 4: Ausência completa de pigmentação do EPR em toda a retina.

..... 27

Figura 8 - Teste exato de Fisher para diagnóstico dermatológico e genético.

..... 31

Figura 9 - Teste T pareado para AV em ambos os olhos.

..... 32

Figura 10 - Teste de Wilcoxon para GTR e GTI.

..... 33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação do albinismo e outras síndromes relacionadas ao albinismo com seu gene e sua localização cromossômica, além do número de mutações encontradas já descritas para cada tipo de albinismo até 2019 (KAMARAJ & PUROHIT, 2014). Fonte: Base de Dados de Gene e Mutação Humana, 14 de Maio, 2019. ND: Não definido.

..... **15**

Tabela 2 - Tabela com dados dos albinos. Resultados desse trabalho e de Sano (2017).

..... **29**

RESUMO

RIBEIRO, L. G. (2019). *Estudo das caudas genéticas do albinismo em humanos e a relação com o diagnóstico dermatológico e alterações oftalmológicas*. (Dissertação de Mestrado). Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Albinismo em humanos é uma doença autossômica recessiva caracterizada pela redução ou ausência de melanina. Predominam dois tipos principais: o albinismo ocular (OA, do inglês, *Ocular Albinism*), que manifesta alterações oculares, e o albinismo óculo-cutâneo (OCA, do inglês, *Oculocutaneous Albinism*) no qual encontramos alterações na pele, olhos e cabelos. Dentre os tipos de OCA, destacam-se: OCA1, causado por mutações em homozigose ou heterozigose composta no gene *TYR* e OCA2, causado também por mutações em homozigose ou heterozigose composta no gene *OCA2*. São diagnosticados a partir de uma análise dermatológica combinada a uma análise oftalmológica, que contribuem mas não determinam exatamente o tipo de albinismo, sem uma análise genética para confirmação do diagnóstico clínico. No albinismo ocorrem alterações oftalmológicas importantes causando desconforto para esses indivíduos, como hipopigmentação da íris e do epitélio pigmentado da retina, nistagmo e fotofobia. O objetivo deste trabalho foi diagnosticar geneticamente 21 albinos acompanhados na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo e comparar seu diagnóstico dermatológico prévio e alterações oftalmológicas (diagnosticadas pelos exames de biomicroscopia por lâmpada de fenda com foto; teste de acuidade visual; exame de transiluminação da íris; e retinografia) aos resultados moleculares, identificados através do sequenciamento dos genes *TYR* e *OCA2*. Os resultados obtidos foram: a) três participantes foram classificados como OCA1 e 18 como OCA2; oito apresentaram mutações em heterozigose; também foram encontradas quatro mutações no gene *TYR* e seis no gene *OCA2*, uma delas do gene *OCA2* ainda não descrita na literatura; b) de acordo com a avaliação dermatológica, seis participantes foram classificados como OCA1 e 15 como OCA2; c) em relação à avaliação oftalmológica, nos 21 albinos, a retinografia mostrou que o grau de transparência da retina variou de 2, 3 e 4, enquanto que a foto da íris, resultou nos graus 1 até 4 e acuidade visual, este último resultou em 8 variantes. Em conclusão, o diagnóstico genético se mostrou de extrema importância para a confirmação e identificação do tipo de albinismo sugerido dermatologicamente e não houve uma correlação entre os achados genéticos e oftalmológicos.

PALAVRAS-CHAVE: Albinismo, humanos, gene *TYR*, gene *OCA2*, heterozigose composta

ABSTRACT

RIBEIRO, L. G. (2019). *Study of genetic causes of albinism in humans and the relation with dermatological diagnosis and ophthalmological changes*. (Dissertação de Mestrado). Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Albinism in humans is an inheritance autosomal recessive disease, characterized by reduced or absent of melanin. There are two main types: Ocular Albinism (OA) that shows ocular changes, and the Oculocutaneous Albinism (OCA) that shows changes in the skin, eyes and hair. Among the types of OCA, stand out: OCA1, that is caused by homozygous or compound heterozygous mutations in the *TYR* gene; and OCA2, that is also caused by homozygous or compound heterozygous mutations in the *OCA2* gene. Subjects are diagnosed from a dermatological analysis combined with an ophthalmological analysis, that contribute, but do not determine exactly the type of albinism present in the subject, without a genetic analysis to confirm the clinical diagnostic. In the albinism there are important ophthalmological changes, that causes discomfort, such as photophobia, for these individuals, as hypopigmentation of the iris and retina and nystagmus. The aim of this study was to accomplish the genetical diagnose in 21 albinos accompanied at “Santa Casa de Misericórdia de São Paulo” and to compare with the preliminary dermatological diagnose and the ophthalmological changes (diagnosed by the exams slit lamp biomicroscopy with iris photo; visual acuity from Snellen test; retinography (3D CT 1000, Topcon) and iris transillumination) to molecular results, identified through sequencing of *TYR* and *OCA2* genes. The results were: a) three individuals classified as OCA1 and 18 as OCA2; eight subjects shown mutation in heterozygosis; were found four mutations for *TYR* gene and six for *OCA2* gene, one of those *OCA2* mutations was not described in any literature; b) according with dermatological analysis, six subjects were classified as OCA1 and 15 as OCA2; c) regarding the ophthalmological changes, in all subjects were evaluated the retinography, which varied from 2 to 4, photo of iris which varied from 1 to 4 and visual acuity, the last resulted in 8 variants. In conclusion, the genetical diagnosis showed itself of extreme importance to the confirmation and identification of the type of albinism dermatologically suggested, once there are different genes for each type of albinism and there was no correlation between genetic and ophthalmologic findings.

KEYWORDS: Albinism, humans, *TYR* gene, *OCA2* gene, compound heterozygous

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
1.1. Albinismo.....	10
1.2. Tipos de Albinismo e Sintomas.....	12
1.3. Causas Genéticas do Albinismo.....	16
1.4. Visão no Albinismo.....	18
1.5. Contextualização.....	20
2. JUSTIFICATIVA.....	21
3. OBJETIVO GERAL.....	22
3.1. Objetivos Específicos.....	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
4.1. Aspectos Éticos.....	23
4.2. Participantes.....	23
4.3. Análises Genéticas.....	23
4.3.1. Extração de DNA.....	23
4.3.2. Reação em Cadeia de Polimerase.....	23
4.3.3. Purificação das Amostras.....	24
4.3.4. Sequenciamento das Amostras.....	24
4.3.5. Comparação das Análises Moleculares com o Diagnóstico Dermatológico.....	24
4.3.6. Avaliações Oftalmológicas e a Relação com o Diagnóstico Genético.....	24
5. RESULTADOS.....	27
5.1. Diagnóstico Genético.....	27
5.2. Comparação das Análises Moleculares com o Diagnóstico Dermatológico.....	29
5.3. Avaliações Oftalmológicas e a Relação com o Diagnóstico Genético.....	30
6. DISCUSSÃO.....	33
6.1. Diagnóstico Genético.....	33
6.2. Comparação das Análises Moleculares com o Diagnóstico Dermatológico.....	34
6.3. Avaliações Oftalmológicas e a Relação com o Diagnóstico Genético.....	35
7. CONCLUSÃO.....	37
8. REFERÊNCIAS.....	38
9. ANEXOS.....	44
9.1. Anexo I.....	44
9.2. Anexo II.....	46
9.3. Anexo III.....	47

1. INTRODUÇÃO

1.1. Albinismo

Albinismo é um termo clínico que descreve um grupo heterogêneo de doenças congênitas raras determinadas por múltiplas alterações genéticas que reduzem ou eliminam a expressão da melanina na pele, olhos e/ou cabelo (CASTILLO et al., 2013; MÁRTINEZ-GARCÍA & MONTOLIU, 2013; GRONSKOV et al., 2019).

É uma doença autossômica recessiva, os pais de uma criança afetada são portadores obrigatórios e a chance de um casal portador ter um filho albino é de 25%. Os portadores de albinismo são assintomáticos (GRONSKOV et al., 2007). A partir do diagnóstico pré-natal é possível determinar se a criança nascerá albina, caso seja relatado que os pais são portadores. Os exames pré-natais podem ser feitos com a análise do DNA extraído do feto através da retirada de uma amostra de vilos coriônicos ou através de amniocentese (GRONSKOV et al., 2007; KERR & KROMBERG, 2018).

As células responsáveis pela síntese da melanina são os melanócitos, células dendríticas derivadas dos melanoblastos, que se originam da crista neural e migram para a pele após o fechamento do tubo neural. Quando essas células estão completamente desenvolvidas, migram para diversos locais: epitélio pigmentado retiniano, íris, coróide (olhos), estrias vasculares (ouvidos), leptomeninges (sistema nervoso central), matriz dos pelos, mucosas e pele (MIOT et al., 2009). Os melanócitos sintetizam e acumulam a melanina em organelas chamadas de melanossomas (Figura 1). Nestes, ocorrem os fenômenos bioquímicos que originam a melanina, uma proteína que pode ser produzida em tamanhos, números e densidades variadas. Após a síntese de melanina, os melanossomas (também denominado nesta fase de “grânulo de melanina”), migram pelos prolongamentos dos melanócitos podendo ser transferidos para outras células ou mantidos nos melanócitos (HEARING & TSUKAMOTO, 1991; MIOT et al., 2009; KAMARAJ & PUROHIT, 2014).

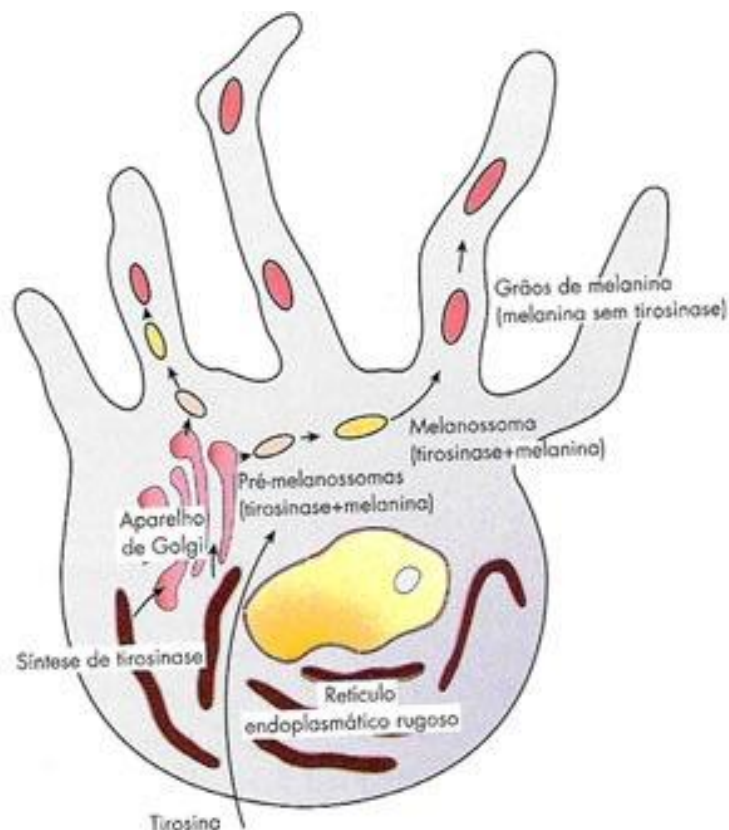


Figura 1 - Desenho esquemático da ultraestrutura de um melanócito presente na epiderme, onde a partir da entrada da tirosina para dentro da célula, inicia-se a cascata de eventos no complexo de Golgi para a produção da melanina com ação da enzima tirosinase. Em seguida a melanina polimerizada deposita-se em pequenas vesículas denominada melanossomas, que se deslocam pelos prolongamentos dos melanócitos até saírem da célula, como grãos de melanina, e serem depositados no interior dos ceratinócitos (TOLEDO, 2004; MIOT et al., 2009).

Em humanos, a melanogênese ocorre inicialmente a partir da conversão da tirosina em DOPA e esta em DOPAquinona, através da oxidação realizada pela enzima tirosinase (GIEBEL et al., 1991). A partir desse momento, a presença ou ausência de cisteína irá determinar qual pigmento será sintetizado. Em caso de ausência de cisteína, DOPAquinona é convertida a DOPAcromo, em seguida, ocorre duas vias de degradação do DOPAcromo: uma que forma DHI (5,6-di-hidroindole) e outra que forma DHICA (ácido 5,6-di-hidroindole-2-carboxílico), monômeros de melanina, e então finalmente, desse processo a eumelanina, responsável pelas cores mais escuras como o marrom e o preto, é sintetizada (MIOT et al., 2009; LEVIN & STROH, 2011; DOLINSKA et al., 2016). Já em caso de presença de cisteína, DOPAquinona reage com a substância para síntese da feomelanina, responsável pela cor amarelo-avermelhado (MIOT et al., 2009; LEVIN & STROH, 2011; DOLINSKA et al., 2016) (Figura 2). Após o término da síntese, os melanossomas com pigmento sintetizado são depositados, através dos prolongamentos

dendríticos dos melanócitos, no interior dos ceratinócitos (células sintetizadoras de queratina), no caso da epiderme (MIOT et al., 2009; Cichorek et al., 2013).

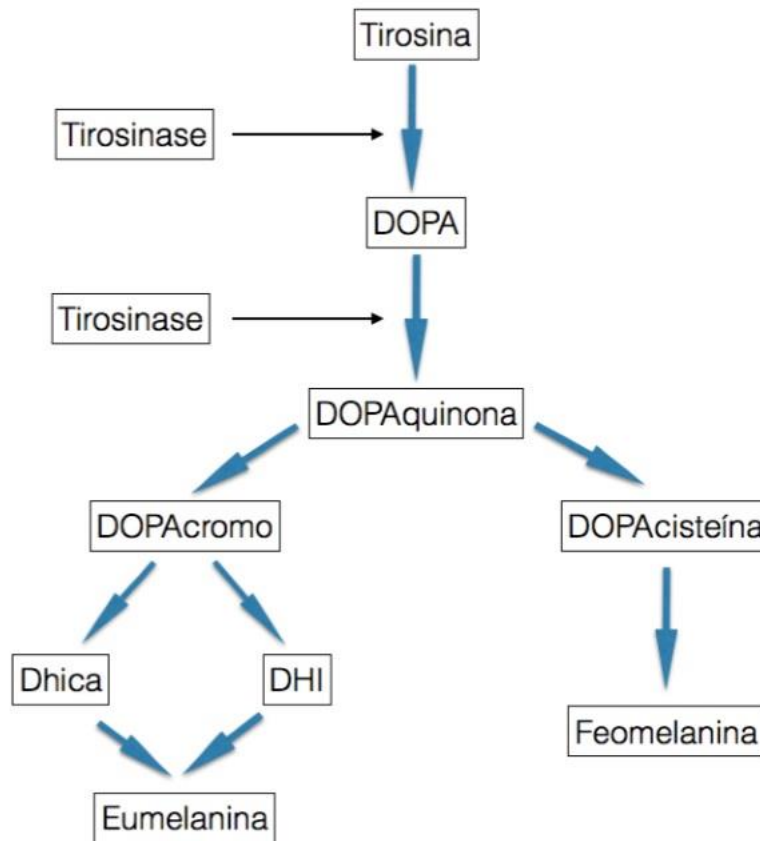


Figura 2- Esquema simplificado dos processos bioquímicos da melanogênese. A tirosinase catalisa duas etapas na síntese de melanina, incluindo a primeira e segunda reação: hidroxilação da DOPA e a oxidação da DOPA em DOPAquinona (LEVIN et al., 2011; KALAHROUDI et al., 2014; SANO, 2017).

1.2. Tipos de Albinismo e Sintomas

O albinismo pode ser classificado como:

1) **Albinismo ocular** (OA, do inglês, *Ocular Albinism*), caracterizado pela hipopigmentação, principalmente, nas células do epitélio pigmentado da retina e na íris, mantendo, em geral, uma pigmentação normal na pele e cabelos (SCHIAFFINO et al., 1996; FILLIPO et al., 2017). As mutações presentes nesse tipo de albinismo ocorrem no gene *GPR143* (também conhecido como OA1) localizado no Xp22.2 (GRONSKOV et al., 2019). O albinismo ocular apresenta um padrão de herança recessiva ligada ao cromossomo X (FUKUDA et al., 2015; FILLIPO et al., 2017).

Os sintomas do OA podem variar quanto a gravidade, são eles nistagmo, hipopigmentação da íris, que em casos extremos fica translúcida, redução ou ausência da pigmentação do epitélio pigmentado da retina, hipoplasia foveal, decussação anômala do nervo óptico, redução da acuidade visual, erros de refração, fotofobia, redução da visão estereoscópica e em alguns casos, observa-se redução na visão de cores (GRONSKOV et al., 2007; MÁRTINEZ-GARCIA & MONTOLIU, 2013; SANO, 2017; KRUIJIT et al., 2018).

2) Albinismo óculo-cutâneo (OCA, do inglês *Oculocutaneous Albinism*), grupo de albinismo com herança heterogênea e autossômica recessiva caracterizada pela falta total ou parcial de melanina, resultando na hipopigmentação do cabelo, pele e olhos (KAMARAJ & PUROHIT et al., 2014).

Todos os tipos de OCA e o OA apresentam sintomas e sinais oculares similares que podem variar quanto a sua gravidade (GRONSKOV et al., 2007).

O tipo de albinismo mais frequente é o OCA, que pode ser dividido em 7 subtipos, de acordo com o gene responsável pelo fenótipo (Tabela 1).

O albinismo afeta 1 em 17.000 indivíduos no mundo, porém sua prevalência varia entre o subtipo de OCA em diferentes etnias (DOLINSKA et al., 2017; MARTI et al., 2017; KRUIJIT et al., 2018). O OCA1 é o tipo mais comum encontrado entre os caucasianos e representam 50% dos casos de albinismo no mundo todo; OCA2 representa 30% da população mundial de albinos e é mais comum entre os africanos (revisão em KAMARAJ & PUROHIT, 2014). Também foram descritos outros subtipos de OCA, sendo eles o OCA3 mais comum no sul da África e o OCA4, encontrado predominantemente no Japão (revisão em KAMARAJ & PUROHIT, 2014), além dos tipos mais raros de OCA (OCA5, OCA6 e OCA7) (MONTOLIU et al., 2013).

Os dois subtipos de albinismo óculo-cutâneo mais comuns (OCA1 e o OCA2) foram objetos de estudo desse trabalho.

2.a) OCA1, causado por mutações em homozigose ou heterozigose composta, no gene *TYR* que expressa a enzima tirosinase podendo ser classificado em OCA1A e OCA1B (SIMEONOV et al., 2013; WANG et al., 2015).

O albinismo do tipo OCA1A é caracterizado pela ausência de produção de melanina desde o nascimento e no decorrer da vida devido a mutações que inibem a atividade da tirosinase de forma permanente (GRONSKOV et al., 2007; WANG et al.,

2015). OCA1A é o tipo mais grave de OCA por apresentar completa falta de produção de melanina durante a vida (KAMARAJ & PUROHIT et al., 2013). Experimentos *in vitro* realizados com a tirosinase humana indicam que em OCA1A as mutações são responsáveis por causar instabilidade e inativação da enzima tirosinase (DOLINSKA et al., 2016).

As características fenotípicas de OCA1A são, cabelo, cílios, sobrancelhas e pele brancos. A íris é azul, quase rosada e translúcida. Pigmentação não se desenvolve e podem apresentar pintas sem melanina. Os sintomas não variam conforme a idade ou raça. A fotofobia é intensa (KAMARAJ & PUROHIT, 2014);

No albinismo do tipo OCA1B pode-se observar uma pequena pigmentação na pele ou nos olhos ao longo da vida, pois as mutações no gene da tirosinase não alteram completamente a atividade desta enzima, ocorrendo uma pequena expressão do gene e acúmulo de melanina ao longo do tempo (GRONSKOV et al., 2007). Portanto, diferente das mutações de OCA1A, mutações de OCA1B são responsáveis por causar menos instabilidade na atividade enzimática. Muito pouco se sabe sobre como mutações individuais contribuem para os diferentes fenótipos, ou seja, para os diferentes níveis de pigmentação observados em albinos com OCA1B (DOLINSKA et al., 2017).

Para OCA1B, as características incluem desenvolvimento de alguma pigmentação na pele e no cabelo com o passar dos anos, e a íris de azul pode mudar para verde ou castanho (KAMARAJ & PUROHIT, 2014). A manifestação da pigmentação pode variar conforme a temperatura corpórea (OCA1-TS) em alguns casos, condição mais rara associada a mutação R402Q (WANG et al., 2005);

2.b) OCA2, a causa deste tipo de albinismo está em alterações no gene *OCA2* (KING et al., 2003). Interrupções na função da proteína P, expressa pelo gene *OCA2*, causam um trânsito anormal da tirosinase, a enzima chave para o processo de melanogênese, nos melanossomas após o processamento no retículo endoplasmático e complexo de Golgi (REBBECK et al., 2002; KONDO et al., 2015). O indivíduo com *OCA2* apresenta pigmentação desde o nascimento o que propicia uma variedade de fenótipos com pele e cabelos de diferentes graus de pigmentação (WANG et al., 2015). Existem poucos estudos na literatura a respeito da função da proteína P e sua função não está comprovada ainda, têm se concentrado principalmente em funções potenciais de transporte. (SIMEONOV et al., 2013). Experimentos *in vitro* com melanócitos de ratos e humanos, mostraram que defeitos no *OCA2* levam ao acúmulo de tirosinase na rede trans

Golgi, onde o peptídeo é transportado para a membrana plasmática e eventualmente secretados pela células (SIMEONOV et al., 2013).

Os indivíduos OCA2 apresentam uma quantidade de pigmentação na pele que pode variar. Os recém-nascidos apresentam pigmentação no cabelo e podem apresentar pintas e sardas sem pigmentação. A coloração da íris pode variar e o rosado da íris visto em OCA1A é geralmente ausente (KAMARAJ & PUROHIT, 2014).

3) **Albinismo associado a algumas síndromes**, menos comuns, como é o caso das síndromes “Hermansky – Pudlak syndrome” (HPS) e “Chédiak – Higashi syndrome” (CHS) (Tabela 1), que resultam em albinismo óculo-cutâneo e albinismo parcial, respectivamente (KAMARAJ & PUROHIT, 2014). Outras síndromes também estão relacionadas ao albinismo, sendo elas síndrome de Angelman e síndrome de Prader-Willi, ambas associadas ao OCA2 por se tratarem de deleções na região 15q11-q13 do cromossomo 15, envolvendo o gene *OCA2* (LEE et al., 1994; FRIDMAN et al., 2003).

Tabela 1 - Classificação do albinismo e outras síndromes relacionadas ao albinismo com seu gene e sua localização cromossômica, além do número de mutações encontradas já descritas para cada tipo de albinismo até 2019 (KAMARAJ & PUROHIT, 2014). Fonte: Base de Dados de Gene e Mutação Humana, 14 de Maio, 2019. ND: Não definido.

ALBINISMO	GENE	LOCALIZAÇÃO CROMOSSÔMICA	NÚMERO DE MUTAÇÕES
OCA1	<i>TYR</i>	11q14-q21	341
OCA2	<i>OCA2</i>	15q11.2-q12	177
OCA3	<i>TYRP1</i>	9p23	26
OCA4	<i>SLC45A2</i>	5p13.3	89
OCA5	ND	4q24	1
OCA6	<i>SLC24A5</i>	15q21.1	10
OCA7	<i>C10ORF11</i>	10q22.2-q22.3	1
OA	<i>GPR143</i>	Xp22.3	117
LYST	<i>CHS1</i>	1q42.1-q42.2	53
HPS1	<i>HPS1</i>	10q23.1-q23.3	32
AP3B1	<i>HPS2</i>	5q14.1	20
HPS3	<i>HPS3</i>	3q24	8
HPS4	<i>HPS4</i>	22cen-q12.3	14

proteína encurtada, que pode ou não ser funcional; ou *frameshift*, mutação que ocorre devido ao erro de leitura por inserção ou deleção de uma base do DNA, que altera então o códon, que por sua vez resulta numa síntese de outra proteína que em geral, não é funcional (U.S. National Library of Medicine, 2019). Já foram encontradas cerca de 350 mutações no gene *TYR* (Figura 3), sendo 77% *missense* (67% OCA1A e 33% OCA1B), 15% deleções e 3% inserções (KALAHROUDI et al., 2014; DOLINSKA et al., 2016).

O gene *TYR* é composto por 5 éxons (Figura 3) e corresponde a aproximadamente 65 Kb do DNA genômico, codificando cerca de 60 kDa de glicoproteína, com 529 aminoácidos (KALAHROUDI et al., 2014; WANG et al., 2015). Já o gene *OCA2* é bem maior, com 25 éxons, que variam de 250 a 600 kb de extensão, codificando cerca de 110 kDa de polipeptídio, com 838 aminoácidos (LEE et al., 1995; ROSEMBLAT et al., 1994).

A proteína codificada pelo gene *OCA2* (proteína P) contém 12 domínios transmembrânicos (Figura 4), que devido a sua estrutura e organização, sugere que a função dela seja de reconhecer a tirosinase e transportá-la para dentro da célula (LEE et al., 1995). Algumas mutações sintetizam diferentes aminoácidos como é o caso das mutações citadas na Figura 4 (LEE et al., 1995).

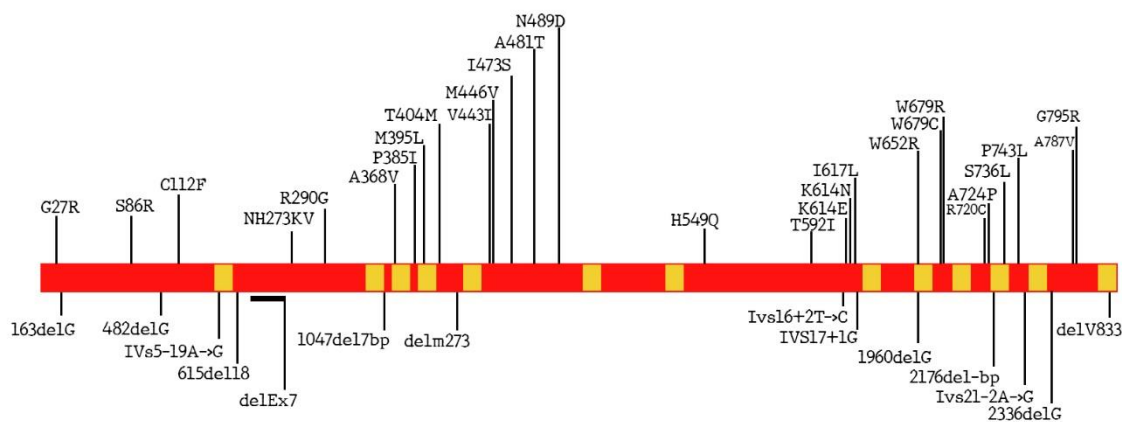


Figura 4 – Representação da região codificante do gene *OCA2*, com suas mutações *missense* na parte superior da figura e na parte inferior temos mutações *nonsense*, *frameshift* e *splice site* essa última mutação ocorre nas extremidades de um éxon e um intron – região de *splice* – e essa alteração pode interromper o *splicing* do RNA, que resulta na perda de éxons ou inclusão de introns, além de uma sequência alterada na síntese de proteínas (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2019). Fonte: <http://www.ifpcs.org/albinism/oca2map.htm>.

O diagnóstico de OCA é baseado em achados clínicos referentes a hipopigmentação da pele e cabelo, além dos sintomas oculares característicos. Os diferentes tipos de OCA são causados por mutações em diferentes genes, mas o fenótipo nem sempre é distinto. Por esse motivo é necessário um diagnóstico molecular, para

determinar a alteração do gene, e assim definir o subtipo de OCA (GRONSKOV et al., 2007).

Algumas mutações foram descritas na literatura como responsáveis por gerar os diferentes tipos de OCA: OCA1 - mutações no gene da tirosinase levam a uma alteração na orientação estrutural do *TYR*, a qual modifica a função da proteína, levando ao albinismo do tipo OCA1. OCA1A resulta na perda da atividade proteica; OCA1B a desestabilização é em menor grau, com atividades específicas mais baixas e estabilidade da proteína, em comparação a OCA1A (KAMARAJ et al., 2013; DOLINSKA et al., 2016); OCA2 – mutações no gene que expressa a proteína P alteram a função desta podendo causar perda da função catalítica da proteína P na biossíntese da melanina o que leva ao albinismo do tipo OCA2 (KAMARAJ & PUROHIT, 2013). Originalmente, foi pensado que a proteína P estava localizada predominantemente nos melanossomas, com função de regular seu pH, porém mais tarde outros estudos sugeriram que a proteína P se encontra ativa no retículo endoplasmático. Recentemente, foi relatado que a proteína P humana é rapidamente processada por enzimas relacionadas ao lisossomas, via BLOC-1, um complexo proteico envolvido no tráfego de proteínas (KONDO et al., 2015);

1.4. Visão no Albinismo

O albinismo provoca alterações em diferentes estruturas oculares o que causa deficiência e desconforto visual importantes. De acordo com o tipo de albinismo, a íris apresenta diferentes graus de rarefação pigmentar a ponto de apresentar transparência dos tecidos nos graus mais avançados, o que permite visualizar as estruturas internas da íris por transiluminação (KINNEAR et al., 1985). Devido a essa hipopigmentação, ocorre uma intensa fotofobia pelo aumento da passagem da luz que deveria ser refletida/absorvida pela íris, e acaba por atravessar suas estruturas, o que colabora para uma baixa visão (SEO, 2007).

Na retina pode-se observar alterações importantes na camada do epitélio pigmentado da retina e na mácula. A melanina nesse epitélio tem a função de reduzir a difusão de luz que incide no olho, de modo a ajudar no controle na reflexão da luz (KING & OLDS, 1985). Os albinos apresentam ausência ou redução do pigmento retiniano, o que piora o sintoma de fotofobia e baixa visão devido a reflexão da luz de forma exacerbada (KINNEAR, 1985).

A mácula é uma estrutura da retina com diâmetro de aproximadamente 5mm e é nela que está localizada a fóvea. Esta com diâmetro de 1mm, sem vascularização e com

alta concentração de cones. Nos albinos podemos ver que há a ausência ou hipoplasia da mácula, que pode estar relacionada com a baixa acuidade visual e nistagmo, presentes nos albinos (SUMMERS, 1996; PEREZ et al., 2014). No desenvolvimento normal da retina ocorre a migração das camadas internas da retina para regiões fora da fóvea, a migração dos cones para a fóvea e o alongamento dos fotorreceptores. Esse processo é identificado inicialmente no desenvolvimento da retina de albinos, porém ocorre um atraso e uma interrupção prematura da migração das células das camadas internas da retina, o que resulta na região central macular mais espessa que de indivíduos não albinos (LEE et al., 2015). A melanina pode ter um papel importante no direcionamento adequado junto com um crescimento correto das células retinianas (REESE, 2011).

Nos albinos, é possível observar que, apesar da hipoplasia foveal, a concentração de cones e a área central da fóvea apresenta uma grande variabilidade entre os indivíduos, não sendo obrigatória a presença da depressão foveal (Figura 5), vista em indivíduos não albinos para que ocorra o desenvolvimento funcional da mácula (MCALLISTER, 2010). Alguns albinos com acuidade visual 20/50, ou melhor, tem desenvolvimento rudimentar da fóvea (CHONG, 2009).

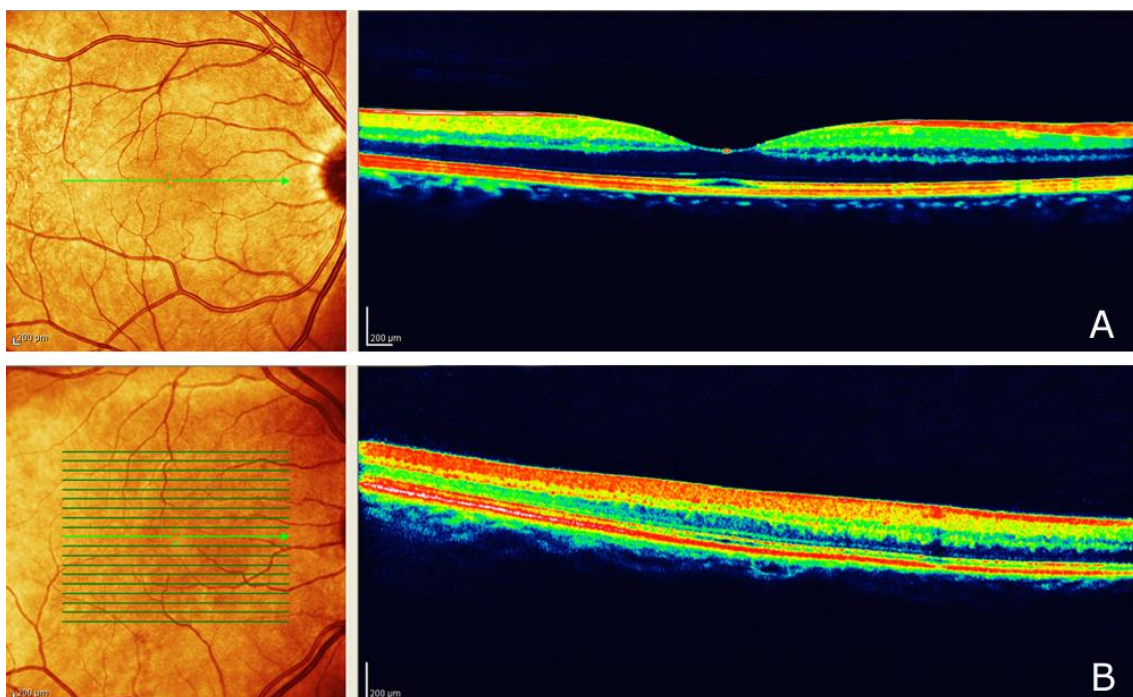


Figura 5 — Comparação da fóvea de um indivíduo não albino (A) com um indivíduo albino (B). Nas fotos da esquerda, temos o fundo do olho (área da fóvea) dos indivíduos enquanto as fotos da direita são imagens de OCT - Tomografia de Coerência Óptica - exame de imagem capaz de mostrar cortes seccionais das estruturas oculares com alta resolução, mostrando as camadas da retina, evidenciando que os indivíduos albinos não apresentam a depressão foveal, vista em indivíduos não albinos. Fonte: <http://webvision.med.utah.edu/book/electrophysiology/visual-and-auditory-anomalies-associated-with-albinism/>

1.5. Contextualização

Ainda não existe cura para o albinismo. Onojafe e colaboradores (2011) realizaram um experimento com camundongos portadores de deficiências no gene *TYR*, modelo para albinismo do tipo OCA1A e OCA1B. Neste experimento os autores tinham como objetivo aumentar a concentração de tirosina no plasma a partir da nitisinona, um inibidor da degradação da tirosina, o que poderia estabilizar a tirosinase e aumentar a pigmentação. Os resultados mostraram que o aumento da tirosina melhorou a estabilidade da tirosinase no modelo de albinismo OCA1B o que aumentou a pigmentação na pele e íris assim como o número de melanossomas pigmentados. Em suma, os autores sugerem que o uso da nitisinona pode melhorar a pigmentação e as funções visuais em pessoas com albinismo do tipo OCA1B. Desse modo, dependendo da mutação que o indivíduo apresentar, caso venha a ser desenvolvido um tratamento para o albinismo, é muito importante que o indivíduo conheça sua mutação para um tratamento correto.

O diagnóstico dermatológico para identificar um indivíduo albino, que ocorre através da anamnese realizada por um médico a partir da análise da pigmentação da pele, olhos e cabelos, tem sido substituído depois dos avanços da biologia molecular, passando de análise fenotípica para análise genotípica, uma vez que existem genes diferentes responsáveis por cada variante, evitando assim erros no diagnóstico (CARDEN et al., 1998).

Sendo assim, é possível observar a necessidade da combinação de diferentes metodologias de descrição fenotípica e caracterização gênica a fim de proporcionar uma melhor conduta clínica para tratamento do indivíduo e aconselhamento genético, de acordo com o padrão de herança identificada.

2. JUSTIFICATIVA

A caracterização das mutações que causam os diferentes tipos de albinismo e como essas mutações resultam nos diferentes fenótipos observados no OCA2 é importante para a melhor compreensão dos mecanismos que causam o albinismo. A exemplo do que acontece no OCA1A e OCA1B, podem haver mutações no gene *OCA2*, outro gene estudado nesse trabalho, que conferem mais ou menos pigmentação, sendo importante o estudo genético das causas do albinismo para auxiliar no tratamento dos indivíduos.

O diagnóstico preciso do tipo de albinismo que um indivíduo possui não depende somente dos achados clínicos a partir dos exames oftalmológicos, com a classificação dermatológica realizada. É necessário que haja uma correlação entre esses achados com as alterações moleculares para uma caracterização clara da condição do sujeito.

A caracterização genética combinada aos achados clínicos proporciona uma conduta médica mais adequada visando um tratamento direcionado e orientações familiares a respeito do caráter hereditário dos fatores genéticos.

Uma vez que essa relação seja bem estabelecida, pode-se projetar um plano de políticas públicas, de forma que a identificação do tipo de albinismo e tratamento tornem-se mais acessíveis aos indivíduos afetados.

Portanto, a partir do diagnóstico dermatológico, foram feitas as análises genéticas a fim de comprovação do resultado. Também foi comparado o resultado do diagnóstico genético com os resultados nos exames oftalmológicos.

Este trabalho foi realizado a partir do programa “Pró-Albino”, da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

3. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi realizar o diagnóstico genético em 21 albinos acompanhados na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo e correlacionar os achados com o diagnóstico dermatológico e alterações oftalmológicas.

3.1. Objetivos Específicos

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Identificar as mutações genéticas presentes nos genes *TYR* e *OCA2* responsáveis pelo albinismo nos participantes avaliados;
- Comparar o diagnóstico genético com o diagnóstico dermatológico com os resultados das alterações oftalmológicas obtidos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Aspectos Éticos

Todos os procedimentos experimentais obedecem às normas vigentes da comissão de ética da Universidade de São Paulo. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética. CAAE: 06857513.5.0000.5561. (Anexo I).

4.2. Participantes

Em 21 sujeitos albinos (homens N=11 e mulheres N=10), com faixa etária entre 6-70 anos, atendidos na Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, foram coletadas amostras de sangue em tubo contendo EDTA com anticoagulante (Tabela 2).

4.3. Análises Genéticas

4.3.1. Extração de DNA

A extração do DNA foi realizada com o *Gentra® Puregene®* de acordo com o protocolo proposto pelo fabricante, utilizando 3ml de sangue. Após extração, as amostras foram armazenadas a -20°C.

4.3.2. Reação em Cadeia de Polimerase

A reação de PCR foi realizada com o *kit Platinum® Taq DNA Polymerase (Life Technologies)* de acordo com o protocolo do fabricante. Para cada amostra foi utilizada água destilada (H₂O_d) autoclavada, tampão (10x *Buffer*), 10mM de deoxinucleotídeos trifosfatos (dNTPs), 20mM do iniciador direto (*Primer Forward*), 20mM do iniciador reverso (*Primer Reverse*), 1,5 µl de cloreto de magnésio (MgCl₂) e 0,2 µl da enzima *Platinum Taq*. Ao volume total da reação (49µl) foi adicionado 1µL da amostra de DNA. Um controle negativo, sem amostra de DNA, e um controle positivo com DNA padronizado para a reação foram incluídos em todos os experimentos. A PCR foi realizada no termociclador *Veriti® Thermal cycle (Life Technologies)*.

As condições de PCR foram: 94°C por 1 minuto, 37 ou 35 ciclos de 94°C por 15 segundos, temperatura de *annealing* por 30 segundos e temperatura de extensão a 72°C por 30 segundos, finalizando com 72°C por 7 minutos, e 4°C para armazenamento. A

temperatura de *annealing* é específica para cada *primer*, as quais variaram de 53 a 61 graus celsius, conforme Anexo II e III.

Os resultados da PCR foram visualizados em gel de agarose (2%), após eletroforese, e fotografados no sistema de fotodocumentação AlphaImager® mini (*Protein Simple*).

4.3.3. Purificação das Amostras

A purificação das amostras foi realizada com o kit *Illustra™ GFX™ PCR DNA and Gel Band purification (GE Healthcare)* de acordo com as instruções do fabricante.

4.3.4. Sequenciamento das Amostras

O sequenciamento das amostras foi realizado com o kit *Big Dye Terminator (Life Technologies)* utilizando o sequenciador 3500xL (*Life Technologies*) do Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa do Hospital Israelita Albert Einstein em São Paulo. Os resultados foram analisados com o programa *BioEdit v7.2.5*. As sequências de referência para comparação dos resultados foram obtidas no *genebank* tanto para o gene *TYR* (M27160.1, NM_000372.4) quanto para o gene *OCA2* (NG_009846.1, NM_000275.2).

4.3.5. Comparação das Análises Moleculares com o Diagnóstico

Dermatológico

Todos os participantes (N=21) realizaram uma consulta dermatológica no setor de dermatologia da Santa Casa. Dois dermatologistas (MM e CM) examinaram os participantes através de uma avaliação à ectoscopia e assim realizaram o diagnóstico do tipo de albinismo com base na pigmentação dos olhos, pele e cabelo.

4.3.6. Avaliações Oftalmológicas e a Relação com o Diagnóstico

Genético

Todos os participantes (N=21) passaram por uma consulta oftalmológica completa no setor de oftalmologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. Foram realizados por um único profissional (RS) os seguintes exames:

- Biomicroscopia por lâmpada de fenda com foto, para a avaliação do grau de transiluminação da íris (GTI);
- Teste de acuidade visual pela tabela de Snellen, com a melhor correção óptica e localizados a 6 metros de distância do optotipo.
- Retinografia (3D CT 1000, *Topcon*), após midríase medicamentosa para determinação do grau de transparência da retina.

O GTI e o GTR foram classificados de acordo com os parâmetros proposto por SANO (2017), conforme ilustrado nas Figuras 6 e 7.

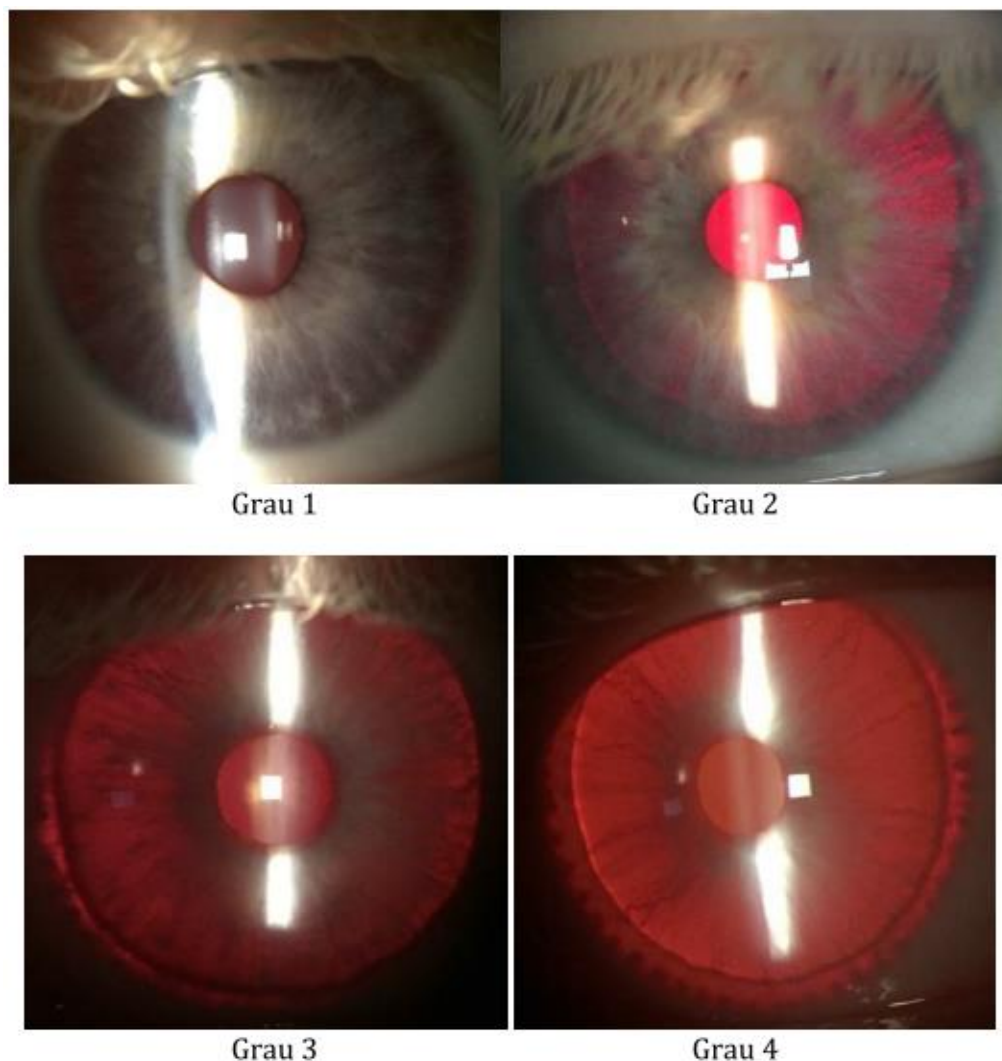


Figura 6 – Classificação do grau de transiluminação da íris em albinos, proposto por SANO (2017). Grau 1: Raras áreas pontuais de transiluminação irídica na periferia da zona ciliar da íris. Pigmentação irídica intensa; Grau 2: Áreas pontuais de transiluminação irídica de forma difusa ou irregular, em toda zona ciliar da íris. Pigmentação irídica moderada; Grau 3: Presença de pigmentação somente na zona pupilar da íris. Transparência importante da zona ciliar, possibilitando observar áreas da vascularização da íris. Pigmentação irídica mínima; e Grau 4: Ausência completa de pigmentação da íris, possibilitando observar toda a vascularização da íris, transiluminação total.

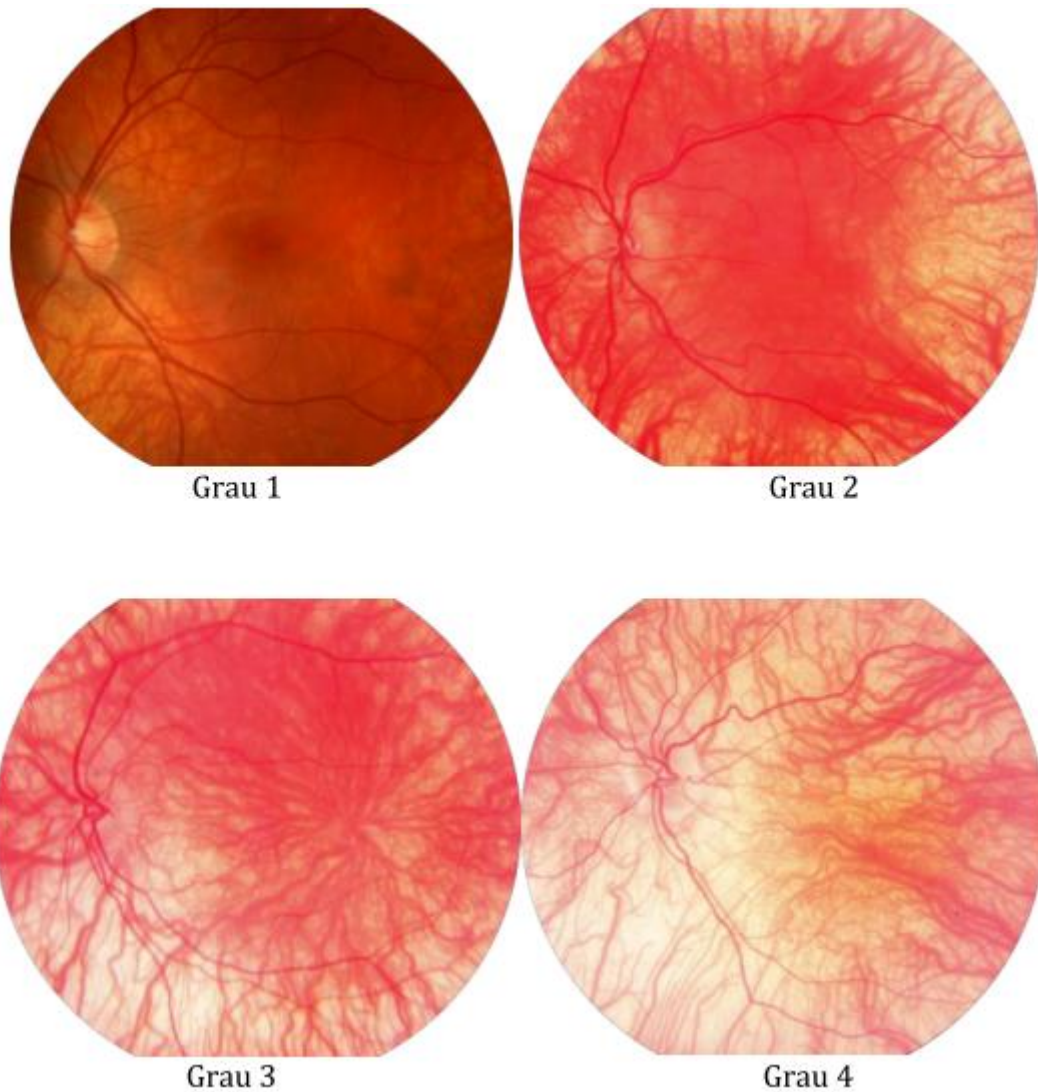


Figura 7 – Classificação do grau de transparência da retina em albinos, proposto por SANO (2017). Grau 1: Pigmentação do Epitélio Pigmentado da Retina (EPR) intensa, que se estende da região do polo posterior, passa pela área das arcadas vasculares temporais e chega até a região periférica da retina. A pigmentação pode apresentar padrão irregular. Grau 2: Pigmentação do EPR moderada, que se estende da região do polo posterior até a área das arcadas vasculares temporais. A pigmentação pode apresentar padrão irregular; Grau 3: Pigmentação do EPR mínima, localizada na região do polo posterior da retina. A pigmentação pode apresentar padrão irregular; e Grau 4: Ausência completa de pigmentação do EPR em toda a retina.

5. RESULTADOS

5.1. Diagnóstico Genético

A classificação genética do albinismo foi realizada em 21 albinos de acordo com o gene no qual foi identificada a mutação, sendo albinismo do tipo OCA1 para mutações encontradas no gene *TYR* e albinismo do tipo OCA2 para mutações no gene *OCA2*. No total, foram encontradas quatro mutações diferentes nos indivíduos OCA1 e sete mutações diferentes nos indivíduos OCA2 (Tabela 2). Das mutações encontradas, THR > 445 > PRO no gene *OCA2* é inédita na literatura.

Do total de participantes analisados, 13 apresentaram mutações em homozigose, sendo dois deles com uma mutação no gene *TYR* e 11 com uma mutação no gene *OCA2* (Tabela 2). Um dos participantes com mutação no gene *TYR* apresentou duas mutações em homozigose (1). Todos os albinos com mutações em homozigose no gene *OCA2* apresentaram a mutação C > 913 > T que resulta na substituição do aminoácido arginina pelo triptofano no sítio 305 (ARG > 305 > TRP). Os participantes com mutações em homozigose no gene *TYR* apresentaram 3 mutações diferentes: T > 740 > C que resulta na substituição do aminoácido cisteína pela arginina no sítio 247 (CYS > 247 > ARG); G > 1205 > A, que confere uma troca do aminoácido arginina pela glutamina no sítio 402 (ARG > 402 > GLN); e C > 346 > T que confere uma troca do aminoácido arginina por um *stop codon* (códon de parada) (ARG > 116 > STOP).

Tabela 2 – Tabela com dados dos albinos. Resultados desse trabalho e de Sano (2017).

AMOSTRA	IDADE	SEXO	DIAGNÓSTICO DERMATOLÓGICO	DIAGNÓSTICO GENÉTICO	AV		GTR	GTI	MUTAÇÃO	AMINOÁCIDO	EXON	GENE	HETEROZIGOSE COMPOSTA
					OE	OD							
1	41	F	OCA1	OCA1	0,9	0,9	4	3	T > 740 > C G > 1205 > A	CYS > 247 > ARG ARG > 402 > GLN	1 4	TYR	NÃO
2	39	F	OCA1	OCA1	1	0,5	3	4	C > 346 > T	ARG > 116 > STOP	1	TYR	NÃO
14	33	F	OCA1	OCA1	0,7	0,9	2	4	G > 896 > R	ARG > 299 > HIST	2	TYR	SIM
3	37	F	OCA2	OCA2	0,5	0,5	2	2	C > 913 > T	ARG > 305 > TRP	9	OCA2	NÃO
4	26	M	OCA2	OCA2	0,7	0,7	3	4	C > 913 > T	ARG > 305 > TRP	9	OCA2	NÃO
5	ND	M	OCA1	OCA2	0,7	0,9	2	2	C > 913 > T	ARG > 305 > TRP	9	OCA2	NÃO
6	ND	M	OCA1	OCA2	0,3	0,4	2	2	C > 913 > T	ARG > 305 > TRP	9	OCA2	NÃO
7	ND	M	OCA2	OCA2	>1	>1	ND	2	C > 913 > T	ARG > 305 > TRP	9	OCA2	NÃO
8	39	M	OCA2	OCA2	1	1	2	4	C > 913 > T	ARG > 305 > TRP	9	OCA2	NÃO
9	ND	M	OCA2	OCA2	0,7	0,7	ND	4	C > 913 > T	ARG > 305 > TRP	9	OCA2	NÃO
10	17	F	OCA2	OCA2	1	1	4	3	C > 913 > T	ARG > 305 > TRP	9	OCA2	NÃO
11	51	F	OCA2	OCA2	0,7	1	3	4	C > 913 > T	ARG > 305 > TRP	9	OCA2	NÃO
12	58	F	OCA1	OCA2	1	>1	2	3	C > 913 > T	ARG > 305 > TRP	9	OCA2	NÃO
13	30	M	OCA2	OCA2	0,9	0,7	2	4	C > 913 > T	ARG > 305 > TRP	9	OCA2	NÃO
15	ND	M	OCA2	OCA2	1	1	3	3	C > 913 > Y	ARG > 305 > TRP	9	OCA2	SIM
16	ND	F	OCA2	OCA2	1	1	2	4	C > 913 > Y G > 1329 > R	ARG > 305 > TRP VAL > 443 > ILE	9 13	OCA2	SIM
17	6	F	OCA2	OCA2	0,2	0,3	ND	1	C > 913 > Y G > 1329 > R	ARG > 305 > TRP VAL > 443 > ILE	9 13	OCA2	SIM
18	49	M	OCA2	OCA2	1	0,9	2	3	G > 1256 > R A > 1192 > R	ARG > 419 > GLN ALA > 398 > VAL	13 12	OCA2	SIM
19	9	M	OCA2	OCA2	0,3	0,2	2	1	G > 1329 > R G > 2208 > S	VAL > 443 > ILE SER > 736 > LEU	13 21	OCA2	SIM
20	70	M	OCA2	OCA2	0,2	0,2	2	2	G > 1329 > R A > 1180 > R	VAL > 443 > ILE MET > 394 > ILE	13 12	OCA2	SIM
21	6	F	OCA2	OCA2	1	1	2	2	A > 1333 > M C > 913 > T	ARG > 305 > TRP THR > 445 > PRO	9 13	OCA2	SIM

A tabela 2 apresenta também os albinos e suas mutações em heterozigose (heterozigose composta). O albino número 21 apresentou duas mutações, uma em homozigose e outra em heterozigose. Dois deles (14 e 15) apresentaram apenas uma mutação em heterozigose, sendo elas, G > 896 > R que confere na alteração do aminoácido arginina por histidina no sítio 299 (ARG > 299 > HIST) no gene *TYR* e C > 913 > Y que confere uma substituição do aminoácido arginina pelo triptofano no sítio 305 (ARG > 305 > TRP) no gene *OCA2*, respectivamente.

As demais mutações em heterozigose encontradas no gene *OCA2* são:

- G > 1329 > R que altera o aminoácido valina por isoleucina no sítio 443 (VAL > 443 > ILE);
- G > 1256 > R que confere uma troca do aminoácido arginina por glutamina no sítio 419 (ARG > 419 > GLN);
- A > 1192 > R que confere a troca do aminoácido alanina por valina no sítio 398 (ALA > 398 > VAL);
- G > 2208 > S que altera o aminoácido serina por leucina no sítio 736 (SER > 736 > LEU);
- A > 1180 > R que ocorre a substituição do aminoácido metionina por isoleucina no sítio 394 (MET > 394 > ILE);
- A > 1333 > M que altera o aminoácido treonina por prolina no sítio 445 (THR > 445 > PRO).

Dos albinos que apresentaram heterozigose composta (Tabela 2), foram realizadas análises genéticas da mãe não albina do participante 17 para determinação da hereditariedade das mutações. O resultado foi a presença de uma das mutações em heterozigose G > 1329 > R, no éxon 13 do gene *OCA2*, que resulta na substituição dos aminoácidos VAL > 443 > ILE, o que sugere que a segunda mutação em heterozigose foi herdada pelo pai.

5.2. Comparação das Análises Moleculares com o Diagnóstico

Dermatológico

Todos os 21 albinos foram clinicamente diagnosticados com o tipo de albinismo de acordo com a dermatologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, em OCA1 (N=6) e OCA 2 (N=15). As análises genéticas resultaram em três participantes classificados com albinismo tipo OCA1 e 18 com albinismo tipo OCA2 (Tabela 2). Desta

forma, o diagnóstico genético e dermatológico estão de acordo em 18 albinos e em desacordo em três.

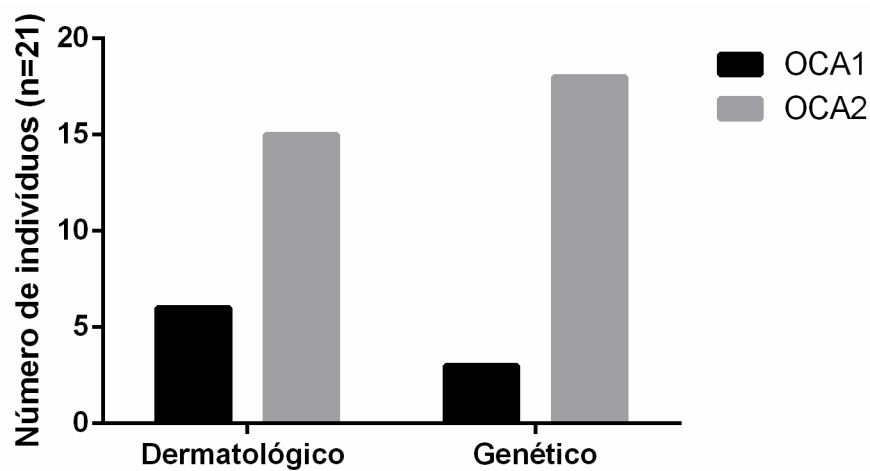


Figura 8 – Teste exato de Fisher para diagnóstico dermatológico e genético.

Esse teste compara a acurácia do diagnóstico dermatológico e genético e de acordo com a Figura 8, é possível notar que apesar de terem algumas diferenças, não é significativo.

5.3. Avaliações Oftalmológicas e a Relação com o Diagnóstico

Genético

O diagnóstico oftalmológico consistiu na análise dos resultados de três aspectos visuais: a acuidade visual (AV), o grau de transparência da retina (GTR) e o grau de transiluminação da íris (GTI).

A análise da AV resultou em oito variantes que podem ser conferidas na Tabela 2.

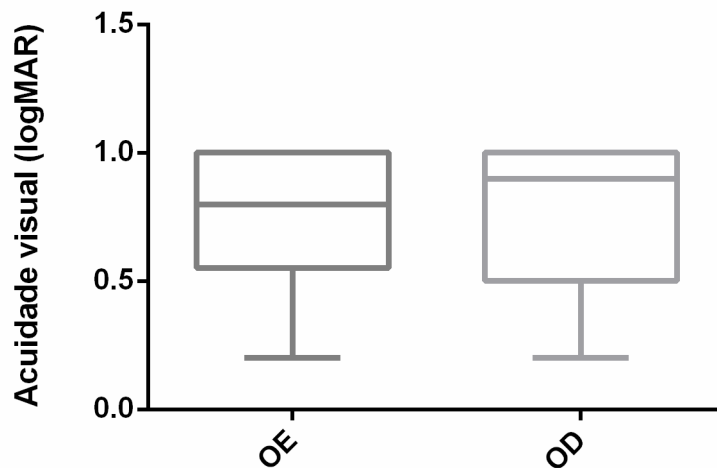


Figura 9 – Teste T pareado para AV em ambos os olhos.

O resultado do teste T pareado, conforme podemos analisar na Figura 9, mostrou que a acuidade visual em ambos os olhos é semelhante e não apresentou diferença estatisticamente significativa.

Os resultados da retinografia, que indicam o GTR, foram de 12 albinos para grau 2; quatro para grau 3; e dois para grau 4, que podem ser conferidos na Tabela 2. Em nenhum participante foi encontrado grau 1. Três albinos não realizaram esse teste oftalmológico. De acordo com os resultados encontrados não houve uma grande relação entre GTR e genética, apenas é possível perceber que os albinos com a mutação ARG > 305 > TRP não apresentaram grau 1, grau mais leve, nos seus resultados.

Para a foto da íris, o GTI foi determinado sendo dois deles avaliados como grau 1; seis para grau 2; cinco para grau 3; e oito para grau 4, de acordo com a Tabela 2. A partir dos resultados é possível relacionar o GTI com algumas mutações encontradas em heterozigose composta, conferindo uma melhor pigmentação da íris nesses albinos, sendo elas ARG > 305 > TRP e VAL > 443 > ILE, os resultados mostraram que os participantes com heterozigose composta apresentam uma menor gravidade da pigmentação da íris.

Na tabela 2, pode-se comparar os resultados do diagnóstico oftalmológico com as classificações de AV, GTI e do GTR para cada participante.

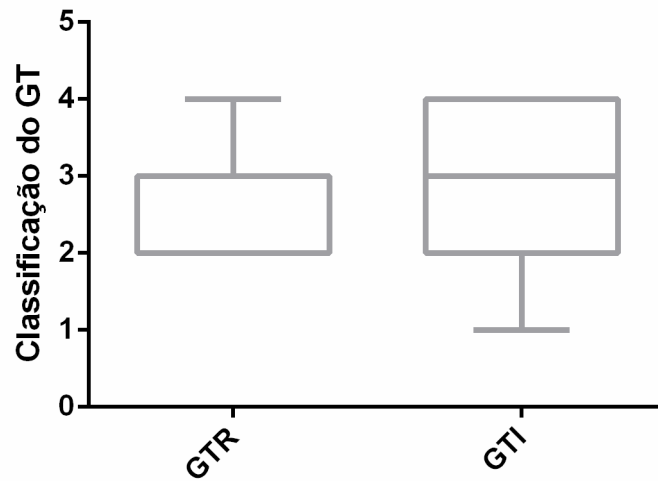


Figura 10 – Teste de Wilcoxon para GTR e GTI.

A partir da Figura 10 é possível observar que houve diferença entre GTR e GTI. Também foi realizado um teste anova com comparações múltiplas, que apresentou diferença entre AV, GTR e GTI.

6. DISCUSSÃO

6.1. Diagnóstico Genético

O diagnóstico genético é a única forma para identificar a mutação presente no indivíduo. O albinismo apresenta muitos tipos e subtipos, além de síndromes associadas com fenótipo semelhantes, sendo então seu diagnóstico confirmado única e exclusivamente através da análise genética (KAMARAJ & PUROHIT, 2014).

A partir da tabela 2 verificamos que todos os participantes analisados são OCA1 ou OCA2, que são os dois tipos mais frequentes no mundo (KAMARAJ & PUROHIT, 2014). O fenótipo dos albinos com OCA2 é amplamente variável, podendo conferir mais ou menos pigmentação, provavelmente variante determinada de acordo com a mutação que o indivíduo apresenta (LEE et al., 1994).

Nesse estudo encontramos mutações em heterozigose nos dois genes analisados, *TYR* e *OCA2*. Na mutação ARG > 402 > GLN, encontrada no gene *TYR*, temos uma alteração de nucleotídeos no códon 402 de CGA para CAA. Essa mutação está intimamente ligada ao albinismo do tipo OCA1 como sensível a temperatura, porém sozinha, essa mutação não é suficiente para causar o fenótipo, uma vez que os albinos portadores dessa mutação em homozigose não apresentam sinais clínicos de albinismo (OETTING et al., 2009; PREISING et al., 2011; SIMEONOV et al., 2013). Porém, como vimos no participante 1, portador da mutação ARG > 402 > GLN, apresenta também uma segunda mutação, justificando assim seu fenótipo para albinismo.

Todas essas mutações descritas anteriormente, tanto para o gene *TYR* quanto para o gene *OCA2*, encontradas em nossas análises estão diretamente relacionadas ao albinismo e foram descritas na literatura, que podem ser conferidas no banco de dados *The Human Gene Database* (HGMD), com exceção de uma mutação, que foi encontrada em heterozigose (THR > 445 > PRO) no participante 21, que confere a alteração do códon 445 não foi descrita no banco de dados HGMD, podendo essa ser uma nova mutação encontrada. Com exceção de uma mutação encontrada nesse trabalho, todas as mutações são do tipo *missense*, tipo de mutação que leva a alteração do aminoácido na proteína sintetizada de forma que altera sua função.

Também com base nos resultados obtidos, observa-se que a mutação mais frequente nesses albinos é a mutação ARG > 305 > TRP encontrada no éxon 9 do gene *OCA2*, que provavelmente quando associada a mutação ARG > 419 > GLN confere uma maior pigmentação (REBBECK et al., 2002).

O albinismo é uma doença de herança autossômica recessiva, o que sugere que as mutações estejam em homozigose ou heterozigose composta, pois a mutação precisa estar nos dois alelos, do mesmo gene, para que ocorra a doença (WANG et al., 2015). Com base nos resultados observados na Tabela 2, podemos analisar que seis participantes (16, 17, 18, 19, 20 e 21) apresentaram duas mutações que foram encontradas em heterozigose, caracterizada como heterozigose composta (LEE et al., 1994). Essas mutações estão presentes no mesmo gene mas em alelos diferentes o que prejudicaria a expressão da proteína por ambos alelos, resultando no fenótipo de albinismo (KAMARAJ & PUROHIT, 2014). Para dois albinos (14 e 15) ainda não foi detectada a segunda mutação em heterozigose, o que justificaria o fenótipo, porém é possível afirmar que eles apresentam uma segunda mutação que confirme o albinismo. Outro fator que pode ser justificado, seria o que ocorre no indivíduo 21, que apresentou duas mutações, uma em heterozigose e outra em homozigose, porém a mutação em homozigose já justifica sozinha o fenótipo do sujeito.

Foi feita a análise do DNA da mãe, não albina e portadora, de um participante (17) para rastreamento da herança da mutação e identificamos que a mutação VAL > 443 > ILE foi herdada da mãe e que provavelmente a mutação ARG > 305 > TRP foi herdada do pai, não albino e portador.

É provável que os indivíduos que apresentam mutações em heterozigose composta apresentem um fenótipo menos grave que os indivíduos com mutação em homozigose (WANG et al., 2015).

6.2. Comparação das Análises Moleculares com o Diagnóstico

Dermatológico

Nos dias de hoje, o diagnóstico dermatológico para identificação do albinismo não é mais tão aceito depois que conseguimos realizar o diagnóstico a partir da análise molecular (CARDEN et al., 1998). No entanto, a realidade financeira dos países em desenvolvimento impede o acesso ao diagnóstico genético devido ao alto valor do seu custo. Porém podemos observar através da Figura 8, que o diagnóstico dermatológico se mostrou preciso em relação ao diagnóstico genético. Nestes países, o diagnóstico clínico dermatológico e oftalmológico é o único recurso disponível. Portanto, estabelecer uma correlação genética com as características clínicas é de suma importância, além de poder diminuir a extensão na análise molecular caso haja uma suspeita clínica (KRUIT et al., 2018).

Pouco se sabe a respeito da correlação entre o fenótipo e genótipo dos albinos e a variabilidade de fenótipos que existe (MARTI et al., 2017).

Os resultados apresentados nesse trabalho mostraram que as mutações encontradas no diagnóstico genético confirmaram o diagnóstico dermatológico previamente realizado em 18 dos 21 participantes (Tabela 2). O diagnóstico dermatológico realizado por médicos experientes obteve aproximadamente 85% de acerto. Embora o método clínico não seja o ideal para o diagnóstico preciso, ele não é ineficaz quando esta é a única ferramenta disponível no tratamento do albinos.

Nos três participantes que apresentaram discordância entre diagnóstico dermatológico e diagnóstico genético essa segunda análise se mostrou extremamente importante para uma conclusão de resultados do tipo de albinismo que o sujeito apresenta, uma vez que existe um variado espectro de fenótipos de albinos podendo ser facilmente confundidos sem a confirmação do diagnóstico genético (KAMARAJ & PUROHIT, 2014).

A confirmação do tipo de albinismo é importante, entre outros fatores, para futuros tratamentos e terapias, como por exemplo o que foi feito com a nitisinona, no trabalho de Onojafe e colaboradores (2011) com o objetivo de melhorar a qualidade de vida dos albinos, pois os albinismos dos tipos OCA1 e OCA2 se diferenciam principalmente pelo fato de que no primeiro tipo não há produção de melanina desde o nascimento (OCA1A) ou há um aumento na pigmentação conforme a idade (OCA1B) e no tipo OCA2 há hipopigmentação desde o nascimento (GRONSKOV et al., 2007; KAMARAJ & PUROHIT, 2013; WANG et al., 2015.)

Outra importância do diagnóstico genético é o diagnóstico precoce nas síndromes associadas ao albinismo como HPS e CHS. Estas formas sindrômicas estão associadas a alterações clínicas graves, quando diagnosticadas com antecedência permitem o tratamento preventivo e melhora importante da qualidade de vida destes albinos.

6.3. Avaliações Oftalmológicas e a Relação com o Diagnóstico

Genético

De acordo com a Tabela 2, podemos observar que os 11 participantes classificados como OCA2 e que apresentam a mesma mutação, R305W, tiveram uma grande variação na acuidade visual, provavelmente a baixa de acuidade visual dos albinos decorre de um conjunto de alterações oftalmológicas, ela é multifatorial e não está relacionada ao tipo de mutação e sim a outros fatores não analisados neste trabalho. Em geral, os albinos que

são OCA2 apresentam déficits visuais menos graves do que os albinos que são OCA1 (LEE et al., 1994).

Entre os albinos OCA2, ao analisar o GTR, observamos que nenhum apresentou grau 1 nessa classificação, podendo ser de grau 2 a 4, conforme indica a Tabela 2. Este resultado demonstra que os albinos que possuem a mutação R305W, no gene OCA2, provavelmente não apresentam um grau leve (1) no GTR.

Todos os participantes que apresentaram grau 1 ou 2 para GTI são OCA2, podendo ser mais leve sua gravidade em relação aos albinos OCA1. Esses mesmos participantes apresentaram pelo menos uma das duas mutações (possuem heterozigose composta) ARG > 305 > TRP ou VAL > 443 > ILE, podendo essas mutações estarem relacionadas a uma melhor pigmentação da íris, indicando que os albinos com heterozigose composta apresentam uma gravidade menor dos seus fenótipos (WANG et al., 2015). Três dos quatro participantes com a mutação VAL > 443 > ILE (17, 19 e 20) apresentaram uma melhor acuidade visual em relação aos demais albinos OCA2, que podemos conferir na Tabela 2, podendo também essa mutação estar associada a uma melhor acuidade visual. Esses mesmos três participantes também apresentam um GTR de grau 2, considerado mais leve, que pode ser também associada a mutação VAL > 443 > ILE. Porém, o albino 16 apresentou a mesma mutação e possui GTI e AV piores, contradizendo a hipótese anterior.

De acordo com a Figura 10, é possível perceber que GTR e GTI não possuem uma correlação direta, o que pode indicar que eles tem origem diferente no desenvolvimento. Um estudo envolvendo a correlação entre as análises genéticas e oftalmológicas, mostrou não haver diferenças estatísticas entre GTI e GTR (MARTI et al., 2017). Pode ser observado nesse trabalho, que em um modo geral, as alterações oftalmológicas se mostram mais intensas nos albinos OCA1 em relação a indivíduos OCA2, como podemos ver na Tabela 2, através dos participantes 1, 2 e 14 (MARTI et al., 2017).

De acordo com um estudo realizado por Rebbeck e colaboradores (2002) a mutação ARG > 305 > TRP e a mutação ARG > 419 > GLN podem influenciar a coloração da íris.

7. CONCLUSÃO

Os participantes foi possível identificar as mutações que causam o fenótipo da doença e classificá-los pelo tipo de albinismo.

Em cinco de oito albinos foram identificadas duas mutações em heterozigose. Em um indivíduo foi encontrada uma mutação em heterozigose e uma em homozigose, essa última já caracterizando o fenótipo. Em dois participantes identificamos apenas uma mutação em heterozigose, sendo necessário a identificação da segunda mutação em heterozigose para justificar a heterozigose composta.

O diagnóstico genético se mostrou de extrema importância para a confirmação e identificação do tipo de albinismo sugerido dermatologicamente, uma vez que não houve plena concordância entre os diagnósticos dermatológicos e genéticos, embora a taxa de concordância tenha sido alta (85%) para avaliações realizadas por dermatologistas experientes.

Apesar de correlacionar a mutação VAL > 443 > ILE a um fenótipo menos grave que as demais mutações, não podemos afirmar que houve algum tipo de correlação entre as mutações encontradas com as alterações oftalmológicas estudadas, uma vez que nesse estudo um albino com essa mutação apresentou grau 4 para GTI e acuidade de 1 nos dois olhos. O mesmo também acontece quando relacionamos as variantes oftalmológicas, AV, GTR e GTI.

8. REFERÊNCIAS

BARTON, D. E.; KWON, B. S.; FRANCKE, U. Human tyrosinase gene, mapped to chromosome 11 (q14---q21), defines second region of homology with mouse chromosome 7. *Genomics*. Vol. 1. 1988. p.17-24.

CARDEN, S., M.; BOISSY, R., E.; SCHOETTKER, P., J.; GOOD, W., V. Albinism: modern molecular diagnosis. *British Journal of Ophthalmology*. Vol. 82. 1998. p.189-195.

CASTILLO, M. M. M.; DOMENECH, I. E.; GUEROLA, J. V. S. Albinismo. *Revista Clínica de Medicina da Família*. Disponível em <http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-695X2013000200007&lang=pt> Acesso em: 27 de Jan. 2013.

CHONG, G. T.; FARSIU, S.; FREEDMAN, S. F.; SARIN, N.; KOREISHI, A. F.; IZATT, J. A.; TOTH, C. A. Abnormal foveal morphology in ocular albinism imaged with spectral-domain optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol*. Vol. 127. 2009. p.37-44.

CICHOREK, M.; WACHULSKA, M.; STASIEWICZ, A.; TYMIŃSKA, A. Skin melanocytes: biology and development. *Postepy Dermatol Alergol*. Vol. 30. 2013. p.30-41.

DOLINSKA, M. B.; KUS, N. J.; FARNEY, S. K.; WINGFIELD, P. T.; BROOKS, B. P.; SERGEEV, Y. V. Oculocutaneous albinism type 1: link between mutations, tyrosinase conformational stability, and enzymatic activity. *The Official Journal Of International Federation Of Pigment Cell Societies – Society For Melanoma Research – Pigment Of Cell & Melanoma*. Vol.30. 2017. p. 41-52.

FILIPPO, E.; MANGA, P.; SCHIEDEL, A. C. Identification of Novel G Protein-Coupled Receptor 143 Ligands as Pharmacologic Tools for Investigating X-Linked Ocular Albinism. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. Vol.58. 2017. p.3118-3126.

FRIDMAN, C.; HOSOMI, N.; VARELA, M. C.; SOUZA, A. H.; FUKAI, K.; KOIFFMANN, C. P. Angelman Syndrome Associated With Oculocutaneous Albinism Due to an Intragenic Deletion of the P Gene. *American Journal of Medical Genetics*. Vol. 119. 2003. p.180–183.

FUKUDA, N.; NAITO, S.; MASUKAWA, D.; KANEDA, M.; MIYAMOTO, H.; ABE, T.; YAMASHITA, Y.; ENDO, I.; NAKAMURA, F.; GOSHIMA, Y. Expression of ocular albinism 1 (OA1), 3,4- dihydroxy- L –phenylalanine (DOPA) receptor, in both neuronal and non-neuronal organs. *Brain Research*. Vol. 602. 2015. p. 62-74.

GIEBEL, L. B.; MUSARELLA, M. A.; SPRITZ, R. A. A nonsense mutation in the tyrosinase gene of afghan patients with tyrosinase negative (type IA) oculocutaneous albinism. *Journal Med Genet.* Vol.28. 1991. p. 464-467.

GIEBEL, L. B.; STRUNK, K. M.; SPRITZ, R. A. Organization and nucleotide sequence of the human tyrosinase gene and a truncated tyrosinase-related segment. *Genomics.* Vol.9. 1991. p. 435-445.

GRONSKOV, K.; JESPERGAARD, C.; BRUUN, G. H.; HARRIS, P.; BRØNDUM-NIELSEN, K.; ANDRESEN, B. S.; ROSENBERG, T. A pathogenic haplotype, common in Europeans, causes autosomal recessive albinism and uncovers missing heritability in OCA1. *Scientific Reports.* Vol. 9. 2019. p.645-652.

GRONSKOV, K.; EK, J.; BRONDUM-NIELSEN, K. Oculocutaneous albinism. *Orphanet Journal of Rare Diseases.* Vol.2. 2007. p.43.

HEARING, V. J.; TSUKAMOTO, K. Enzymatic control of pigmentation in mammals. *FASEB J.* 1991. Vol.14. p.2902-2911.

KALAHROULDI, V, G.; KAMALIDEHGHAN, B.; KANI, A, A.; ARYANI, O.; TONDAR, M.; AHMADIPOUR, F.; CHUNG, L, Y.; HOUSHMAND, M. Two Novel Tyrosinase (TYR) Gene Mutations with Pathogenic Impact on Oculocutaneous Albinism Type 1 (OCA1). *PLoS ONE.* Vol. 9. 2014. p.1-10.

KAMARAJ, B.; PUROHIT, R. Mutational analysis of TYR gene and its structural consequences in OCA1A. *Gene.* Vol.513. 2013. p.184-195.

KAMARAJ, B.; PUROHIT, R. Mutational Analysis of Oculocutaneous Albinism: A Compact Review. *Hindawi Publishing Corporation.* Vol.2014.

KINNEAR, P. E.; BARRIE JAY, M. D.; WITKOP JR. C. J. Albinism. *Survey of Ophthalmology.* Vol. 30.1985. p.75-101.

KERR, R.; KROMBERG, J. Genetic Testing, Postnatal, and Prenatal Diagnosis for Albinism. *Albinism in Africa: Historical, Geographic, Medical, Genetic, and Psychosocial Aspects.* South Africa: *Academic Press,* 2018. p.235-256.

KING, R. A.; OLDS, D. P.; Hairbulb tyrosinase activity in oculocutaneous albinism: Suggestions for pathway control and block location. *American journal of medical genetics.* Vol. 20. 1985. p.49-55.

KING, R. A.; PIETSCH, J.; FRYER, J. P.; SAVAGE, S.; BROTT, M. J.; EGGITTY, I. R.; SUMMERS, C. G.; OETTING, W. S. Tyrosinase gene mutations in oculocutaneous albinism 1(OCA1): definition of the phenotype. *Human Genetic.* Vol.113. 2003. p.502-513.

KONDO, T.; NAMIKI, T.; COELHO, S. G.; VALENCIA, J. C.; HEARING, V. J. Oculocutaneous albinism: Developing novel antibodies targeting the proteins associated with OCA2 and OCA4. *Journal Of Dermatological Science*. Vol.77. 2015. p.21-27.

KRUIJT, C. C.; WIT, G. C.; BERGEN, A. A.; FLORIJN, R. J.; SCHALIJDOLFOS, N. E., GERNEREN, M. M. V. The phenotypic spectrum of albinism. *American Academy of Ophthalmology*. Vol. 12. 2018. p.1953-1960.

LEE, S, T.; NICHOLLS, R, D.; JONG, M, T, C.; FUKAI, K.; SPRITZ, R, A. Organization and Sequence of the Human P Gene and Identification of a New Family of Transport Proteins. *GENOMICS*. Vol. 26. 1995. p.354-363.

LEE, H.; PUROHIT, R.; SHETH, V.; PAPAGEORGIOU, E.; MACONACHIE, G.; McLEAN, R. J.; PATEL, A.; PILAT, A.; ANWAR, S.; SARVANHATAHN, N.; PROUDLOCK, F. A.; GOTTLÖB, I. Retinal development in albinism: a prospective study using optical coherence tomography in infants and young children. *The Lancet*. Vol. 385. 2015. p. 14.

LEE, S. T.; NICHOLLS, R. D.; BUNDEY, S.; LAXOVA, R.; MUSARELLA, M.; SPRITZ, R. A. Mutations of the P gene in oculocutaneous albinism, ocular albinism, and Prader-Willi syndrome plus albinism. *The New England journal of medicine*. Vol. 330. 1994. p.529-534.

LEVIN, A. V.; STROH, E. Albinism for the busy clinician. *Journal of AAPOS*. Vol.15. 2011. p. 59-66.

MARTI, A.; LASSEAUX, E.; EZZEDINE, K.; LÉAUTÉ - LABRÈZE, C.; BORALEVI, F.; PAYA, C.; COSTE, V.; DEROISSART, V.; ARVEILER, B.; TAIEB, A.; MORICE - PICARD, F. Lessons of a day hospital: Comprehensive assessment of patients with albinism in a European setting. *Pigment Cell & Melanoma Research*. Vol. 31. 2017. p.1-12.

MÁRTINEZ-GARCIA, M.; MONTOLIU, L. Albinism in Europe. *Japanese Dermatological association*. Vol. 40. 2013. p.319-324.

MCALLISTER, J. T.; DUBIS, A. M.; TAIT, D. M.; OSTLER, S.; RHA, J.; STEPIEN, K. E.; SUMMERS, C. G.; CARROLL, J. Arrested development: High-resolution imaging of foveal morphology in albinism. *Vision Research*. Vol. 50. 2010. p. 810-817.

MONFERMÉ, S.; LASSEAUX, E.; DUNCOMBE-POULET, C. Mild form of oculocutaneous albinism type 1: phenotypic analysis of compound heterozygous patients

with the R402Q variant of the TYR gene. *British Journal of Ophthalmology*. Vol.10. 2018. p. 1-9.

MONTOLIU, L.; GRONSKOV, K.; WEI, A.; MARTÍNEZ-GARCIA, M.; FERNÁNDEZ, A.; ARVEILER, B.; MORICE-PICARD, F.; RIAZUDDIN, S.; SUZUKI, T.; AHMED, Z., M.; ROSEMBERG, T.; LI, W.; Increasing the complexity: new genes, and new types of albinism. *Pigment Cell Melanoma Res*. Vol.27. p.11-18.

MIOT, L.D.B.; MIOT, H.A.; SILVIA, M. G.; MARQUES, M. E. A. Fisiopatologia do melasma. *Anais Brasileiro de Dermatologia*. Vol.84. 2009. p.623-635.

NCI Dictionary of Genetics Terms. National Cancer Institute. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/genetics-dictionary/def/compound-heterozygosity>>. Acesso em: 27 maio. 2019.

OETTING, W. S.; PIETSCH, J.; BROTT, M. J.; SAVAGE, S.; FRYER, J. P.; SUMMERS, C. G.; KING, R. A. The R402Q tyrosinase variant does not cause autosomal recessive ocular albinism. *American Journal of Medical Genetics*. Vol.149. 2009. p. 466–469.

ONOJAFE, I. F.; ADAMS, D. R.; SIMEONOV, D. R.; ZHANG, J.; CHAN, C. C.; BERNARDINI, I. M.; SERGEEV, Y. V.; DOLINSKA, M. B.; ALUR, R.P.; BRILLIANT, M. H.; GAHL, W. A.; BROOKS, B. P. Nitisinone improves eye and skin pigmentation defects in a mouse model of oculocutaneous albinism. *The Journal of Clinical Investigation*. Vol.10. 2011. p.3914-3921.

PEREZ, Y.; GRADSTEIN, L.; FLUSSER, H.; MARKUS, B.; COHEN, I.; LANGER, Y.; MARCUS, M.; LIFSHITZ, T.; KADIR, R.; BIRK, O. Isolated foveal hypoplasia with secondary nystagmus and low vision in associated with a homozygous SLC38A8 mutation. *European Journal of Human Genetics*. Vol. 22. 2014. p. 703-706.

PREISING, M. N.; FORSTER, H.; GONSER, M.; LORENZ, B. Screening of TYR, OCA2, GPR143, and MC1R in patients with congenital nystagmus, macular hypoplasia, and fundus hypopigmentation indicating albinism. *Molecular Vision Biology and Genetics in Vision Research*. Vol.17. 2011. p. 939–948.

RAMSAY, M.; COLMAN, M. A.; STEVENS, G.; ZWANE, E.; KROMBERG, J.; FARRALL, M.; JENKINS, T. The tyrosinase-positive oculocutaneous albinism locus maps to chromosome 15q11.2-q12. *Am J Hum Genet*. Vol. 51. 1992. p.879–84.

REBBECK, T. R.; KANETSKY, P. A.; WALKER, A. H.; HOLMES, R.; HALPERN, A. C.; SCHUCHTER, L. M.; ELDER, D. E.; GUERRY, D. P gene as an inherited biomarker of human eye color. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. Vol. 11. 2002. p.782-784.

REESE, B. E.; Development of the retina and optic pathway. *Vision Research*. Vol. 51. 2011. p.613-632.

ROSEMBLAT, S.; DURHAM-PIERRE, D.; GARDNER, J. M.; NAKATSU, Y.; BRILLIANT, M. H.; ORLOW, S. J. Identification of a melanosomal membrane protein encoded by the pink-eyed dilution (type II oculocutaneous albinism) gene. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1994. Vol.91. p.12071-12075.

SIMEONOV, D. R.; WANG, X.; WANG, C.; SERGEEV, Y.; DOLINSKA, M.; BOWER, M.; FISCHER, R.; WINER, D.; DUBROVSKY, G.; BALOG, J. Z.; HUIZING, M.; HART, R.; ZEIN, W. M.; GAHL, W. A.; BROOKS, P. B.; ADAMS, D. R. DNA variations in oculocutaneous albinism: an updated mutation list and current outstanding issues in molecular diagnostics. *Human Mutation Variation, Informatics and Disease*. 2013. Vol. 34. p.827–835.

SANO, R. Y. *Avaliação oftalmológica e psicofísica do sistema visual de portadores de albinismo*. 2017. Tese (Doutorado em Psicologia) - Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SCHIAFFINO, M. V.; BASCHIROTTO, C.; PELLEGRINI, G.; MONTALTI, S.; TACCHETTI, C.; DE LUCA, M.; BALLABIO, A. The ocular albinism type 1 gene product is a membrane glycoprotein localized to melanosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Vol. 17. 1996. p.9055-60.

SCHWARTZ, S.; *Visual Perception: A Clinical Orientation*. 4. Ed. Editora McGraw-Hill education, 2009.

SEO, J. H.; YU, Y. S.; KIM, J. H.; CHOUNG, H. K.; HEO, J. W.; KIM, S. J. Correlation of visual acuity with foveal hypoplasia grading by optical coherence tomography in albinism. *Ophthalmology*. Vol.114. 2007. p.1547-1551.

SUMMERS, C.G; Diagnosis of oculocutaneous albinism with molecular analysis. *American journal of ophthalmology*. Vol. 121. 1996. p.724-726.

SUMMERS, C.G; Albinism: Classification, clinical characteristics, and recent findings. *Optometry and Vision Science*. Vol.86.2009.p.659-662.

TOLEDO, A. M. F. Pele e anexos. In: MAIO, M. (editor). *Tratado de Medicina Estética*. 1. ed. São Paulo: Editora Roca, 2004. p. 19-35.

WANG, T.; WATERS, C.T.; JAKINS, T.; YATES, J. R. W.; TRUMP, D.; BRADSHAW, K.; MOORE, A. T. Temperature sensitive oculocutaneous albinism associated with missense changes in the tyrosinase gene. *Br J Ophthalmol*. Vol.89. 2005. p.1383-1384.

WANG, Y.; WANG, Z.; CHEN, M.; FAN, N.; YANG, J.; LIU, L.; WANG, Y.; LIU, W. Mutations Analysis of the TYR and OCA2 Genes in Four Chinese Families with Oculocutaneous Albinism. *Plos One*. Vol.10. 2015.

What kinds of gene mutations are possible? U.S. National Library of Medicine. Disponível em: <<https://ghr.nlm.nih.gov/primer/mutationsanddisorders/possiblemutations>>. Acesso em: 27 maio. 2019.

9. ANEXOS

9.1. Anexo I

INSTITUTO DE PSICOLOGIA
DA UNIVERSIDADE DE SÃO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO ANATÔMICA, FUNCIONAL E ELETROFISIOLÓGICA DO SISTEMA VISUAL DOS PORTADORES DE ALBINISMO

Pesquisador: RONALDO YUITI SANO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 08857513.5.0000.5581

Instituição Proponente: INSTITUTO DE PSICOLOGIA ((USP))

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 293.401

Data da Relatoria: 13/05/2013

Apresentação do Projeto:

O projeto propõe avaliação visual global em indivíduos albinos. A avaliação será composta por avaliações psicofísicas, morfológicas e eletrofisiológicas do sistema visual deste indivíduos, em vários níveis. Além disso, também propõe tratamento com adaptação e uso de lentes de contato filtrantes para os participantes.

Objetivo da Pesquisa:

Realizar avaliação visual compreensiva de pacientes albinos. Correlacionar os diferentes aspectos avaliados e também observar se há melhora da situação visual dos participantes frente a intervenção que se dará por meio de uso de lentes de contato filtrantes.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A descrição de possíveis riscos é clara e adequada.

O pesquisador apresenta, no entanto, a possível melhora da qualidade visual que decorreria do uso das lentes de contato filtrante como um benefício em potencial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Como a pesquisa envolve exames laboratoriais, dermatológicos e oftalmológicos sugere-se que o projeto seja encaminhado para apreciação ética também pelo comitê de ética em pesquisa da Santa Casa / SP.

Endereço: Av. Prof. Mello Moraes, 1721 - Bl. "G" sala 27

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-030

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-4182

E-mail: cep@usp.br

Continuação do Parecer: 293.401

Foi esclarecido o destino do material biológico colhido para o procedimento de avaliação genética do albinismo, o qual será totalmente descartado, de maneira apropriada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE foi revisto, conforme recomendações apresentadas no parecer substanciado anterior.

Recomendações:

Como a pesquisa envolve exames laboratoriais, dermatológicos e oftalmológicos sugere-se que o projeto seja encaminhado para apreciação ética também pelo comitê de ética em pesquisa da Santa Casa/SP, enquanto instituição co-participante.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências, projeto aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SAO PAULO, 05 de Junho de 2013

Assinador por:
FRAULEIN VIDIGAL DE PAULA
(Coordenador)

Endereço: Av. Prof. Mello Moraes, 1721 - Bl. "G" sala 27

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-030

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-4182

E-mail: ceph.ip@usp.br

9.2. Anexo II

Descrição dos *primers* utilizados para amplificar o gene *TYR* (PREISING et al., 2011) com sua respectiva sequência de nucleotídeos, temperatura de *annealing* e sentido da fita.

SEQUÊNCIA AMPLIFICADA	IDENTIFICAÇÃO DO PRIMER	TEMPERATURA DE ANELAMENTO	SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEOS (5'-3')	SENTIDO DA FITA
Exon 1	TYR 1 1	59°C	CCAATTAGCCAGTTCCTGCAGA	FW
Exon 1	TYR 1 1	59°C	CACAGTTGAATCCCATGAAGTTGC	RV
Exon 1	TYR 1 2	61°C	TATAATAGGACCTGCCAGTGCTCTG	FW
Exon 1	TYR 1 2	61°C	AATGTCTCTCCAGATTCAGATCCC	RV
Exon 1	TYR 1 3	60°C	TGTGTCAATGGATGCACTGCTT	FW
Exon 1	TYR 1 3	60°C	AGAAGTGATTGTTAAGGTTCTCCC	RV
Exon 2	TYR 2	60°C	TTGTTTAACATGAGGGTGTTTGTACAG	FW
Exon 2	TYR 2	60°C	GGACTTTGGATAAGAGACTGTAAATATG	RV
Exon 3	TYR 3	55°C	ATAATTATAAATCAATCACATAGGTTTTCA	FW
Exon 3	TYR 3	55°C	CCAATGAGCACGTTATTTATAAAGA	RV
Exon 4	TYR 4	56°C	AAAATTTTCAAATGTTTCTTTTATACACA	FW
Exon 4	TYR 4	56°C	CAGCAATTCCTCTGAAAGAAAGTAA	RV
Exon 5	TYR 5	61°C	TGAAAGGATGAAGATGATGGTGATC	FW
Exon 5	TYR 5	61°C	TTGAGTTAGAGTGAGGTCAGGCTTTT	RV

TYR = Gene ligado ao albinismo OCA1; **FW** = *Forward* (sentido senso); **RV** = *Reverse* (sentido anti-senso).

9.3. Anexo III

Descrição da sequência dos *primers* utilizados para amplificar o gene *OCA2* (WANG et al., 2015), com sua respectiva sequência de nucleotídeos, temperatura de *annealing* e sentido da fita.

SEQUÊNCIA AMPLIFICADA	IDENTIFICAÇÃO DO PRIMER	TEMPERATURA DE ANELAMENTO	SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEOS (5'-3')	SENTIDO DA FITA
Éxon 2	OCA2.2	58°C	AGTGGTTTCTTTCTGGCTGCC	FW
Éxon 2	OCA2.2	58°C	TGAAGTCCACATTTACAAGATGGCA	RV
Éxon 3	OCA2.3	55°C	TGAGTTGGGGAGAAGAGGTC	FW
Éxon 3	OCA2.3	55°C	AGCATCTCAGCCCTCAGTGT	RV
Éxon 4	OCA2.4	55°C	AAAGACCAGGGTTGATTCGG	FW
Éxon 4	OCA2.4	55°C	GCCTGAAGCAAACAGATCCT	RV
Éxon 5	OCA2.5	56°C	GAAAAGTGTCTGAGTCTGGG	FW
Éxon 5	OCA2.5	56°C	GTCCCGAAGGTGCCTGGGTT	RV
Éxon 6	OCA2.6	55°C	CACACAGTAGCCCCATCATC	FW
Éxon 6	OCA2.6	55°C	GTCACGCTGAACGCAAAGA	RV
Éxon 7	OCA2.7	55°C	TGAGGGCTGAGATGTGGGTA	FW
Éxon 7	OCA2.7	55°C	CTGTGGCTCCCCATCAAATC	RV
Éxon 8	OCA2.8	53°C	AGATCCCAGATGGTGTCTCA	FW
Éxon 8	OCA2.8	53°C	AGGTCAGACTCCTTTAAACG	RV
Éxon 9	OCA2.9	53°C	AGAGGGAGGTCCCCTAACTG	FW
Éxon 9	OCA2.9	53°C	TACTCAAGCCTCCCTGACTG	RV
Éxon 10	OCA2.10	53°C	CTTCGTGTGTGCTAACTCC	FW
Éxon 10	OCA2.10	53°C	ACATCTTTGAGCTGACATCC	RV
Éxon 11	OCA2.11	55°C	TCCACTCGGAATGTAACCAG	FW
Éxon 11	OCA2.11	55°C	TCATCGTCAGACACGCCTTG	RV

Éxon 12	OCA2.12	55°C	CAGATGGGATGGTAATGTGC	FW
Éxon 12	OCA2.12	55°C	ACGATTCAACCTGAGTACCC	RV
Éxon 13	OCA2.13	55°C	GCCTCTGTTCTACGAGCCTG	FW
Éxon 13	OCA2.13	55°C	TGCCAGAACCTGGCCGCAA	RV
Éxon 14	OCA2.14	53°C	TTCACGATGTGTATAGTGGG	FW
Éxon 14	OCA2.14	53°C	AAGTGGAGGTGTGCGTTTAC	RV
Éxon 15	OCA2.15	55°C	GTGTTAGCCAGGATGGTCTC	FW
Éxon 15	OCA2.15	55°C	TGTGCTGGGTTATGTTGCTG	RV
Éxon 16	OCA2.16	55°C	TCTCCTAATGCTATCCCTGC	FW
Éxon 16	OCA2.16	55°C	GAGCCTCTGGTTTTGTGTTG	RV
Éxon 17	OCA2.17	57°C	AGGCTCCAAGTCACAGACCG	FW
Éxon 17	OCA2.17	57°C	CTTCTTGAGAAGTGAATCAG	RV
Éxon 18	OCA2.18	53°C	AGTTGCGTAGGTTATGACAC	FW
Éxon 18	OCA2.18	53°C	CCCATCCAGAATGTGACAAA	RV
Éxon 19	OCA2.19	55°C	TGTGGGGGTTGACAAGAGGA	FW
Éxon 19	OCA2.19	55°C	GTGGCTAAGGTAAAGCTGGT	RV
Éxon 20	OCA2.20	53°C	GAATCGGTGTGTTAACAGTG	FW
Éxon 20	OCA2.20	53°C	GTAGGCTTTCTTCATTCACC	RV
Éxon 21	OCA2.21	55°C	CTATGTCTGCCTTGGTCTCG	FW
Éxon 21	OCA2.21	55°C	CTCTGCTCACTTTCGTCCTC	RV
Éxon 22	OCA2.22	53°C	TGGTGGGTCTGACCCTAAGT	FW
Éxon 22	OCA2.22	53°C	AGGCTATGTCCAGGCTAAAG	RV
Éxon 23	OCA2.23	59°C	GACTTGCCCATTCTCCTTAG	FW
Éxon 23	OCA2.23	59°C	TCCCCTACACCACAGTCTCT	RV
Éxon 24	OCA2.24	55°C	GAGAACAGAAGCTTACCACC	FW

Éxon 24	OCA2.24	55°C	GCTTAGGAACTAGACAGTTTA	RV
Éxon 25	OCA2.25	57°C	CGTATCTCATGAGCTTATCC	FW
Éxon 25	OCA2.25	57°C	AGCATAACAATTTGAATGCTG	RV

OCA2 = Gene ligado ao albinismo OCA2; **FW** = *Forward* (sentido senso); **RV** = *Reverse* (sentido anti-senso).