

eP2969**A presença de déficti cognitivo nas paraparesias espásticas hereditárias é restrita às formas complicadas?**

Daniela Burguêz; Laís Alves Jacinto Scudeiro; Gustavo Dariva Machado; Annelise Ayres; Márcia Polese-Bonato; Carelis Del Valle González Salazar; Marina Siebert; Marcondes Cavalcante França Junior; Maira Rozenfeld Olchik; Jonas Alex Morales Saute
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: As Paraparesias Espásticas Hereditárias (PEH) são caracterizadas por espasticidade e fraqueza muscular em membros inferiores, acompanhadas ou não por achados neurológicos adicionais, quando são e estão classificadas clinicamente como uma forma complicada. Até hoje, poucos estudos avaliaram sistematicamente o comprometimento cognitivo nas PEH. **Métodos:** Estudo transversal, caso-controle, descritivo, realizado em dois centros, na qual pacientes com diagnóstico molecular confirmado de PEH foram recrutados nos ambulatórios de Neurogenética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e da Universidade de Campinas. O perfil cognitivo foi avaliado por meio de uma bateria padronizada de testes e os sintomas depressivos foram avaliados pela Escala de Depressão de Beck (BDI). **Resultados:** Participaram do estudo cinquenta e quatro pacientes com PEH, SPG4 (n = 36, sendo 5 crianças), SPG11 (n = 5), SPG5 (n = 4), CTX (n = 4), SPG7 (n = 3) e SPGA3 (n = 2), com média de idade de 46,5 (\pm 12,3) anos e um período médio de escolaridade de 9,4 (\pm 3,1) anos. Em relação ao perfil cognitivo, a maioria dos pacientes com SPG4 apresentaram declínio na memória, atenção e funções executivas em relação aos controles. Pacientes com SPG5 apresentaram declínio na memória e funções executivas, enquanto SPG7, atenção. Dois pacientes com CTX e todos com SPG11 apresentaram resultados compatíveis com demência. Não houve diferença significativa entre pacientes e controles, porém, houve correlação entre tempo de duração da doença e anos de escolaridade com pontuação menor nas escalas aplicadas. Em relação aos sintomas depressivos, não houve correlação entre o desempenho do pacientes nos testes cognitivos com o resultado da BDI. Todos os pacientes com SPG11 não foram capazes de responder ao questionário da BDI devido ao déficit cognitivo que apresentavam. **Conclusão:** Diferentemente de estudos anteriores, constatamos consistentemente que pacientes com SPG4 (uma forma pura de PEH) exibem alterações cognitivas, enquanto pacientes com formas complicadas fecharam critérios para demência. A baixa incidência de depressão na PEH sugere que esse sintoma não está atuando como um fator de confusão para as anormalidades do perfil cognitivo. Mais estudos longitudinais são necessários para avaliar a disfunção cognitiva ao longo dos anos e correlacionar sua progressão com as alterações motoras da doença.

eP2989**Monitoramento da variabilidade da frequência cardíaca identifica crianças assintomáticas expostas ao Zika Vírus durante a gravidez**

Júlia R. Figueiró Coelho; Taiane Moreira; Helena Margot Flôres Soares da Silva; Gabriela Ecco; Camila Pocharski Barbosa; Lavinia Schuler-Faccini
UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

INTRODUÇÃO: Embora o Zika Vírus (ZIKV) pareça ser proeminentemente neurotrópico, existem alguns relatos do envolvimento de outros órgãos, particularmente o coração. Diante disso, crianças expostas no período pré-natal ao ZIKV e nascidas sem microcefalia ou outra anomalia congênita visível apresentam maior preocupação frente ao acometimento de outros órgãos. As métricas mostradas através do eletrocardiograma (ECG) derivadas da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) representam uma ferramenta atraente, de baixo custo e amplamente implantável para a identificação precoce de tais anomalias nestas crianças. Sendo assim, hipotetizamos que a VFC em tais crianças produziria um biomarcador de exposição fetal ao ZIKV. **OBJETIVOS:** Analisar a possibilidade de utilizar a medida da VFC como forma de diferenciar bebês expostos ao ZIKV, assintomáticos, e não expostos ao ZIKV. **MÉTODOS:** Nós investigamos as propriedades da VFC de 21 crianças de 4 a 25 meses no Brasil. Os lactentes foram divididos em dois grupos, o exposto ao ZIKV (n = 13) e controles (n = 8). ECG de canal único foi registrado em cada criança e a VFC foi analisada em segmentos de 5 minutos para fornecer uma caracterização do grau de variabilidade e complexidade da frequência cardíaca. Usando um classificador Cubic Support Vector Machine (SVM), identificamos os bebês como Zika ou Controles com valor preditivo negativo de 92% e valor preditivo positivo de 86%. **RESULTADOS:** Nossos resultados mostram que a métrica da VFC pode ajudar a diferenciar entre bebês expostos ao ZIKV, assintomáticos, e não expostos ao ZIKV. Identificamos a Contagem da Grade como a melhor medida da VFC neste estudo, permitindo tal diferenciação, independentemente da presença de microcefalia. **CONCLUSÕES:** É possível medir a VFC em bebês e crianças pequenas usando um pequeno dispositivo de ECG portátil não invasivo. Essa abordagem, sendo de fácil aplicabilidade, pode revelar a memória da exposição in útero ao ZIKV. Dessa forma, torna-se útil para futuros estudos e ferramentas de rastreamento de baixo custo envolvendo este desafio para examinar a população.

eP2996**Association of a variant in the promoter region of DNAJB6 gene with onset of Machado-Joseph Disease in patients from south Brazil**

Luis Dias Ferreira Soares; Maiara Kolbe Musskopf; Eduardo Preusser de Mattos; Gabriel Vasata Furtado; Jonas Alex Morales Saute; Laura Bannach Jardim; Maria Luiza Saraiva-Pereira
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Machado-Joseph Disease or spinocerebellar ataxia type 3 (MJD/SCA3) is an autosomal dominant disease, characterized by gait ataxia and loss of other neuromotor functions. MJD/SCA3 is due to an expansion of the CAG repeat on the ATXN3 gene. The expanded allele show 60 to 80 repeats, while in normal alleles, CAG length varies from 12 to 43 repeats. The age at onset (AO) of symptoms is inversely correlated to repeat length. However, considering that patients can develop the disease earlier or later than expected according to their expanded CAG length, additional genetic and/or ambient factors may affect AO. Based at previous work, one of the potential AO modulators is DNAJB6. This chaperon prevent intranuclear aggregation when in presence of a mutant ataxin 3 as well as in other similar mutant proteins. Thus, the aim of this study is to evaluate the effect of variations in the promoter region of the DNAJB6 gene in AO of MJD/SCA3 patients. Sample population is composed by patients from Rio Grande do Sul, being 19 with early AO and 26 with late AO, as well as 20 controls. Genomic DNA was isolated and CAG repeat length was assessed by PCR. The analysis of the promoter region of DNAJB6 (1373 bp) was divided into 4 overlapping subregions and sequenced by Sanger, followed by capillary electrophoresis. From 38 previously reported SNPs, only those with frequency higher than 5% in the less common allele

were used for statistical analysis, resulting in 4 SNPs. Then a χ^2 test was performed for allele, genotype, and reconstructed haplotypes data. The linkage equilibrium measure dropped, more than expected due to the genomic distance, among the further SNP from the Transcription Start Site (TSS) and the other ones, suggesting a conservation ratio inversely proportional to the transcriptional start distance. Haplotype reconstruction generated two haplotypes with high frequency in our cohort, 0.55 for GGGC and 0.32 for CAAT. Five ploidies presented a haplotype with good fit for late onset group ($p=0.0572$). No significant fit was seen in any group in the χ^2 for alleles. CC genotype in rs3802101 showed a significant correlation ($p=0.0124$) in the late onset patients group. Therefore, we observe an association of this variation with a delay in the AO of MJD/SCA3 patients, that could be a direct effect on transcription regulation due to location of this SNP being 159 bp upstream the TSS (Financial support: PIBIC-CNPq, FIPE-HCPA, FAPERGS).

eP3035

Polimorfismos do gene RAN e seu potencial efeito como modificador da idade de início da Doença de Machado-Joseph

Carolina Konrdörfer Rangel; Gabriel Vasata Furtado; Eduardo Preusser de Mattos; Laura Bannach Jardim; Maria Luiza Saraiva-Pereira

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

A Doença de Machado Joseph (MJD) é a ataxia de origem autossômica dominante mais prevalente no mundo. Os sintomas iniciam na vida adulta e comprometem progressivamente o controle muscular e a coordenação motora. A MJD é causada por expansão do trinucleotídeo CAG no exon 10 do gene ATXN3, sendo que o tamanho dessa expansão é inversamente proporcional à idade de início da doença (i.i). Mas, o tamanho da expansão só explica aproximadamente 60% da previsão do início da doença. Portanto, modificadores genéticos e/ou ambientais podem atuar na modulação da manifestação da doença. A proteína RAN, um componente essencial do sistema de transporte núcleo-citoplasmático, possui variações genéticas em sua sequência que poderiam interferir na internalização citotóxica dos fragmentos de ataxina-3 mutada para o núcleo e, potencialmente, modificar as manifestações da MJD. Assim, esse trabalho teve como objetivo investigar a associação entre variações de sequência no gene RAN e a i.i da MJD. Amostras de 209 pacientes foram incluídas no estudo, classificadas em grupos conforme a i.i (precoce, intermediário e tardio), além de 92 indivíduos controles. As amostras foram genotipadas para as variações rs14035 e rs7132224 no gene RAN por ensaio qualitativo de PCR em tempo real e os dados obtidos avaliados estatisticamente. A distribuição genotípica das amostras encontrou-se em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. A distribuição das frequências alélicas do rs14035 foi 0,72 (C) e 0,28 (T) e as frequências genotípicas 0,539 (CC), 0,364 (CT) e 0,097 (TT) no rs14035. Para o rs7132224, a distribuição das frequências alélicas foi 0,72 (A) e 0,29 (G) e as frequências genotípicas 0,536 (AA), 0,359 (AG) e 0,105 (GG). Não houve diferença significativa para a frequência genotípica nos grupos precoce, intermediário e tardio ($p=0,075$ para rs14035 e $p=0,054$ para rs7132224 – teste do qui-quadrado de Pearson). Análise de regressão linear foi realizada e não foi observada influência dos genótipos sobre a relação i.i dos sintomas e tamanho da expansão CAG [R^2 de 0,674 (AA), 0,565 (AG) e de 0,703 (GG) e R^2 de 0,663 (CC), 0,612 (CT), 0,689 (TT)], embora para os indivíduos heterozigotos pareça haver menor correlação entre CAG expandido e i.i dos sintomas. Portanto, os dados obtidos até o momento indicam que os SNPs avaliados no gene RAN não estão relacionados com a variação da i.i da doença de Machado-Joseph. Entretanto, um maior número de indivíduos seria necessário para melhor avaliar os efeitos testados.

eP3045

Análise da frequência de Mucopolissacaridose tipo I a partir de bases de dados

Paola Barcelos Carneiro; Pâmella Borges; Ursula da Silveira Matte

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Mucopolissacaridose tipo I (MPS I) é uma doença autossômica recessiva que está relacionada com o depósito de glicosaminoglicanos devido à deficiência da enzima lisossômica alfa-L-iduronidase codificada pelo gene IDUA. A estimativa de frequência das doenças geralmente é realizada a partir dos casos, o que pode não representar a sua verdadeira incidência. Assim, uso de bases de dados populacionais pode auxiliar na estimativa da prevalência aproximada a partir da frequência de mutações patogênicas na população. Existem diversos preditores para avaliação da patogenicidade das variantes *in silico*, contudo há discordância dos resultados para a mesma variante. Neste contexto, o objetivo deste trabalho é calcular a frequência de MPS I a partir das variantes encontradas em bancos de dados e consideradas patogênicas nos preditores. Para tal, 2.005 variantes foram obtidas a partir dos bancos de dados populacionais gnomAD e ExAC. Em seguida, foram realizadas três filtragens. A primeira destinada a retirar variantes que provavelmente não são patogênicas localizadas íntrons, upstream e downstream gene, 5' e 3' UTRs. A segunda retirar todas as variantes encontradas em homozigose em indivíduos normais amostrados. E a terceira, avaliar variantes patogênicas do tipo nonsense, sinônimas, missense, indels, frameshift e splicing. O efeito de todos os tipos de variantes, com exceção das nonsense, foi avaliado a partir de preditores. Em seguida, foi calculado a frequência de MPS I a partir da soma total das frequências alélicas das variantes preditas patogênicas com posterior cálculo da frequência genotípica seguindo o princípio de Equilíbrio de Hardy-Weinberger. Após a filtragem, 641 variantes permaneceram para a análise de provável patogenicidade. Dessas, 17 variantes nonsense foram consideradas patogênicas. E 143 variantes missense, 2 sinônimas, 12 indels, 18 inframe e 27 de splicing foram consideradas patogênicas usando preditores para cada tipo de mutação (SilVA, Polyphen2, MultiPred, PROVEAN, SIFT, SNPs&Go, SIFT Indel, MultiPred, GENSCAN, Human Splicing Finder e Alternative Splice Site Predictor). Inferiu-se que a frequência aproximada de MPS I é 1:21.700 na população conforme as variantes consideradas patogênicas encontradas a partir dos preditores. A frequência encontrada neste trabalho é bastante superior à estimada a partir de diagnósticos. Acredita-se que este número, por não ter interferência de fatores externos, possa ser mais próximo da real incidência da doença.