



# EXPLORANDO A COMPLEXIDADE GENÉTICA DA EPILEPSIA MIOCLÔNICA JUVENIL



Oliveira, F.A.<sup>1</sup>; Conte, F.F.<sup>1</sup>; Gonsales, M.C.<sup>1</sup>; Peluzzo, T.M.<sup>1</sup>; Betting, L.E.<sup>2</sup>; Holanda, D.A.<sup>3</sup>; Gitaí, L.L.G.<sup>4</sup>; Gameleira, F.T.<sup>4</sup>; Gitaí, D.L.G.<sup>3</sup>; Cendes, F.<sup>2</sup>; Lopes-Cendes, I.<sup>1</sup>

1. Departamento de Genética Médica, 2. Departamento de Neurologia, FCM, Unicamp - Campinas, e o programa CINAPCE\*, São Paulo, Brasil, 3. Setor de Genética e Biologia Molecular, ICBS, 4. Setor de Neurologia, HUPAA, UFAL - Maceió

Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, CEP 13083-887, Campinas, SP, Brasil.

• Cooperação Interinstitucional para Pesquisas sobre o Cérebro.

## INTRODUÇÃO

As epilepsias são um grupo de síndromes neurológicas crônicas caracterizadas pela disfunção temporária de um conjunto de neurônios, associadas ou não a diversas condições patológicas [1]. Dentre elas, destaca-se a epilepsia mioclônica juvenil (EMJ), responsável por 5% a 11% das epilepsias. A EMJ manifesta-se geralmente entre 9 e 27 anos e é caracterizada por mioclônias arrítmicas nos membros superiores, podendo haver também crises tônico-clônico-tônicas generalizadas [2].

Mutações no gene *EFHC1* foram implicadas com fenótipos de epilepsias idiopáticas generalizadas (EIGs) como a EMJ [3,4,5,6] a epilepsia ausência juvenil (EAJ) [7]. Este gene codifica uma proteína que possui três domínios de função desconhecida chamados DM10 e um domínio de ligação a cálcio, denominado *EF Hand* [3].

Recentemente, foi descoberto que a proteína EFHC1 associa-se a microtúbulos e que a perda de função de EFHC1 interfere na organização do fuso mitótico, interrompendo a progressão do ciclo celular [8]. A proteína EFHC1 também está ligada ao processo de migração radial durante o desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC) e a perda de sua função poderia levar a alterações na arquitetura cortical e sub-cortical.

Como mutações no gene *EFHC1* foram identificadas em mais de um tipo de EIG (EMJ e EAJ), sugerindo uma possível base genética comum, este projeto tem como objetivo a busca de mutações nesse gene em pacientes com diferentes formas de EIGs. Além disso, pretende-se realizar o estudo da correlação entre o genótipo e fenótipo desses indivíduos.

## METODOLOGIA

O DNA genômico foi extraído a partir do sangue periférico de 134 pacientes com EIGs, sendo 102 com EMJ provenientes dos ambulatórios de Neurologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Os 11 exons do gene *EFHC1* foram amplificados pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciados em sequenciador automático. As alterações encontradas foram investigadas em 50 indivíduos não-afetados (controles).

Para a análise do potencial de patogenicidade das alterações, foram utilizados os programas de predição de patogenicidade MutPred, SNPs&GO, PolyPhen, PolyPhen2 e Pmut. As análises estruturais do cérebro dos pacientes foram realizadas por exame de ressonância magnética.

## RESULTADOS

Até o momento, foram sequenciados os exons 3, 4, 5, 7, 10 e 11 em pacientes com diferentes tipos de EIGs. Foram identificadas oito alterações de base única (Tabela 1), dentre as quais três são alterações inéditas, duas no **Exon 5** e uma no **Exon 10**, quatro são alterações já descritas por Bai e colaboradores [6] nos **Exons 3, 4 e 11** e outra alteração está presente em bancos de dados de SNP no **Exon 10**. Não foram encontradas alterações no exon 7. Os resultados da predição de patogenicidade das alterações encontradas são mostrados na tabela 1.

Tabela 1 - Alterações encontradas e predição do potencial patogênico das mutações.

			Pacientes	MutPred	PolyPhen2	PolyPhen	Pmut	SNPs&GO
Exon 3	475C>T	R159W	12 (EMJ)	0.166	benigna	<b>Possivelmente prejudicial</b>		Neutra
	545G>A	R182H	5 (EMJ)	0.219	benigna	benigna	<b>Patológica</b>	Neutra
Exon 4	685T>C	F229L	3 (EMJ)	<b>0.716</b>	<b>Possivelmente prejudicial</b>	benigna	Neutra	Neutra
Exon 5	887G>A *	R296H	2 (EMJ)	<b>0.650</b>	<b>Possivelmente prejudicial</b>	benigna	<b>Patológica</b>	Neutra
	896A>G *	K299R	1 (EMJ)	<b>0.725</b>	<b>Possivelmente prejudicial</b>	benigna	Neutra	Neutra
Exon 10	1766G>A *	E589K	1 (EMJ)	0.516	benigna	<b>Possivelmente prejudicial</b>	<b>Patológica</b>	Neutra
	1821A>G	N607S	1 (EMJ)	0.506	benigna	benigna	<b>Patológica</b>	Neutra
Exon 11	1855A>C	I619L	13 (EMJ) 1 (CCTC) 1 (EAJ)	0.196	benigna	benigna	Neutra	Neutra

\* = Alterações inéditas

Verificamos que não há um consenso entre os resultados apresentados por esses programas. Uma explicação para isso é que eles utilizam diferentes parâmetros para realizar a predição da patogenicidade, como o grau de conservação evolutiva do aminoácido mutado, interações moleculares com aminoácidos adjacentes, perda e ganho de sítios de processamento pós traducional, entre outros. O potencial patogênico dessas mutações só será esclarecido definitivamente através de estudos funcionais.

## CONCLUSÕES

- Encontramos oito alterações diferentes no gene *EFHC1* entre pacientes com EIG;
- A frequência de alterações no *EFHC1* no nosso grupo de pacientes foi de cerca de 30% (40 de 134), mas se considerarmos apenas indivíduos com EMJ a frequência sobe para 34% (35 de 102);
- Nós não encontramos diferenças clínicas significativas entre pacientes com e sem mutações no *EFHC1*;
- O potencial patogênico dessas mutações ainda não foi determinado conclusivamente, já que os resultados obtidos por programas de predição foram variados. No entanto, vale a pena ressaltar que não encontramos nenhuma dessas mutações no grupo de 50 indivíduos controle analisados até agora.

## REFERÊNCIAS

- [1] Guereiro, C.A.M., Guereiro, M.M., Cendes, F., Lopes-Cendes, I. (2000). Considerações Gerais. In: *Epilepsia*. Lemos, São Paulo: 1-10.
- [2] Delgado-Escueta, A.V., Medina, M.T., Serratos, J.M., et al. (1999). Mapping and positional cloning of common idiopathic generalized epilepsies: Juvenile Myoclonic Epilepsy and Childhood Absence Epilepsy. In: Jasper's Basic Mechanisms of Epilepsies. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 351-374.
- [3] Suzuki, T., Delgado-Escueta, A.V., Aguan, K., et al. (2004). Mutations in *EFHC1* cause juvenile myoclonic epilepsy. *Nat. Genet.*, **36**(8): 842-849.
- [4] Annesi, F., Gambardella, A., Michelucci, R., et al. (2007). Mutational analysis of *EFHC1* gene in Italian families with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia*, **48**(9): 1686-90.
- [5] Medina, M.T., Suzuki, T., Alonso, M.E., et al. (2008). Novel mutations in *Myoclonin1/EFHC1* in sporadic and familial juvenile myoclonic epilepsy. *Neurology*, **70**(22 Pt 2): 2137-2144.
- [6] Bai, D., Bailey, J.N., Durón, R.M., et al. (2009). DNA variants in coding region of *EFHC1*: SNPs do not associate with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia*, **50**(5): 1184-1190.
- [7] Stogmann, E., Lichtner, P., Baumgartner, C., et al. (2006). Idiopathic generalized epilepsy phenotypes associated with different *EFHC1* mutations. *Neurology*, **67**(11): 2029-2031.
- [8] de Nijs, L., León, C., Nguyen, L. et al. (2009). *EFHC1* interacts with microtubules to regulate cell division and cortical development. *Nat. Neurosci.*, **12**(10):1266-74.

