



# INVESTIGANDO A BASE GENÉTICA DAS EPILEPSIAS IDIOPÁTICAS GENERALIZADAS

Thiago M. Peluzzo<sup>1</sup>, Fábio F. Conte<sup>1</sup>, Luiz E. Betting<sup>2</sup>, Delma A. Holanda<sup>3</sup>, Livia L. G. Gitaí<sup>4</sup>, Fernando T. Gameleira<sup>4</sup>, Daniel L. Gitaí<sup>3</sup>, Fernando Cendes<sup>2</sup>, Iscia Lopes-Cendes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Genética Médica, <sup>2</sup> Departamento de Neurologia, FCM, Unicamp - Campinas, e o programa CINAPCE\*, São Paulo, Brasil; <sup>3</sup> Setor de Genética e Biologia Molecular, ICBS, <sup>4</sup> Setor de Neurologia, HUPPA, Universidade Federal de Alagoas UFAL, Maceió

\* Cooperação Interinstitucional para Pesquisa do Cérebro

e-mail: [icendes@unicamp.br](mailto:icendes@unicamp.br)

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

## INTRODUÇÃO

As epilepsias formam um grupo de síndromes neurológicas crônicas, decorrentes de alterações das funções cerebrais, associadas ou não a outras condições patológicas. Observa-se uma ampla diversidade de manifestações clínicas, etiologias e prognósticos, principalmente nas epilepsias idiopáticas generalizadas (EIGs).

Dentre as EIGs mais comuns, destacam-se as síndromes epiléticas de início na adolescência como a epilepsia mioclônica juvenil (EMJ) e a epilepsia ausência juvenil (EAJ), que representam 5% a 11% de todas as epilepsias.

Mutações em um gene chamado *EFHC1*, implicado com o fenótipo da EMJ e EAJ, foram descritas em pacientes da América Central, Europa e Japão. Recentemente, foi demonstrado que a proteína EFHC1 associa-se a microtúbulos e, por isso, é componente de estruturas microtubulares, como o centróssomo, o fuso mitótico, cílios e flagelos (de Nijs et al., 2006; de Nijs et al., 2009). Em neurônios, foi observada que a perda de função de EFHC1 interfere na organização do fuso mitótico, interrompe a progressão da fase M do ciclo celular, induz a agregação de microtúbulos e aumenta a taxa de apoptose. Além disso, foi mostrado que durante o desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC), EFHC1 desempenha um papel no processo de migração radial, atuando tanto na divisão dos progenitores neuronais como na locomoção de neurônios pós-mitóticos. Assim, a perda de função de EFHC1 pode levar a mudanças na arquitetura cortical e sub-cortical do cérebro, o que pode ser uma das causas das EIGs (de Nijs et al., 2009).

Este projeto tem como objetivo principal a triagem de mutações nos exons do gene *EFHC1* em diferentes formas de EIGs e explorar a presença de correlações entre o genótipo e o fenótipo dos pacientes.

## MÉTODOS

Extração do DNA genômico obtido a partir do sangue periférico de 135 pacientes não relacionados com EIG, da UNICAMP e UFAL, mais 50 indivíduos controle.

Desenho de primers que flanqueiam os exons do gene *EFHC1*.

Amplificação dos exons pela reação em cadeia da polimerase (PCR).

Deteção de mutações através do sequenciamento dos produtos de amplificação através de sequenciador automático.

Análise das características clínicas dos pacientes.

Análise estrutural do cérebro por ressonância magnética.

## RESULTADOS

Inicialmente, os exons 4 e 5 foram os primeiros a serem amplificados e sequenciados para todos os pacientes pois são *hot spots* de mutações (Suzuki et al., 2004; Stogmann et al., 2006; Annesi et al., 2007; Medina et al., 2008; Bai et al., 2009).

A análise dos dados obtidos revelou uma alteração de base única no exon 4 em três pacientes, um com EMJ familiar e os outros dois com EMJ esporádica, não sendo encontrada nos pacientes da UFAL e em indivíduos controle. Essa mutação é uma transição que resulta numa substituição de timina para citosina na posição 685 (685T>C) trocando uma fenilalanina por uma leucina (F299L). Suzuki e colaboradores (2004) já haviam descrito esta mutação e a implicaram como causa da EMJ através de ensaios funcionais. Os eletroferogramas dos três pacientes em que as mutações foram encontradas estão mostrados na Fig. 1.

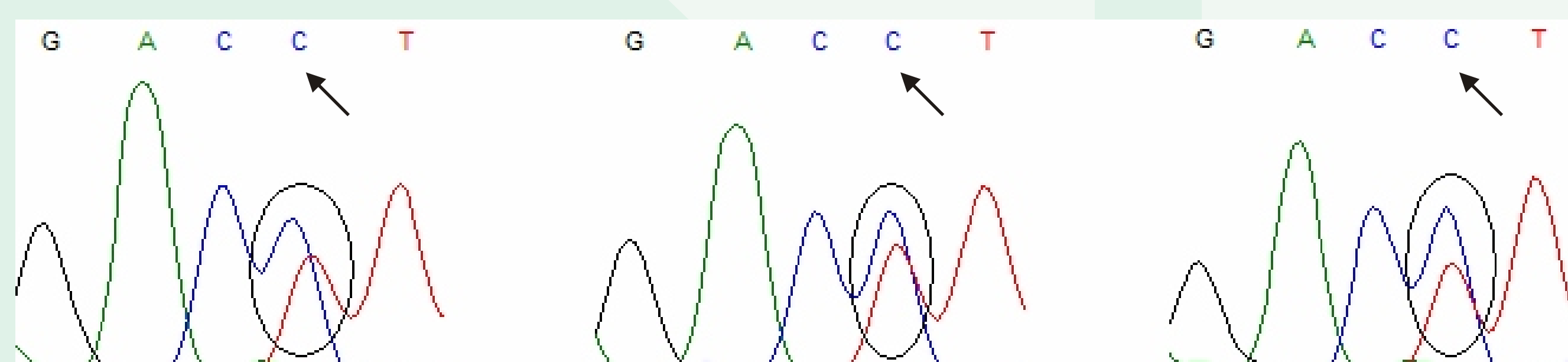


Fig. 1: Eletroferograma dos três pacientes em que foi verificada uma mudança de timina para citosina na posição 685 (685T>C) do exon 4 do gene *EFHC1*

A frequência dessa mutação nos nossos pacientes é de 2,2% (3 em 135), mas considerando somente os pacientes com EMJ, essa frequência sobe para 2,9% (3 em 102). Quando é considerado o histórico familiar dos pacientes, a frequência é de 1,7% (1 em 57) nos pacientes com epilepsia familiar e de 2,6% nos pacientes com epilepsia esporádica. Novamente, considerando somente os pacientes com EMJ, essas frequências sobem para, respectivamente, 2,9% (1 em 34) e 3,2% (2 em 63). Bai e colaboradores (2009) reportaram uma frequência de 1,5% (2 em 130 pacientes com EMJ) para esta mutação, ou seja, uma frequência duas vezes menor à observada em nosso estudo, quando são considerados somente os pacientes com EMJ.

No exon 5, a análise dos sequenciamentos revelou outra alteração de base única em um paciente com EMJ familiar, estando ausente nos pacientes da UFAL. Essa mutação é uma transição de uma adenina para guanina na posição 896 (896A>G), resultando na troca de uma lisina por uma arginina (K299R). Vale ressaltar que esta variante não havia sido descrita na literatura e por isso seu potencial patogênico ainda é desconhecido. O eletroferograma do paciente em que esta mutação foi verificada é mostrado na Fig. 2.

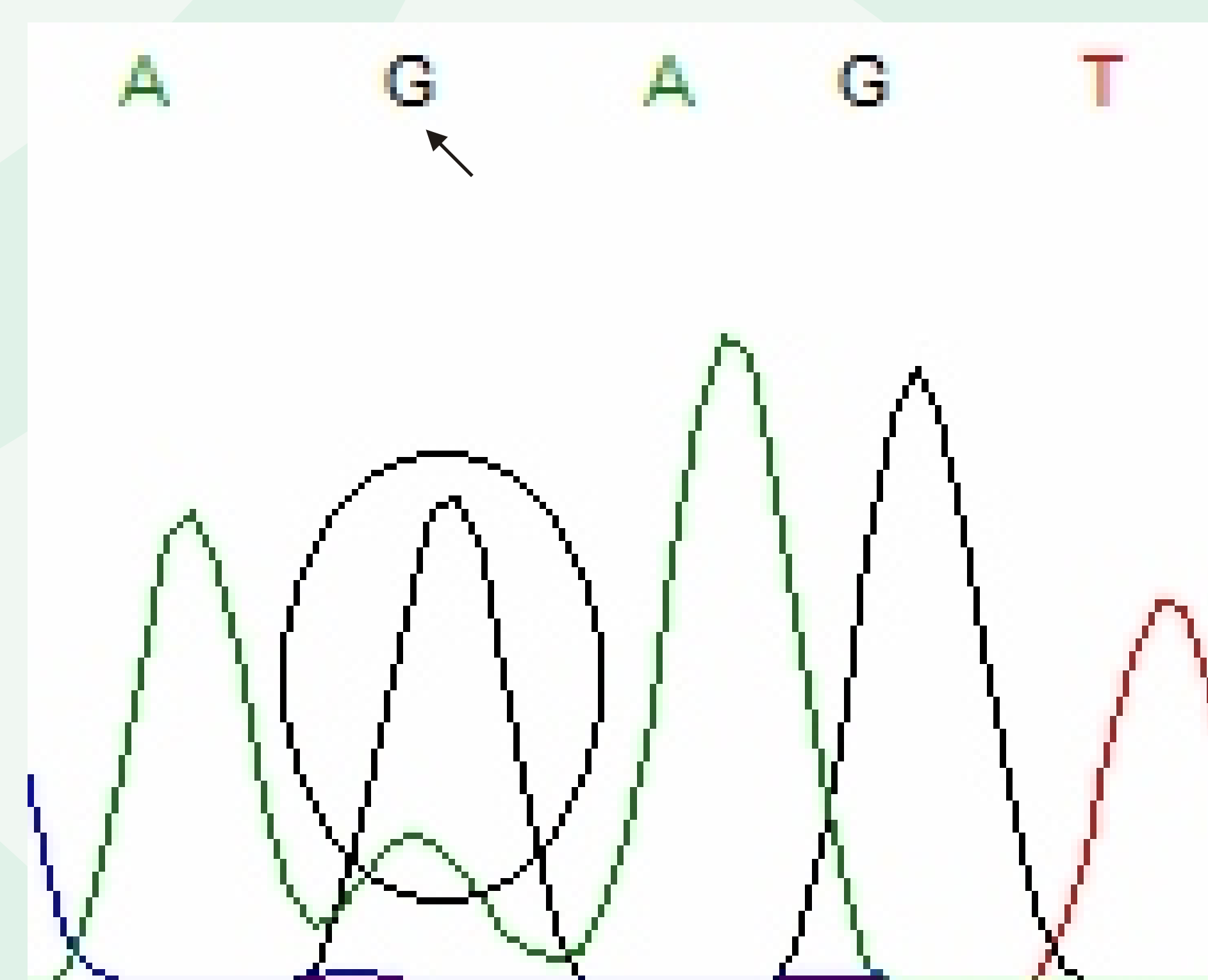


Fig. 2: Eletroferograma do paciente em que foi verificada uma mudança de adenina para guanina na posição 896 (896A>G) no exon 5 de gene *EFHC1*.

A frequência dessa mutação na nossa casuística é de 0,7% (1 em 135), mas considerando somente os pacientes com EMJ, essa frequência sobe para 1% (1 em 102). Se considerarmos o histórico familiar somente em pacientes com EMJ, as frequências são de 1,7% (1 em 57) e 2,9% (1 em 34).

Em relação às características clínicas e o padrão dos eletroencefalogramas desses pacientes, não foram observadas diferenças entre os pacientes que apresentaram mutações no gene *EFHC1* e os que não apresentaram.

Esses resultados abrem a perspectiva de que novas mutações podem ser encontradas nos outros exons desse gene, ressaltando a importância do gene *EFHC1* na etiologia da EMJ, uma das formas mais comuns de EIG no mundo.

## CONCLUSÕES

- O sequenciamento dos exons 4 e 5 revelou duas alterações de base única, sendo ambas do tipo transição.
- A frequência da mutação 685T>C na nossa casuística é aproximadamente duas vezes maior que a descrita previamente.
- Nós encontramos uma nova mutação *missense* no exon 5 de um paciente com EMJ. Nós não encontramos diferenças clínicas significantes entre os pacientes com e sem mutação em *EFHC1*.