

# Instabilidade intergeracional da mutação causal da doença de Machado Joseph: um estudo de heredogramas

Ana Carolina Krum dos Santos<sup>1</sup>, Gabriele Nunes Souza<sup>2</sup>, Amanda Senna<sup>1</sup>, Nathalia Kersting<sup>7</sup>, Maria Luiza Saraiva Pereira<sup>3,4,6,7,8</sup>, Raphael Castilhos<sup>3,8</sup>, Laura Bannach Jardim<sup>1,2,3,5,6,7,8</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Medicina, Programas de Pós-Graduação em <sup>2</sup> Ciências Médicas e em <sup>3</sup> Genética e Biologia Molecular, e Departamentos de <sup>4</sup> Bioquímica e de <sup>5</sup> Medicina Interna da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; <sup>6</sup> Laboratório de Identificação Genética e <sup>7</sup> Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre; <sup>8</sup> Instituto de Genética Médica Populacional (INAGEMP).

## Introdução

A doença de Machado-Joseph ou ataxia espinocerebelar tipo 3 (MJD/SCA3) é uma doença degenerativa autossômica dominante, com idade de início (ii) média de ~ 34 anos. A mutação causal MJD/corresponde à expansão de uma repetição (CAG)<sub>n</sub> no gene ATXN3. Alelos normais variam de 12 a 44 repetições CAG, enquanto alelos expandidos apresentam mais do que 52 repetições. O tamanho do segmento expandido é incompletamente correlacionado com a idade de início, explicando de 50 a 75% de sua variação. Uma vez de tamanho patológico, os alelos tendem a se expandir mais, principalmente em linhagens paternas. Esse fenômeno explica em parte a antecipação, isto é, a tendência de que o quadro clínico piore nas gerações seguintes.

Os padrões de mudança no tamanho de repetições entre gerações foram documentados para a maioria dos transtornos por expansão. Os mais estudados são fatores atuantes são o próprio CAGexp do genitor afetado. Outros candidatos incluem proteínas de reparo *mismatch*.

O objetivo do presente trabalho foi descrever, a partir das famílias com MJD/SCA3 do Rio Grande do Sul, possíveis associações entre os padrões de expansão e as variáveis gênero do genitor afetado, CAGexp do genitor afetado e idade do genitor afetado ao tempo da concepção do(a) filho(a) afetado(a).

## Métodos

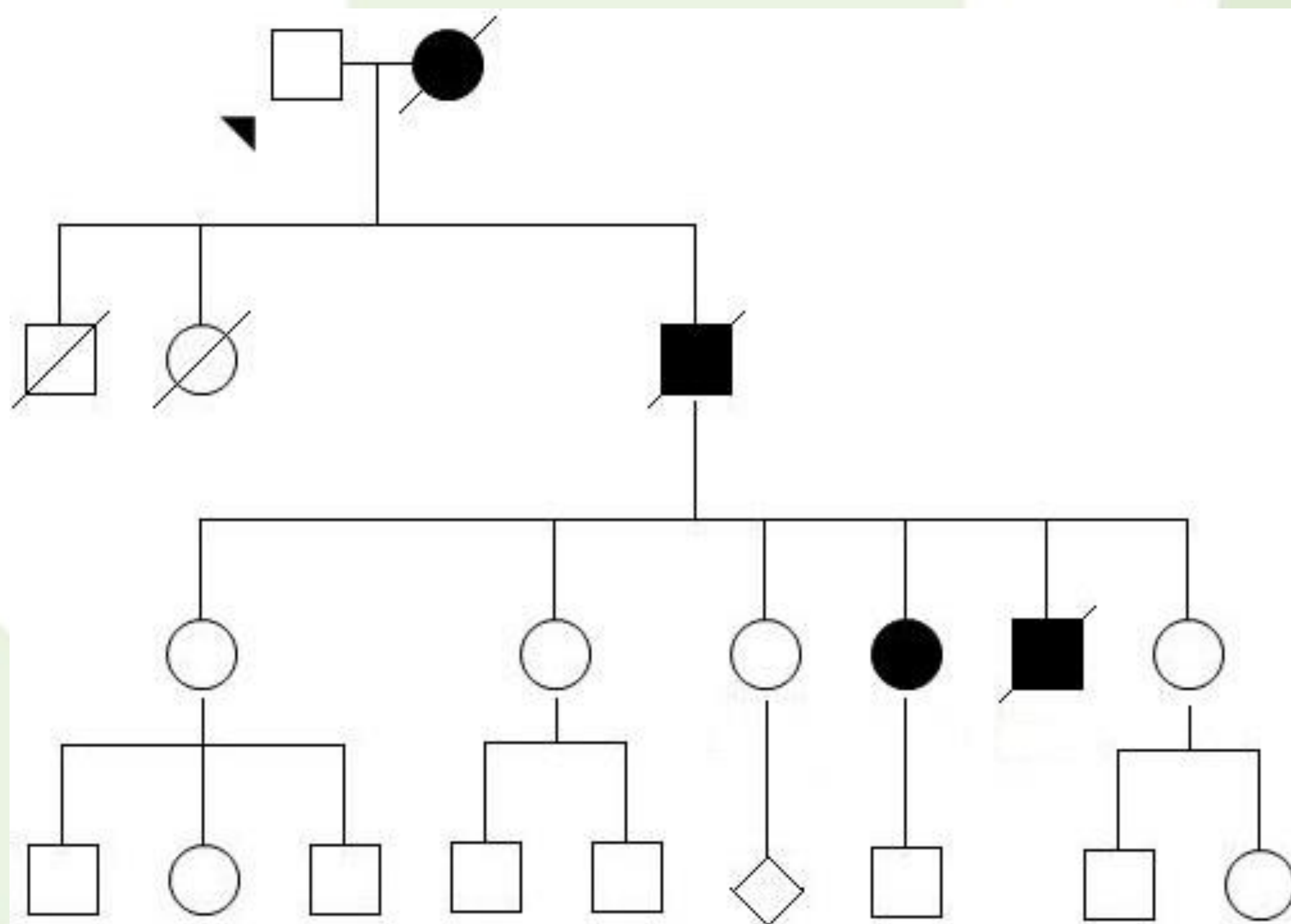
Dados clínicos e moleculares e a história familiar de todos os indivíduos diagnosticados com MJD/SCA3, registrados e guardados em bancos de dados na nossa instituição, foram revisados. As informações sobre gênero, data de nascimento e de falecimento, estado fenotípico (sintomático ou não sintomático), idade de início dos sintomas (ii), genitores afetados, idade do genitor ao tempo da concepção do sujeito, ordem de nascimento e CAG expandida foram tabulados no programa Excel para serem posteriormente lançados no programa Progeny. As variáveis idade de início, CAGexp e deltas CAGexp foram descritas como médias ± dp (variação). Uma vez que muitas variáveis não tiveram distribuição normal, testes não paramétricos foram eleitos. As diferenças entre os deltas CAGexp observados entre transmissões paternas e maternas foram analisadas pelo teste de Mann-Whitney. Correlações entre os CAGexp e as idades dos genitores ao tempo da concepção foram testadas com o teste de Spearman. Os deltas das CAGexp entre os irmãos foram comparados através do teste de Kruskal Wallis. O p escolhido foi o de 0,05. As análises estatísticas foram realizadas no programa SPSS versão 18.

## Resultados

### 3.1 Informações gerais

Até agosto de 2014, a doença de Machado Joseph foi diagnosticada em 193 famílias do Rio Grande do Sul. Oitenta e quatro heredogramas já foram construídos (44% do total), alguns deles cobrindo cinco gerações. Um exemplo aparece na **Figura 1**. Em 28 deles, os contatos telefônicos já foram completados. Os 84 bancos de dados incluem informações sumárias sobre 2737 pessoas: 1260 homens, 1260 mulheres, 217 indeterminados; 744 sintomáticos, 1903 não sintomáticos, 90 indeterminados; 531 falecidos, 2110 vivos, 96 indeterminados; 534 das quais sintomáticas.

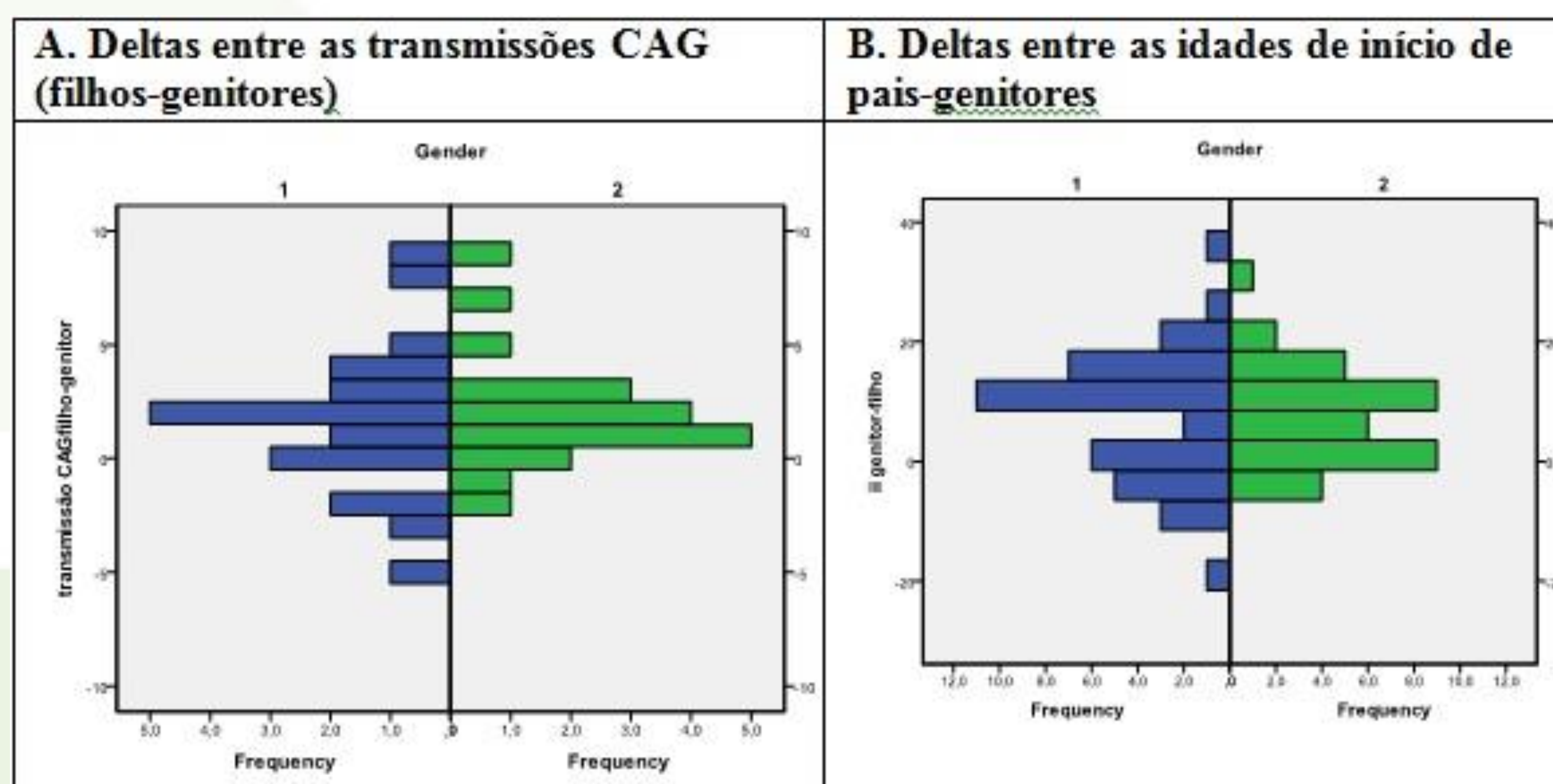
**Figura 1. Exemplo de Heredograma de uma família MJD/SCA3**



A média ± dp (variação) da ii de 312 indivíduos afetados informativos foi de 35 ± 12 (7 a 80) anos. Em 217 deles, a CAGexp estava disponível. A média ± dp (variação) das seqüências repetitivas CAG normais e expandidas foi de 22 ± 5 (14-38) e 75 ± 3 (67 a 91) repetições. Não houve diferença entre os gêneros. Nestes 217 indivíduos, a correlação entre ii e CAGexp foi de  $r^2 = 0,639$  ( $p < 0,0001$ ). Dados sobre 40 transmissões CAG foram obtidos, 21 delas de pais e 19, de mães. A média ± dp (variação) do delta de transmissão dos CAGexp foi de 1,9 ± 2,9 (de -5 a 9). Não houve diferença estatística entre as instabilidades observadas entre transmissões maternas e paternas, nestas 40 transmissões (**Figura 2A**).

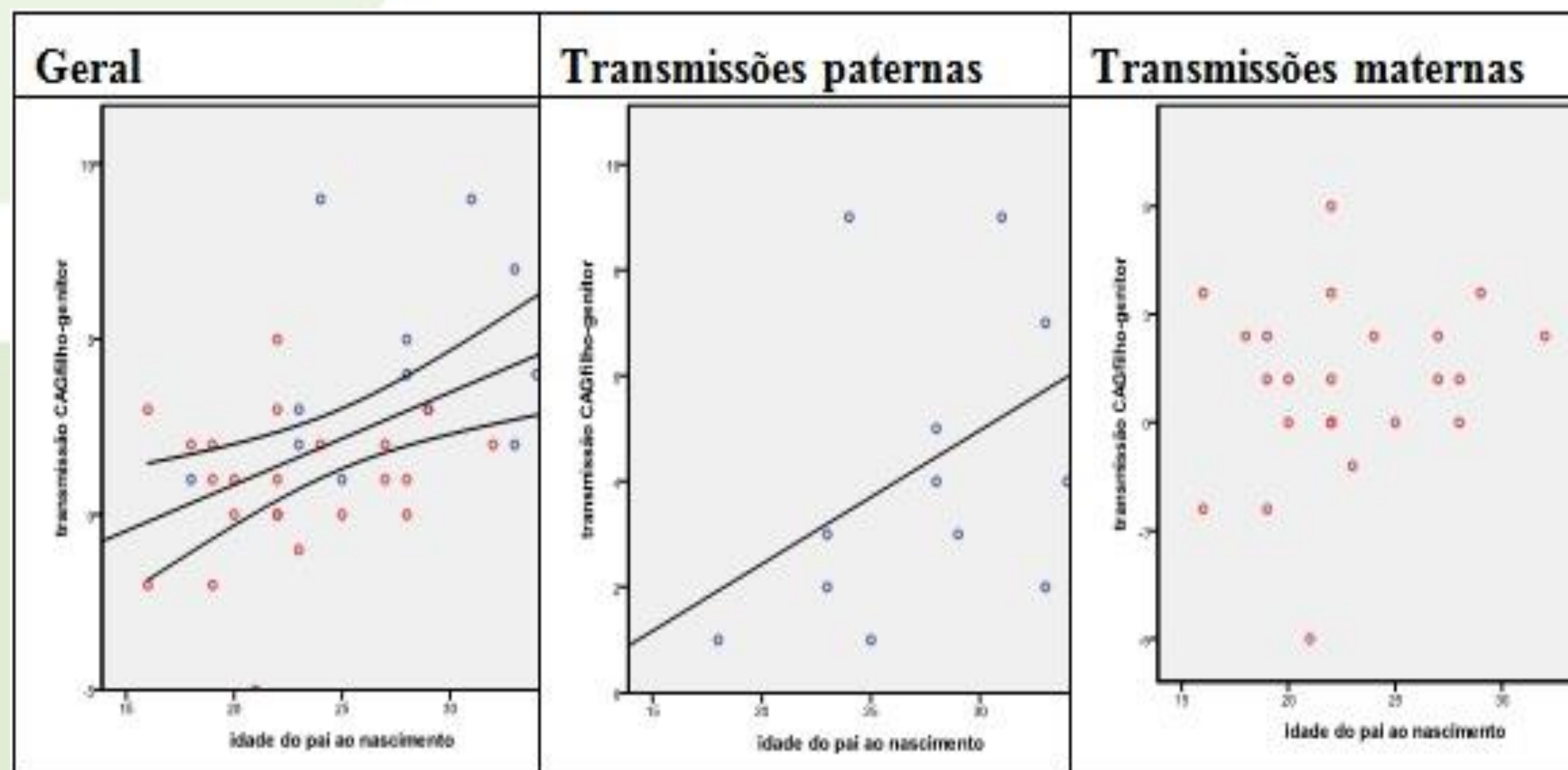
Dados sobre a diferença entre a ii do genitor e a ii do filho foram obtidos em 76 transmissões (40 paternas). A média ± dp (variação) entre as ii de genitores e filhos foi de 7,7 ± 9,8 (-19 a 35) anos. Novamente, não houve diferença entre os gêneros (**Figura 2B**).

**Figura 2. Comparação entre CAG e idades de início filhos-genitores.**



O delta de transmissão do CAGexp correlacionou-se diretamente com a idade dos genitores ao tempo da concepção ( $r^2 = 0,24$ ,  $p = 0,002$ , **Figura 3A**). Esse fenômeno parece estar ligado às transmissões paternas (**Figuras 3B e 3C**). O efeito do tamanho da CAGexp do genitor afetado sobre a ulterior instabilidade transmitida aos(as) filhos(as) não foi significativo.

**Figura 3. Efeito da idade dos genitores ao tempo da concepção dos filhos portadores de MJD/SCA3**



### 3.3 Ordem na irmandade e o CAGexp

Comparamos as CAGexp de 129 sujeitos afetados de acordo com a ordem de nascimento dos mesmos, em 50 irmandades. Houve significativa instabilidade entre os deltas quando as comparações foram feitas entre a CAGexp de um sujeito com a de seu irmão imediatamente anterior a ele ou a ela (delta CAGexp irmão anterior) ( $p = 0,015$ , ANOVA e  $p = 0,015$ , Kruskal Wallis). Nas maiores irmandades, os últimos filhos receberam apenas expansões que aumentaram, em relação aos seus irmãos anteriores. O efeito parece se associar às transmissões paternas (e não maternas).

## Discussão

Nossos resultados confirmam que o CAGexp é muito instável durante as meioses, tendendo mais frequentemente a se expandir. Isso foi visto tanto na média dos deltas dos CAGexp entre pais e filhos (as 1,9 ± 2,9 repetições a mais que os filhos têm em relação aos pais) como na média entre as diferenças de ii de pais e de filhos (os 7,7 ± 9,8 anos de antecipação apresentados pelos filhos). Em contraste com o estabelecido na literatura, obtivemos resultados significativos que apontaram que, na medida em que os genitores portadores de MJD/SCA3 envelhecem, tendem a transmitir a seus filhos CAGexp não somente mais instáveis, mas cada vez maiores, em relação às suas CAGexp ( $r^2 = 0,24$ ,  $p = 0,002$ , Spearman). Esse efeito parece estar associado às transmissões paternas (e não às maternas), embora o n ainda não permita confirmar isso. Esse resultado sugere que o número de divisões celulares nas células pré-germinativas masculinas é um fator agravador não só das expansões CAG do gene ATXN3, como do fenômeno da antecipação, nas famílias atingidas por essa condição.