

**eP3058****Efeito combinado de genes moduladores na idade de início da doença em pacientes com Doença de Machado-Joseph**

Rafaella Mergener; Gabriel Vasata Furtado; Eduardo Preusser de Mattos; Vanessa Biefeltd Leotti; Laura Bannach Jardim; Maria Luiza Saraiva-Pereira  
 UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

A doença de Machado-Joseph (MJD), também conhecida como ataxia espinocerebelar tipo 3, é uma doença hereditária neurodegenerativa de herança autossômica dominante, causada por uma expansão do trinucleotídeo CAG no gene ATXN3. Uma correlação inversa entre esta expansão e a idade no início dos sintomas tem sido amplamente descrita, podendo prever entre 40 a 68% dos casos. Dentre os moduladores da idade de início da doença já estipulados, podemos ressaltar o tamanho da repetição CAG no gene ATXN2 e fatores familiares que, juntos com o tamanho da expansão em ATXN3, explicam 73,5% da variação na idade de início. Regiões com repetições de três ou mais nucleotídeos são mais propensas à quebra no DNA pela geração de conformações não clássicas e sítios frágeis. A variante rs3512 representa a troca de um nucleotídeo C para G no gene FAN1, o qual está envolvido no reparo de interstrand crosslinks. Até o momento, o alelo C desta variante já foi associado com o aparecimento dos sintomas na MJD 2,15 anos mais tarde em uma coorte europeia. O objetivo desse trabalho foi determinar o efeito modificador sozinho da variante rs3512 no fenótipo de pacientes com MJD e combinado com os dados do gene ATXN2 e família. No total, foram incluídos 210 pacientes no estudo, os quais foram divididos em 2 grupos: início precoce e início tardio da doença. DNA de 50 indivíduos controles também foram analisados. O DNA foi isolado a partir de sangue periférico e a genotipagem da variante foi realizada através do ensaio qualitativo do PCR em tempo real. Após a realização das análises laboratoriais, a frequência do alelo C foi 0,22 nos controles e 0,26 nos pacientes. Nenhuma associação significativa foi encontrada quanto ao efeito da variante rs3512 isoladamente. Entretanto, indivíduos com até 22 repetições (pequena) no gene ATXN2 manifestam a doença 4,25 anos mais tarde em média ( $p=0,006$  ajustados pelo alelo) e 3,91 anos do estimado pelo tamanho do CAG ( $p=0,012$ ). Esta associação fica mais evidente quando agrupados pacientes da mesma família, onde quem apresenta uma repetição pequena no gene ATXN2 manifesta a doença 4,56 anos mais tarde em média, ajustado pelo alelo ( $p=0,005$ ) e 4,41 anos do estimado pelo tamanho do CAG ( $p=0,007$ ). Portanto, com este trabalho, foi possível demonstrar modulação da idade de início de pacientes com MJD pela variante rs3512 como parte de aspectos que podem contribuir para a manifestação desta doença em indivíduos do sul do Brasil.

**eP3066****Polimorfismo em gene de Reparo de DNA (FAN1) como possível modificador de fenótipo em pacientes com Doença de Huntington**

Amanda de Souza; Rafaella Mergener; Maria Luiza Saraiva Pereira; Laura Bannach Jardim; Raphael Machado de Castilhos  
 UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

A doença de Huntington (DH) é um distúrbio neurodegenerativo de início tardio, de herança autossômica dominante, cujos sintomas incluem comprometimento da capacidade cognitiva, perda da coordenação motora, alterações psiquiátricas e demência progressiva. A DH é causada por uma expansão do trinucleotídeo CAG no éxon 1 do gene IT15, o qual codifica a proteína huntingtina, altamente expressa no cérebro. O número de repetições CAG está inversamente correlacionado com a idade de início da doença e penetrância completa ocorre quando os indivíduos apresentam 41 ou mais repetições CAG. Dentre os fatores que podem influenciar a idade de início da doença, a variante rs3512, localizada no gene FAN1, foi associada com idade de início da doença 1,2 a 1,5 anos mais tarde do esperado para o tamanho da expansão em uma coorte europeia. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da variante rs3512 na idade de início de pacientes com DH no nosso meio. O grupo de pacientes foi composto por 120 indivíduos com HD e o grupo controle por 50 indivíduos sem sintomas da doença. O DNA foi extraído a partir de sangue periférico conforme protocolos padronizados com uso de kits comerciais. A genotipagem da variante foi realizada por ensaio qualitativo pela reação em cadeia da polimerase em tempo real. As frequências alélicas e genotípicas foram estabelecidas pelo programa PASW Statistics 18, através dos testes t de Student e qui-quadrado, respectivamente. A frequência do alelo C foi estabelecida em 0,204 e em 0,796 para o alelo G no grupo de pacientes. A distribuição das frequências genotípicas foram 0,050 de homozigotos para o alelo C, 0,642 de heterozigotos e 0,308 de homozigotos para o alelo G. Não houve diferenças estatísticas significantes entre o grupo controle e os pacientes com DH. Esses resultados estão sendo associados com a idade de início da doença. O protocolo utilizado se mostrou eficiente para a genotipagem das amostras. Os resultados obtidos até o momento não indicam diferenças significativas entre pacientes com DH e o grupo controle. O alelo menos frequente no rs3512 (C), apresenta frequência mais elevada na Europa (0,30), seguido pela África (0,21) e América Latina (0,18). Sendo assim, a frequência do alelo C determinada na coorte estudada (0,204) encontram-se dentro do esperado. E, como foi descrito um atraso nas manifestações dos sintomas em pacientes com HD portadores do alelo C, estamos avaliando se essa associação está também presente na nossa população.

**eP3068****Evaluation of GAA repeat polymorphic region within human FXN gene**

Rafael Caesar Gomes Gonçalves; Rafaella Mergener; Laura Bannach Jardim; Maria Luiza Saraiva-Pereira  
 HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

FXN gene is located in the long arm of chromosome 9 and codes for frataxin, a mitochondrial protein. Although function of frataxin is not fully understood, this protein plays a role in cellular iron homeostasis and at iron-sulfur clusters biogenesis that is required for synthesis of enzymes from mitochondrial respiratory chain complexes. FXN gene contains a GAA repeat polymorphic region within intron 1, and length of this tract varies from 7-34 GAA repeats in normal alleles. Expanded alleles might be from 70 to 1,000 or more GAA repeats. A combination of two alleles with expanded GAA repeat regions causes Friedreich ataxia (FRDA), the most common of neurodegenerative disorders of recessive trait, with an incidence of 1:30,000. Our aim was to determine the distribution of alleles within a normal population and to apply triplet repeat primed-PCR (TP-PCR) in order to detect expanded alleles. DNA was isolated from peripheral blood from two different groups: individuals with clinical suspicion of FRDA ( $n=60$ ) and controls ( $n=62$ ). Flanking regions of GAA repeat were amplified by conventional PCR using a fluorescent labeled primer to detect normal alleles, and another set of primers was designed for TP-PCR in order to detect mutant expanded alleles. Amplified products from both reactions were