

Estudando e Entendendo a Genética da ELA

Visão geral

ELA esporádica e familiar

Aproximadamente 90% dos casos de ELA são chamados de "esporádicos", o que significa que a causa ou causas da doença são desconhecidas. Aproximadamente 5-10% dos casos são devidos a mutações genéticas e são herdados de um membro da família. Se houver dois ou mais membros da família com ELA, a doença é considerada familiar. Há um número crescente de mutações genéticas que foram identificadas em pacientes familiares e aparentemente esporádicos. Os médicos estão reconhecendo que a classificação esporádica e familiar não é clara como era originalmente pensado. É provável que a genética tenha um papel significativo na ELA esporádica. Aproximadamente 60% dos genes associados à ELA familiar foram identificados.

Genes e mutações

Os genes são cadeias de DNA que fornecem instruções, ou código, para produzir proteínas. As proteínas são os principais componentes de todos os tipos de células, controlando reações e fornecendo estrutura. Os genes são ligados para formar cromossomos, que residem no núcleo de cada célula. Os cromossomos e os genes que eles contêm são herdados, passando de pai para filho.

Uma mutação é um erro nas instruções do DNA, geralmente fazendo com que a célula produza pouca proteína, muita proteína ou uma proteína defeituosa. Mutações diferentes podem causar efeitos diferentes. Qualquer alteração na proteína normal pode ser prejudicial para a célula e causar doenças. Por exemplo, acredita-se que a perda de função da proteína angiogenina devido a mutação no gene esteja ligada a alguns casos de ELA. Um ganho de uma nova função tóxica da proteína superóxido dismutase 1 (SOD1) é provavelmente como a mutação do gene SOD1 causa ELA.

Uma mutação também pode ser prejudicial não porque altera a proteína codificada pelo gene, mas devido ao seu efeito no RNA. Um tipo de RNA, chamado RNA mensageiro (mRNA), é um intermediário, ou mensageiro, entre gene e proteína. Para fazer uma proteína, a célula primeiro usa o gene do DNA para formar uma cópia do mRNA. Essa cópia do mRNA é então usada para fornecer as "instruções de trabalho" para produzir a proteína. Depois de formado e antes de ser usado para produzir proteínas, o RNA é processado de várias maneiras diferentes. Erros no processamento do RNA podem causar doenças. Por exemplo, o gene C9ORF72 pode causar ELA devido a acúmulos de RNA que ocorrem quando o gene é mutado. As mutações no FUS e no TDP43 podem prejudicar o processamento normal do RNA a partir de uma ampla variedade de genes, levando à ELA.

Padrões de herança

Os genes estão presentes em pares, uma cópia herdada de cada pai. Para a maioria dos genes da ELA, apenas uma cópia mutada é necessária para causar a doença. Isso é chamado de gene "dominante". Para outros genes, ambas as cópias devem sofrer mutações para causar doenças. Isso é chamado de gene "recessivo".

Durante a formação de óvulos e espermatozoides, os pares de genes se dividem, de modo que um óvulo (ou esperma) contém apenas uma cópia do gene. Se um pai ou mãe carrega uma cópia do gene da doença, há uma chance de 50 a 50 de transmitir esse gene para qualquer criança. Se o gene da doença for dominante, a criança desenvolverá a doença (já que é necessária apenas uma cópia). Se o gene for recessivo, a criança precisará herdar dois genes da doença, um de cada pai. Se ambos os pais carregam uma cópia desse gene recessivo, as chances de qualquer criança herdar duas cópias e desenvolver doença são de 25%.

Abaixo, informações sobre os genes da ELA mais conhecidos:

C9ORF72

Mutações nesse gene, descobertas em 2011, são a causa genética mais comum da ELA. Seu nome refere-se à posição do gene “quadro de leitura aberto” no cromossomo 9. As mutações nesse gene representam entre 25% e 40% de todos os casos familiares de ELA (dependendo da população) e também aproximadamente 7% dos casos da ELA esporádica. A mutação genética parece atuar de maneira dominante. Esse gene também causa 25% de outra doença neurodegenerativa, chamada demência frontotemporal (DFT). Algumas pessoas com esse gene desenvolvem apenas sintomas de ELA, outras apenas de DFT, e algumas apresentam sintomas de ambos os distúrbios. Existem muitas teorias sobre como o C9orf72 causa doenças e é objeto de muita pesquisa intensa.

SOD1

Mutações na superóxido dismutase de Cu / Zn (SOD1) foram descritas pela primeira vez em 1993, e SOD1 foi o primeiro gene associado à ELA. É responsável por cerca de 10-20% da ELA familiar e 1-2% da ELA esporádica. É herdado de maneira dominante. O SOD1 é uma enzima abundante nas células que servem para manter as células protegidas contra resíduos metabólicos que podem causar danos se não forem inofensivos. Como as mutações no SOD1 causam ELA é desconhecida. É claro que a doença não se deve à falta de função da proteína, pois a exclusão do gene em modelos animais não causa ELA. Em vez disso, parece assumir uma nova função tóxica, possivelmente relacionada a um aumento na tendência das moléculas mutantes de SOD1 de agregar e formar grupos de neurônios motores e astrócitos (células que morrem na ELA).

NEK1

Descobertas em 2016 por meio de um esforço global do **Project MinE**, as mutações no NEK1 estão presentes nas formas esporádica e familiar da ELA. Juntos, o NEK1 está associado a 3% de todos os casos de ELA. Atualmente, estão em andamento pesquisas para entender o papel da NEK1 na doença da ELA, como é herdada e outras questões importantes. Saiba mais sobre esta importante descoberta de genes.

TDP43

A proteína 43 de ligação ao DNA TAR (TDP43) foi ligada à ELA em 2008. Mutações na TDP43 causam uma forma dominante de ELA e são responsáveis por cerca de 4% da ELA familiar e cerca de 1% da ELA esporádica. O papel normal da proteína TDP43 inclui a ligação ao RNA, a molécula mensageira genética. Mutações no gene TDP43 fazem com que a proteína TDP43 se desloque nos neurônios motores, longe do núcleo onde é normalmente encontrado, e no citoplasma (o material que circunda o

núcleo), onde se agrega em aglomerados que podem ser vistos ao microscópio. Em quase todos os casos de ELA (exceto nos casos de SOD1), embora as mutações no TDP43 estejam ausentes, o TDP43 anormalmente acumulado pode ser detectado, sugerindo que o TDP43 pode desempenhar um papel central em muitas formas de ELA.

FUS

Descobriu-se também que o Fused sarcoma (FUS) desempenha um papel na ELA em 2008. Como o TDP43, ele é herdado de maneira dominante. É responsável por cerca de 5% da ELA familiar e cerca de 1% da ELA esporádica. É estruturalmente muito semelhante ao TDP43 e também é uma proteína de ligação ao RNA, e pode desempenhar um papel normal semelhante na célula. O FUS e o TDP43 podem de fato interagirem como parte de sua função normal.

UBQLN2

A ubiquilina-2 (UBQLN2) foi ligada à ELA em 2011. Diferentemente de todos os outros genes conhecidos, a ubiquilina-2 reside no cromossomo X, um dos cromossomos que determinam o sexo. Os homens carregam apenas um cromossomo X, enquanto as mulheres carregam dois. Apesar disso, homens e mulheres desenvolvem ELA devido a mutações na ubiquilina-2. A função normal da proteína é ajudar a degradar proteínas danificadas ou defeituosas na célula. É provável que mutações no gene interfiram nessa função e possam levar ao acúmulo de material nocivo dentro da célula.

KIF5A

O KIF5A, ou membro da família kinesin 5A, foi vinculado a ELA em março de 2018 por uma colaboração internacional de sequenciamento. Mutações que contribuem para a ELA familiar parecem ser herdadas de maneira autossômica dominante. Pessoas com mutações familiares no KIF5A apresentam uma taxa de sobrevivência prolongada de 10 anos em média. O KIF5A é uma proteína motora baseada em microtúbulos envolvida no transporte de carga protéica na célula. As cinesinas desempenham um papel importante no transporte ao longo de um axônio do neurônio motor (transporte axonal), que é crucial para a saúde do neurônio motor. Saiba mais sobre o KIF5A aqui.

VAPB

▪ **Estudo 1: Doutoranda Melinda Beccari – 2015**

A identificação da ELA8, causada por uma mutação missense no gene VAPB tem contribuído significativamente com o conhecimento dos mecanismos moleculares por trás da ELA. A literatura recente tem evidenciado que a diminuição dos níveis de VAPB está presente em modelos celulares e murinos da doença, e também em amostras de pacientes, sugerindo que esta proteína teria papel central na doença e uma contribuição significativa para a morte dos neurônios motores. O Intuito aqui é o desenvolvimento de um ensaio quantitativo para as proteínas VAPA, VAPB e VAPC baseado em cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS), para a posterior avaliação de VAPB como possível biomarcador em ELA, e de suas isoformas VAPA e VAPC como modificadores da doença. **Para a análise genômica, foram avaliados 67 pacientes, sendo que 31 (ou 46%) apresentaram a mutação c.C166T em VAPB; 4 pacientes (6%) em SOD1, sendo que um destes apresentou uma mutação também em FIG4; 1 paciente (1.5%) foi identificado uma mutação patogênica em FUS; outro, duas mutações deletérias em trans em SPG11. Os níveis de RNAm de VAPB, VAPA e EPHA4 não são estatisticamente distintos entre pacientes e controles; porém, os níveis**

de EPHA4 estavam significativamente elevados em dois pacientes de início bulbar da doença. Para o desenvolvimento do método quantitativo por LC-MS/MS, foram escolhidos 8 peptídeos inequívocos para análise, estabelecidos dos parâmetros de corrida, e desenvolvidos dois padrões internos (linhagens SILAC e VAPB recombinante) para a quantificação. Esta ferramenta desenvolvida poderá auxiliar não apenas os estudos moleculares que envolvem os mecanismos por trás ELA8, responsável por uma elevada taxa dos casos familiares brasileiros, mas também poderá determinar o potencial de VAPB como biomarcador para Esclerose Lateral Amiotrófica.

▪ **Estudo 2: Matheus Luis Castelan Trilico – 2019**

A esclerose lateral amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa heterogênea em todo o mundo, com formas esporádicas e familiares (FALS). Um raro subtipo autossômico dominante de FALS foi identificado em uma família brasileira, classificada como ALS tipo 8 (ALS8) ligada ao gene VAPB

Resultados: Trinta e um pacientes com ELA foram elegíveis para triagem genética para ELA8 e a mutação foi detectada em cinco pacientes de famílias não relacionadas. A idade média de início foi de $45 \pm 5,3$ anos para o grupo ALS8 e $47,6 \pm 13,1$ anos para o grupo não-ALS8 e o tempo entre o início dos sintomas e o último acompanhamento foi maior nos pacientes com ALS8. Três pacientes do grupo ALS8 apresentaram tremor (60%), quatro apresentaram dor no membro afetado (80%) e todos apresentaram câibras e protrusão abdominal. Conclusões: Este estudo apresenta a maior série de pacientes com ELA8 no sul do Brasil. Nossos achados demonstram várias características clínicas que podem ser características da ELA8 e confirmam que os médicos devem suspeitar da ELA8 quando as manifestações clínicas incluem câibras, protrusão abdominal, dor e tremor.

Outras variantes genéticas da ELA

Outras variantes genéticas da ELA afetam relativamente poucas pessoas. No entanto, entender como elas causam a doença pode oferecer grandes insights sobre o processo da doença, o que pode levar a novos alvos terapêuticos. Esses genes incluem **VCP** (proteína contendo valosina), **ALS2** (alsina), **SETX** (senataxina), **ANG** (angiogenina), **PFN1** (profilin-1), **MATR3** (matrina-3), **CHCHD10** (bobina-helicoidal-helicoidal) domínio helicoidal da bobina contendo 10), **TUBA4A** (tubulina, alfa 4A), **TBK1** (quinase de ligação a TANK 1), **NEK1**, **C21orf2** e **OPTN** (optineurina), entre outros. Muitas das mutações genéticas estão em proteínas de função semelhante e podem ser agrupadas naquelas envolvidas na dinâmica do axônio celular e naquelas envolvidas no mecanismo de depuração da célula, para citar algumas.

Por que isso importa?

Cinco a 10% dos casos de ELA são familiares, o que significa que a pessoa herdou um gene mutado de seus pais. É muito provável que a genética contribua, direta ou indiretamente, para uma porcentagem muito maior de casos de ELA.

Vários esforços grandes de "big data" para sequenciar os genomas de milhares de pessoas estão aumentando. Mais de 25 genes ALS foram identificados desde a descoberta do SOD1 em 1993. Com um boom na tecnologia de sequenciamento para ler o DNA do genoma de uma pessoa e custos mais baixos para realizar experimentos de sequenciamento, a descoberta de genes explodiu. Desde o Desafio do Balde de Gelo em 2014, quatro novos genes foram descobertos, TBK1, TUBA4A e agora NEK1 e C21orf2, e outros dois genes (MOBP e SCFD1), fortemente associados a ELA.