



A INVESTIGAÇÃO DE VARIANTES GENÉTICAS EM PACIENTES COM DOENÇA DE HUNTINGTON-LIKE

Palavras-Chave: Variantes genéticas, Exoma, Distúrbios de movimento

Autoras:

Laura Pinheiro da Silva (FCM)

Dr^a. Patrícia Aline O. R. A. Araújo (FCM) Prof^a. Dr^a. Iscia Lopes-Cendes (FCM)

INTRODUÇÃO:

A Doença de Huntington é uma doença neurológica, hipercinética e de herança autossômica dominante caracterizada por coreia, demência progressiva e alterações comportamentais, com manifestações clínicas geralmente entre a terceira e quinta década de vida. Sua etiologia está relacionada à expansão trinucleotídica de 36 ou mais repetições CAG no gene *HTT*, responsável pela codificação da proteína huntingtina. Embora sua função ainda não esteja completamente elucidada, sabe-se que sua conformação normal é responsável pelo aumento da sobrevivência celular. Além disso, essa proteína é amplamente expressa em todo o organismo, com maior concentração no Sistema Nervoso Central (SNC). A expansão no gene *HTT* leva à produção de uma forma neurotóxica da huntingtina, resultando em morte neuronal progressiva.

Indivíduos diagnosticados com Doença de Huntington-*like* apresentam um fenótipo semelhante ao da Doença de Huntington, mas sem a expansão patogênica no gene *HTT*. Apesar da semelhança clínica entre ambas as condições, a Doença de Huntington é amplamente descrita na literatura, enquanto a Doença de Huntington-*like*, subdividida em quatro subgrupos (HDL 1, 2, 3 e 4), ainda não possui etiologia completamente elucidada. No entanto, já foram identificados genes associados aos

subtipos 1, 2 e 4. Cabe ressaltar que diferentes variantes em distintos genes podem ocasionar quadros clínicos semelhantes.

Estima-se que aproximadamente 1% dos pacientes com diagnóstico clínico de Doença de Huntington no mundo não apresentem alterações no gene *HTT*, sendo, portanto, classificados como portadores da Doença de Huntington-*like*. Entre esses casos, 79,3% possuem etiologia desconhecida, evidenciando a complexidade clínica e genética dessa condição e a necessidade de investigação detalhada.

Dada a importância e impacto do diagnóstico preciso, visando evitar a perda de casos potencialmente tratáveis levando em conta prognósticos variáveis bem como um aconselhamento genético adequado, o objetivo deste estudo é analisar variantes genéticas em pacientes com Huntington-*like* como parte da elucidação do diagnóstico etiológico desses pacientes

METODOLOGIA:

Foram analisados os dados do sequenciamento do exoma de 12 pacientes, seis do sexo masculino, seis do sexo feminino, com diagnóstico de *Huntington-like*. Esses dados foram provenientes da dissertação de tese “*Caracterização clínica e de neuroimagem de pacientes com fenótipo Huntington-like*”, de Nara Maria Borges Alves, e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob o número CAAE: 12112913.3.0000.5404.

Os critérios de inclusão foram: pacientes atendidos no Ambulatório de Doença de Huntington do Hospital das Clínicas da UNICAMP que apresentam distúrbios do movimento como coreia, parkinsonismo, distonia, mioclonia, ataxia, tremor, tiques, e que tivesse resultado negativo para o teste molecular de *HTT*. Foram excluídos do estudo pacientes menores de 18 anos, indivíduos cujos dados cadastrais estavam ausentes ou incompletos, bem como aqueles que foram a óbito durante a realização da pesquisa.

Para a análise e interpretação dos dados de exoma, objeto deste projeto, foram utilizadas duas ferramentas: a plataforma Franklin (byGenoox), para a investigação de variantes de nucleotídeo único (SNVs) e o *software ExpansionHunter* (Illumina), para a identificação de expansões de repetições nucleotídicas.

Para a investigação de SNVs, foi elaborado e aplicado, na plataforma Franklin, um painel contendo genes previamente associados a distúrbios do movimento e demência progressiva. Além disso, foram aplicados filtros, no mesmo sistema, baseados nos seguintes critérios: profundidade de leitura (sequências com cobertura superior a 10×), visando minimizar erros técnicos; frequência (N/A e raro – 1%), que indica a frequência em que a alteração genética se apresenta na população; características fenotípicas (coréia e demência progressiva); nível de confiança (alta e média), avaliando parâmetros internos da própria plataforma, como a relação entre homozigotos e heterozigotos, a proporção de leituras que suportam o alelo alternativo e a qualidade do mapeamento das leituras; e patogenicidade, incluindo apenas variantes classificadas como patogênicas, provavelmente patogênicas ou de significado incerto, conforme os critérios estabelecidos pelo *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG).

Adicionalmente, realizou-se uma análise utilizando o *software ExpansionHunter*, que permite a identificação de variantes no número de cópias (CNVs), especificamente expansões de repetições nucleotídicas, com base nos dados obtidos pelo sequenciamento do exoma.

Após as análises genéticas, os dados clínicos dos pacientes foram revisados para correlacionar o genótipo identificado com o fenótipo observado em cada caso.

RESULTADOS:

A análise de SNVs identificou três alterações genéticas, nos genes *PAH*, *NPC1* e *LRRK2*, classificadas como patogênicas, cada uma presente em pacientes distintos, sendo compatíveis com o fenótipo observado. Além disso, foram detectadas outras variantes potencialmente relacionadas ao fenótipo dos demais pacientes; no entanto, estas foram classificadas como "variantes de significado incerto" (VUS), exigindo reavaliação futura para elucidação diagnóstica.

A análise das variantes de expansão revelou que quatro, dos doze pacientes, apresentam expansão no gene *JPH3*, ou seja, apresentam mais de 40 repetições trinucleotídicas CTG/CAG. Três pacientes exibem alelos intermediários nos genes *JPH3* (36 a 39 repetições), *TBP* (41 a 46 repetições) e *ATXN1* (36 a 43 repetições).

Por fim, cinco pacientes não apresentam expansões detectáveis nos genes analisados.

CONCLUSÃO:

Sete variantes distintas, entre SNVs e expansões, foram identificadas em sete pacientes diferentes, cada uma capaz de justificar o fenótipo observado.

Em três dos cinco pacientes restantes, foram encontradas variantes de alelos intermediários que podem contribuir para a explicação do fenótipo. No entanto, análises mais aprofundadas são necessárias nesses casos, bem como em pacientes que apresentam SNVs de significado incerto.

Portanto, foram identificadas variantes em aproximadamente 60% dos pacientes estudados. Nossos resultados contribuem não somente para um melhor entendimento da etiologia do fenótipo *Huntington-like*, mas também beneficiam diretamente os pacientes envolvidos que tiveram uma confirmação da etiologia genética da sua doença, possibilitando um aconselhamento genético adequado.

BIBLIOGRAFIA:

BAUER, P. O. Huntington's disease and Huntington's disease-like illnesses: clinical and molecular aspects. *Current Opinion in Neurology*, 2013. DOI: [10.1097/WCO.0b013e3283632d90](https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e3283632d90)

LAPPALAINEN, T. et al. Genetic and molecular architecture of complex traits. *Cell*, 2024. DOI: [10.1016/j.cell.2024.01.023](https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.01.023)

SAUDOU, F.; Humbert, S. The biology of huntingtin. *Neuron*, 2016. DOI: [10.1016/j.neuron.2016.02.003](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.02.003)

SCHNEIDER, S. A. et al. The Huntington's disease-like syndromes: what to consider in patients with negative Huntington's disease gene test. *Nature Reviews Neurology*, 2007. DOI: [10.1038/ncpneuro0606](https://doi.org/10.1038/ncpneuro0606)

WALKER, R. H. Huntington's disease. *The Lancet*, 2007. DOI: [10.1016/S0140-6736\(07\)60111-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60111-1)

TEIVE, H. A. G. Huntington's disease-like phenotypes: new data from Brazil and what we know between heaven and earth. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 2011. DOI: [10.1590/S0004-282X2011000400001](https://doi.org/10.1590/S0004-282X2011000400001)