

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - LICENCIATURA

LUCIMARA ASCARI BARBOZA

**DIAGNÓSTICO MOLECULAR E ACONSELHAMENTO GENÉTICO NA  
DOENÇA DE HUNTINGTON: UM ESTUDO DE CASO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

DOIS VIZINHOS  
2021

LUCIMARA ASCARI BARBOZA

**DIAGNÓSTICO MOLECULAR E ACONSELHAMENTO GENÉTICO NA  
DOENÇA DE HUNTINGTON: UM ESTUDO DE CASO**

**MOLECULAR DIAGNOSIS AND GENETIC COUNSELING IN  
HUNTINGTON'S DISEASE: A CASE STUDY**

Trabalho apresentado como pré-requisito para a obtenção de aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, no Curso de Ciências Biológicas - Licenciatura, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nédia de Castilhos Ghisi

DOIS VIZINHOS

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais.

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

### **Trabalho de Conclusão de Curso n<sup>o</sup> -**

#### **Diagnóstico molecular e aconselhamento genético na doença de Huntington: um estudo de caso**

por

LUCIMARA ASCARI BARBOZA

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado às 13 horas e 30 minutos do dia 27 de agosto de 2021, como requisito parcial para obtenção do título de biólogo (Curso Superior em Ciências Biológicas – Licenciatura, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos). O candidato foi arguido pela banca examinadora composta pelos membros abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho **APROVADO**.

Msc. Marina Wust Vasconcelos  
UTFPR - DV

Profa. Dra. Nêdia de Castilhos Ghisi  
Orientador UTFPR - DV

Profa. Dra. Silvia Maria Millan Gutierrez  
UFLA - Universidade Federal de Lavras

Profa. Dra. Daniela Aparecida Estevan  
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas  
UTFPR - DV

**“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso”**

## DEDICATÓRIA

A deus por ter me concebido o dom da vida e de ser mãe. Ao Lucas Rodolpho,  
motivo pelo qual desenvolvi esse trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Dedicar algo a uma pessoa é fácil, mas se torna tão difícil quando se tem tantas pessoas que ajudam durante uma caminhada longa e de muitas incertezas. Minha vida acadêmica não foi exemplar, mas me orgulho do que conquistei e de não ter desistido.

Agradeço aos meus pais os responsáveis por me estigar desde pequena a estudar e que sempre estiveram comigo em todas as ocasiões, por todas as vezes que cuidaram do meu filho para que conseguisse ir para aula. Pelo carinho, atenção em momentos em que ele estava doente e eu não podia estar presente, também por estar dividida entre trabalho e estudos. Aos meus Irmãos Luciane e Tiago que muitas vezes levaram meu filho passear para que conseguisse fazer meus trabalhos e estudar para as provas, que me animaram quando estava pensando em desistir (e não foram poucas vezes), que sempre torceram e acreditaram em mim.

A meu esposo Elivelton que por muito tempo foi a Universidade durante a noite me esperar no RU (restaurante universitário), para que conseguisse amamentar nos intervalos das aulas. Por ter me apoiado quando decidi investir na pesquisa deste projeto, mesmo sabendo das dificuldades financeiras que iríamos enfrentar (foram muitas), mas não me arrependo nem por um segundo. Obrigada por me escutar nas horas de desespero (porque choro muito, por tudo), por ser um pai incrível e tão presente, pelo companheirismo de me ajudar nas tarefas de casa, por apoiar meus sonhos, por mais malucos que sejam, por aceitar fazer parte deste projeto, eu sei como foi difícil essa decisão.

Agradeço imensamente minha orientadora Professora, Dra Nédia, a melhor orientadora sem sombra de dúvidas, profissional exemplar, dedicada e comprometida. O Ser humano mais bondoso que poderia ter cruzado meu caminho, que sempre me impulsionou para frente, nunca me deixou desistir, que me viu chorar centenas de vezes e me consolou, que me cuidou durante minha gestação no laboratório de BioMol e depois entendeu quando precisei levar um bebê, duas malas, um carinho e um monte de bugigangas (muitas vezes me ajudou carregar) para assistir as aulas. Obrigada por me falar diversas vezes sem cansar “vamos terminar esse TCC, não veio para UTF com um barrigão, depois com uma criança para desistir agora”.

Ao Laboratório de Análises Biológicas e Biologia Molecular (BioMol) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos pelas análises realizadas e a concessão de bolsa para a realização da pesquisa no Edital PROPPG 01/2017> “A Doença de Huntington (HD) é caracterizada principalmente pela disfunção motora, declínio cognitivo, além de distúrbios psiquiátricos” nos anos de 2017 a 2018.

Minha imensa gratidão a toda equipe UTFPR- DV, aos professores que sempre entenderam o fato do Lucas ir comigo para a Universidade, as meninas do RU que sempre me ajudaram com ele, as minhas colegas de turma. A Renata que durante a execução do experimento esteve corando os Géis de agarose no período da gestação, pois o brometo de etídio poderia causar má formação no bebê.

A Dra. Daniela Rocca que além de fornecer orientações médicas sobre a HD fornecendo pedidos de exames para os participantes deste projeto e encaminhamento para o CAPS da cidade quando necessário (pois até então em Dois Vizinhos, não havia encontrado nenhum médico com conhecimento nem interesse sobre o assunto). A Associação Brasil Huntington de São Paulo (ABH) que se dispôs a divulgar os questionários da pesquisa em suas mídias sociais e todos os participantes que voluntariamente responderam.

E claro não poderia deixar de agradecer a pessoa responsável por tudo, meu Lucas Rodolpho, obrigada filho por ser meu companheiro, essa criança linda, inteligente e compreensiva. Me perdoe por não ter sido tão presente quanto deveria, mas sempre procurei o melhor para você, espero que quando crescer leia esse texto e sinta orgulho, afinal, esse trabalho foi desenvolvido literalmente com você (desde a barriga até agora) e para você.

Enfim, agradeço todos que de uma forma ou outra me ajudaram, incentivaram e principalmente acreditaram em mim. Posso não ter mencionado todas as pessoas aqui nessa dedicatória, mas em meu coração está guardada minha eterna gratidão

*“O homem não teria alcançado o possível se, repetidas vezes, não tivesse tentado o impossível.”*

*Max Weber*

## RESUMO

BARBOZA, Lucimara Ascari. **DIAGNÓSTICO MOLECULAR E ACONSELHAMENTO GENÉTICO NA DOENÇA DE HUNTINGTON: UM ESTUDO DE CASO.** 90 f. Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Graduação em Ciências Biológicas – Licenciatura) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

A Doença de Huntington (HD) é uma doença genética, rara e degenerativa que acomete cerca de 5 a 10 pessoas a cada 100.000. A HD não possui tratamento e o seu diagnóstico é feito pela contagem das repetições dos nucleotídeos CGA no gene através de uma Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Sua manifestação é tardia e o tratamento é apenas paliativo, a HD ainda não tem cura. O diagnóstico molecular junto a com o aconselhamento genético (AG) é uma das melhores formas de diminuir casos de HD através do planejamento familiar e melhorar a qualidade de vida de pacientes diagnosticados. O estudo foi dividido em três etapas: Na primeira realização do diagnóstico molecular da Doença de Huntington (HD) e o aconselhamento genético (AG) de uma família do sudoeste do Paraná, através da extração do DNA de uma paciente clinicamente confirmada e comparação do seu DNA com de seus familiares. No qual um voluntário apresentou alterações significativas para o gene e as outras dois voluntários quantidades normais. Na segunda etapa apenas os participantes que não apresentaram alteração optaram pelo sequenciamento e um dos voluntários decidiu desistir por não concordar com o resultado. Na segunda etapa foi obtido a confirmação através de sequenciamento automático em laboratório especializado, comprovando a eficácia do protocolo utilizado. Na terceira etapa aplicação de um questionário sobre qualidade de vida. O resultado foi uma média de 0 a 2,9 em uma escala de 5 mostrando uma qualidade de vida baixa para os pacientes da HD participantes. Este trabalho corroborou com a confirmação da importância de diagnóstico precoce para a doença. E a eficácia dos métodos utilizados para desenvolver este trabalho.

**Palavras-chaves:** Coreia. Degeneração progressiva, Doença Genética, Mutação Autossômica



## ABSTRACT

BARBOZA, Lucimara Ascari. **MOLECULAR DIAGNOSIS AND GENETIC COUNSELING IN HUNTINGTON'S DISEASE: A CASE STUDY.** 90 f.

Course Conclusion Work Project (Graduate Course in Biological Sciences – Licentiate) – Federal Technological University of Paraná. Two Neighbors, 2021.

Huntington's Disease (HD) is a genetic, rare and degenerative disease that affects about 5 to 10 people per 100,000. HD has no treatment and its diagnosis is made by counting the CGA nucleotide repeats in the gene through a Polymerase Chain Reaction (PCR). Its manifestation is late and treatment is only palliative, HD still has no cure. Molecular diagnosis together with genetic counseling (GA) is one of the best ways to reduce cases of HD through family planning and improve the quality of life of diagnosed patients. The study was divided into three stages: In the first realization of molecular diagnosis of Huntington's Disease (HD) and genetic counseling (GA) of a family in southwestern Paraná, through the extraction of DNA from a clinically confirmed patient and comparison of its DNA from your family members. In which one volunteer showed significant changes to the gene and the other two volunteers in normal amounts. In the second stage, only the participants who did not show changes opted for sequencing and one of the volunteers decided to give up because he did not agree with the result. In the second stage, confirmation was obtained through automatic sequencing in a specialized laboratory, proving the effectiveness of the protocol used. In the third stage, a questionnaire on quality of life was applied. The result was a mean of 0 to 2.9 on a scale of 5 showing a poor quality of life for participating HD patients. This work confirmed the importance of early diagnosis for the disease. And the effectiveness of the methods used to develop this work

**Keywords:** Korea. Progressive degeneration. Genetic Disease. Autosomal Mutation

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figure 1: Mapa com distribuição geográfica dos 42 municípios que formam a região sudoeste do Paraná. A cor vermelha representa municípios com mais vulnerabilidade social, em azul claro os municípios que fazem divisa com o estado de Santa Catarina e na cor azul escuro os municípios com um índice social mais elevado .....	28
Figure 2: a) kit Promega®; b) vórtex; c) Centrífuga; d) Banho-maria; e) microtubos; f) micropipeta .....	32
Figure 3: a) Fotodocumentador e transiluminador sobre luz UV; b) Fonte e cuba para corrida de eletroforese; c) termociclador Amplitherm .....	33
Figure 4: Heredograma da família participante do projeto. Em destaque (quadrado laranja) está a família que participou voluntariamente do projeto	39
Figure 5: Resultado obtido para o paciente clinicamente confirmado com HD. Nota: HD1 e HD2 são duas amostras deste paciente. Setas indicam as bandas do DNA do paciente; Ladder representa o marcador para a contagem dos pares de base .....	40
Figure 6: Familiares do paciente com HD. V1-V4: familiares. HD1 é a amostra do paciente. Ladder representa o marcador para a contagem dos pares de base. ....	41
Figure 7: Resultado do sequenciamento do DNA do Paciente V1 .....	42
Figure 8: Resultado do sequenciamento do DNA do Paciente V2 .....	43
Figure 9: Resultado do exame de sequenciamento genético realizado e fornecido pelo voluntário V4 .....	44
Figure 10: Gráfico com percentual de participantes masculinos e femininos participantes da pesquisa através de questionários. ....	45
Figure 11: Mapa com as cidades onde os voluntários que participaram respondendo o questionário residem relacionando com a idade dos mesmos que vai de 22 a 74 anos. ....	46
Figure 12: Gráfico correspondente a amostragem de cuidadores de pacientes com HD representados com a palavra sim, e ou apenas familiares com pacientes afetados pela doença sem participação na vida cotidiana desses pacientes definidos pela palavra não .....	47
Figure 13: Relação de parentesco e cuidados com o(as) paciente(s) com HD.	48

Figure 14: Gráfico com as médias por domínio. Questões (Q) 1 e 2 sobre qualidade de vida, Domínio 1: Físico as questões correspondentes são (Q3, Q4, Q10, Q15, Q16, Q17, Q18), domínio 2: psicológico (Q5, Q6, Q7, Q11, Q19, Q26), domínio 3: Relações sociais (Q20, Q21, Q22), domínio 4: Meio ambiente (Q8, Q9, Q12, Q13, Q14, Q23, Q24, Q25). .....49

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A, T, C, G,	Adenina, Timina, Citosina e Guanina
ABH	Associação Brasil Huntington
AG	Aconselhamento Genético
HD	Doença de Huntington
HD1/HD2	Paciente clinicamente confirmado com a Doença de
Huntington	
SBGM	Sociedade Brasileira de Genética Molecular
SUS	Sistema Único de Saúde
V1	Voluntario 1
V2	Voluntario 2
V3	Voluntario 3
RNA	Ácido ribonucleico
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
PCR	Reação em cadeia da polimerase
Ph	potencial hidrogeniônico
CAG	Citosina, Guanina, Timina
PNAIPDR	Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras
OMS	Organização Mundial da Saúde
WHOQOL-100	Instrumento de avaliação de qualidade de vida
UTFPR-DV	Universidade tecnológica federal do Paraná – campus Dois Vizinhos
CEP-UTFPR	Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres humanos da UTFPR

CONEP

Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

BioMol  
EDTA

Laboratório de Análises Biológicas e Biologia Molecular  
Ácido etilenodiaminotetracético

## SUMÁRIO

1	INTRUDUÇÃO .....	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1	DOENÇAS GENÉTICAS.....	17
2.2	DOENÇA DE HUNTINGTON (HD).....	19
2.2.1	Medicamentos e tratamento .....	20
2.2.2	Diagnóstico .....	22
2.2.3	Atividades físicas e fisioterapia.....	23
2.2.4	Alimentação de pacientes com HD.....	24
2.2.5	HD juvenil.....	25
2.2.6	Aconselhamento genético (AG).....	26
2.3	MÉTODO WHOQOL-BREF.....	28
3	OBJETIVO .....	29
3.1	OBJETIVO GERAL.....	29
3.1.1	Objetivo específicos.....	29
4	METODOLOGIA .....	30
4.1	ETAPA 1: DIAGNÓSTICO MOLECULAR NA REGIÃO SUDOESTE DO PARANÁ.....	30
4.1.1	Extração de DNA .....	30
4.1.2	Eletroforese e PCR.....	32
4.1.3	Sequenciamento .....	34
4.1.4	Aconselhamento .....	35
4.2	ETAPA 3: PESQUISA COM ABORDAGEM DE QUESTIONÁRIOS....	35
4.2.1	Aplicação do questionário WHOQOL-BREF.....	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
6	CONCLUSÃO .....	51
	REFERÊNCIAS .....	52

## 1 INTRODUÇÃO

A HD é considerada uma doença rara por atingir aproximadamente 5 a 10 pessoas a cada 100 mil indivíduos. Porém já vem sendo estudada desde de 1872, ano de sua descoberta, sendo uma doença de manifestação tardia, que ainda não tem cura e os tratamentos são apenas paliativos (CHEMALE et al., 2000).

Os testes moleculares e o aconselhamento genético para a HD tornam possível um diagnóstico precoce para um melhor planejamento familiar, possibilitando melhores condições e uma maior qualidade de vida dos afetados e familiares. (BARBIERI, 2017)

Por ser uma doença de caráter hereditário dominante, onde os genitores afetados repassam a probabilidade de 50% de chance de manifestação para seus descendentes (ZATZ, 2000). Fator impactante que levou o probando (primeira pessoa que procurou participar da pesquisa) a procurar ajuda, pois os casos na família vêm se repetindo a gerações e não se tinha conhecimento sobre diagnósticos e tratamentos.

Um dos motivos para na descoberta da HD está vinculada ao fato de o Sistema único de saúde (SUS) não disponibilizar o aconselhamento genético (AG) para a população, mesmo tendo uma portaria desde 2009 legalizando o serviço (AURELIANO, 2018). Assim este estudo além de provar que os protocolos utilizados foram eficazes para o diagnóstico da HD, com um grande custo benefício podendo ser ofertado para famílias que não conseguem ter acesso a esse gênero de tratamento.

O trabalho foi realizado em consentimento com os participantes e com supervisão de profissionais qualificados, respeitando todos os direitos e confidencialidades dos envolvidos. Sendo comprovado sua eficácia através sequenciamento automático em laboratório especializado. Todos esses métodos e pesquisas junto a aplicação do questionário sobre qualidade de vida, comprovam o quanto as famílias precisam de apoio sobre o assunto.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 DOENÇAS GENÉTICAS

O DNA é formado por subunidades simples chamadas nucleotídeos: Adenina, Timina, Citosina e Guanina, que são denominadas por quatro letra do alfabeto A, T, C, G, e estão ligados por uma longa sequência linear que codifica a informação genética (ALBERTS et al., 1997). Essas subunidades, por sua vez, são formadas por três tipos de moléculas: um fosfato, um açúcar e uma base nitrogenada. No DNA as bases nitrogenadas podem ser as purinas (adenina ou guanina) ou as pirimidinas (timina ou citosina) (HEPP, 2016).

A evolução das técnicas de sequenciamento e genotipagem levou a um grande avanço na genética molecular (LIMA et al., 2019). É possível obter o DNA de qualquer material biológico, podendo ser de uma gota de sangue, de tecidos como pele ou músculos, ossos, fluídos como urina e até de fios de cabelo (desde que contenha o bulbo). Para tanto é preciso isolar o DNA dos demais componentes da célula, como proteínas, carboidratos e lipídios (HEPP, 2016).

Em outubro de 1983, Kary Mullis desenvolveu uma técnica que permitia à amplificação de uma sequência do material genético de qualquer organismo (MELLO; FONSECA-COSTA, 2006). Um método eficaz para amplificação de DNA, chamado de reação em cadeia da polimerase (PCR). Esse procedimento é realizado inteiramente de forma bioquímica, utilizando a enzima Taq DNA-polimerase, obtida da bactéria *Thermus aquaticus* (WATSON et al., 2015).

Dez anos após sua descoberta Mullis foi agraciado com o Prêmio Nobel em Química por desenvolver esse processo que permite que o DNA seja multiplicado artificialmente através de ciclos repetitivos (SILVA, 2016). Essa amplificação pode ser realizada totalmente *in vitro*, sendo possível amplificar uma sequência de nucleotídeos milhões de vezes apenas em algumas horas (SNUSTAD; SIMMONS, 2013).

O autor Barbieri, (2017) destaca que as alterações de um gene ou dos nucleotídeos, responsável por determinada característica, leva essa característica a ficar no mínimo alterada ou até a se perder. No caso da HD leva



a formação de uma proteína alterada que gera a doença. E através dessas técnicas de sequenciamento podem ser identificadas bem antes dos sintomas aparecerem.

Atualmente, estima-se que 5% das gestações resultem no nascimento de crianças com anomalia (Organização Mundial da Saúde). Nos últimos 25 anos, no Brasil, as doenças genéticas passaram da quinta para a segunda causa de mortalidade infantil. No país, 3% dos nascidos vivos apresentam anomalias congênitas e as deficiências mentais atingem pelo menos 15% da população. As ações de saúde voltadas para diagnóstico precoce, a estimativa do risco de recorrência, a identificação do grupo de risco e o aconselhamento genético (que informa e orienta o afetado e seus familiares e estabelece propostas adequadas e viáveis para cada caso) só podem beneficiar toda a coletividade e agilizar o sistema de saúde como um todo (ALBANO, 2007).

No Brasil, a maioria dos pacientes e famílias acometidos por doenças genéticas ou influenciadas pelos genes desconhecem amplamente a condição médica que possuem e não foram investigados de maneira adequada para evidenciar os fatores genéticos envolvidos. O AG possibilita um sistema de atendimento pelo qual a maioria da população tenha acesso a serviços e procedimentos que possam revelar a doença genética que possuem. A partir disso, poderão entender sua condição de saúde e as alternativas disponíveis para tratamento e prevenção (BRUNONI, 2001).

Outras doenças também de caráter genético não só a HD, também podem ser diagnosticadas clinicamente por um médico e encaminhadas a um diagnóstico laboratorial. Essas doenças podem ser de herança recessiva ou dominante. Doenças recessivas, como a fenilcetonúria, podem provocar retardo mental na criança se não houver um diagnóstico precoce e tratamento do recém-nascido; mas se diagnosticada, pode crescer e se desenvolver normalmente (GRIFFITHS et al., 2016).

Para analisar os resultados obtidos na amplificação utiliza-se de um processo chamado Eletroforese, que se trata de um processo de migração de uma partícula carregada sob influência de um campo elétrico. Por apresentarem

grupos funcionais ionizáveis, várias moléculas adquirem carga positiva ou negativa em um determinado pH. Portanto, quando são submetidas a um campo elétrico, essas moléculas carregadas migram para o cátodo ou ânodo, dependendo de sua carga (SILVA, 2016).

## 2.2 DOENÇA DE HUNTINGTON (HD)

HD é uma doença neurodegenerativa hereditária, rara, causada por uma expansão repetida de uma trinca de nucleotídeo CAG. Caracterizada por sintomas motores, cognitivos e psiquiátricos progressivos. A manifestações de sintomas e o início da doença dependem do número de repetições CAG. Os sintomas são presentes quando há mais de 36 repetições. Os sintomas são crônicos, lentos e progressivos(CORGOSINHO et al., 2020) e sem cura.

A síndrome foi descrita por George Huntington em 1872. Tem uma incidência estimada de 5 a 10 casos por 100.000 indivíduos. Os pacientes apresentam uma expansão da trinca CAG presente na porção 5' do gene IT15 no braço curto do cromossomo 4, resultando na formação de uma proteína funcionalmente alterada a Huntingtina (CHEMALE et al., 2000;MOSCOVICH et al., 2011). O número de repetições CAG considerado normal situa-se entre 9 e 34, enquanto na DH o número de repetições é geralmente maior que 40 (MARTELLI, 2014).

As pessoas com HD sofrem degeneração progressiva do sistema nervoso central, que está correlacionada com o número de cópias do nucleotídeo. Quanto maior o número de cópias, mais graves são os sintomas da doença, e mais cedo eles começam geralmente se iniciando entre os 30 a 50 anos, e terminando em morte de 10 a 15 anos após o diagnóstico (SNUSTAD; SIMMONS, 2013).

. A coreia ou movimentos involuntários é a principal característica desta doença, ou seja, movimentos irregulares que parecem fluir de um músculo para o outro, mas não são repetitivos ou rítmicos (HARIHARAN et al., 2014). Embora o início da HD seja comumente desenvolver sintomas motores, alterações

cognitivas e comportamentais, muitas vezes os indícios começam anos antes da HD ser diagnosticada (CUSIN et al., 2013).

No decurso da HD, uma porção significativa de pacientes exibem sintomas psiquiátricos que podem passar despercebidos e serem tratados inadequadamente. Em um intervalo substancial entre o início dos sintomas e o tratamento é comum a ocorrência de depressão, o que pode ser perigoso devido ao risco de comportamento suicida nos portadores. Por isso, a necessidade de detecção eficaz e rápida no tratamento de sintomas psiquiátricos em HD (CUSIN et al., 2013).

A HD é dividida em 5 fases, dentro da inicial ou psicológica (RODRIGUES; NOGUEIRA; RAMALHO, 2010) abrange alguns estágios, o que justifica o voluntário ter desistido da sua participação e depois buscado por ajuda novamente. Esses estágios são parecidos com os estágios do luto descrito por BASSO; WAINER,(2011), o primeiro estágio é a negação e o isolamento, seguido da raiva neste caso, tornam-se por vezes agressivos. Já a barganha, percebida no terceiro estágio, é uma tentativa, de negociar ou adiar os temores diante da situação, seguido da depressão, por fim, o último estágio o da aceitação.

Em doenças como a HD, os portadores, além de manifestarem a patologia, têm um risco de 50% de vir a transmitir o gene defeituoso para a sua descendência. O quadro clínico geralmente tem início após a quarta ou quinta década, e leva a uma demência progressiva e irreversível (ZATZ, 2000)

### 2.2.1 Medicamentos e tratamento

Embora até agora não haja cura para HD, existem muitas opções terapêuticas disponíveis para gerenciamento dos sintomas, a fim de melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Existem vários medicamentos amplamente estudados, mas nenhum interrompe o curso progressivo da doença. Os cuidados paliativos são considerados como a indicação ideal durante as diferentes fases de desenvolvimento da doença (ESPINOZA-SUÁREZ; PALACIOS-GARCÍA; MORANTE-OSORES, 2016)

Não existe, até o presente momento, nenhum tratamento capaz de prevenir ou retardar a progressão da doença, certos sintomas podem ser reduzidos ou aliviados por meio de utilização de medicação e métodos específicos, ajudando a controlar os sintomas e melhorando a qualidade de vida. Eles podem ser tratamentos farmacológicos e não-farmacológicos. A medicação usada compreende, por exemplo, antipsicóticos, fármacos contra a coreia (movimentos involuntários), antidepressivos, apatia, ansiolíticos contra ansiedade, hipnóticos contra a insônia e outras perturbações do humor. Contudo, muitos medicamentos podem causar efeitos secundários e alguns podem interagir com outros. Além disso, as mesmas medicações podem ter efeitos distintos em pessoas diferentes. Logo, a medicação ideal tem que ser determinada, individualmente, por um especialista, de acordo com os sintomas e respostas ao tratamento. (SPITZS,2010).

A Tetrabenazina, aprovada em 2008 para comercialização pela FDA (Food and Drugs Administration), é um inibidor do transporte das monoaminas no cérebro, nomeadamente a dopamina, serotonina e noradrenalina, embora com mais efeito sobre a dopamina. A aprovação foi baseada num único ensaio clínico com o uso de placebo, no qual a tetrabenazina demonstrou uma redução significativa dos sintomas coreicos, embora também tenha sido associada com alterações do sono e aumento do risco de suicídio(GONÇALVES, 2013).

Segundo Achenbach; Saft; Faissner, (2021) o medicamento aprovado para administração no tratamento da coreia em HD é atualmente a tetrabenazina e deutetrabenazina, para distúrbios do movimento, como distonia, ou para sintomas psiquiátricos como depressão e ansiedade. Observando a falta de estratégias em tratamentos padronizados, muitas vezes os tratamentos são administrados com base em relatórios de casos ou com base em pesquisas. Nesse trabalho se destaca o uso do neuroléptico atípico clozapina descrito como uma estratégia para efeitos sintomáticos benéficos. O antidepressivo doxepina usado como medicamento de primeira linha para insônia em adultos. Já a trimipramina é usada em pacientes com sintomas mistos acompanhados de depressão, ansiedade e insônia. A imipramina é usada em comportamento obsessivo, dor crônica e enurese. Todos são antidepressivos tricíclicos,

potencialmente anticolinérgico que causam efeitos colaterais com piora da cognição após o uso.

Em janeiro de 2014 foi publicada a portaria 199, que define a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras (PNAIPDR) (BRASIL, 2014). Um grupo de trabalho foi criado no Ministério da Saúde, em 2012, para redigir essa política e dele participaram agentes do governo, pesquisadores, médicos e associações de pacientes. (AURELIANO, 2018)

A PNAIPDR prevê a habilitação de serviços de referência, com o objetivo de oferecer diagnósticos mais precisos e rápidos, possibilitando o início de tratamentos mais eficazes para oferecer melhor qualidade de vida aos doentes. Para isso, ações e procedimentos deverão ser criados no Sistema Único de Saúde (SUS), entre elas, a ampliação da lista de medicamentos oferecidos, exames de DNA e aconselhamento genético. (AURELIANO, 2018). Porém estudos publicados não foram encontrados sobre esses tratamentos via SUS até o momento.

Também já se encontra na literatura o uso da *Cannabis* para o tratamento de HD, considerando que é um composto com potencial terapêutico. A pesquisa pré-clínica sugere que os canabinóides têm potencial sintomático e neuroprotetor para uma variedade de condições neurológicas, incluindo distúrbios do movimento (AKINYEMI et al., 2020).

### 2.2.2 Diagnóstico

O diagnóstico pode ser realizado por meio de exame clínico geral, onde são analisados aspectos como alterações motoras, emocionais e cognitivas. A ressonância magnética e a tomografia computadorizada, geralmente, são usadas para excluir outras doenças (RODRIGUES; NOGUEIRA; RAMALHO, 2010).

Teste genético também podem ser empregados para auxiliar na confirmação ou exclusão do diagnóstico de DH. O teste de DNA determina o tamanho da repetição CAG do gene da DH, detectando assim, a mutação. O teste pode mostrar se uma pessoa é portadora do gene da doença, mas não pode

dizer quando a doença se manifestará. Assim sendo, um resultado positivo do teste genético, sozinho, não é suficiente, sem um exame neurológico, para confirmar o diagnóstico clínico da DH (SYDE-, 2010);(RODRIGUES; NOGUEIRA; RAMALHO, 2010).

Vale ressaltar que os exames genéticos com resultado positivo não são considerados diagnóstico da doença, uma vez que pode ser obtido décadas antes do início dos sintomas. Um teste negativo, significa que o indivíduo não é portador da cópia expandida do gene e como tal não desenvolverá Doença de Huntington. É importante realçar que este teste de diagnóstico molecular poderá ter pesadas consequências no indivíduo e sua família, e deve ser feito apenas após cuidada consideração, e associado ao aconselhamento genético (GONÇALVES, 2013).

O autor CARVALHO (2016) relata em seu trabalho os sequenciadores de nova geração (sequenciamento automático), são uma tecnologia revolucionária no campo da genômica, permitindo sequenciamento em longa escala, com grande capacidade de geração de dados, com boa relação custo benefício e sem sacrificar aspectos qualitativos.

DH manifesta personalidade específica da doença e mudanças comportamentais, como parte do que pode ser denominado uma síndrome hipofrontal ou disexecutiva. Essas mudanças são caracterizadas por apatia, irritabilidade, impulsividade e possessividade, com consequências potencialmente graves em termos de bem-estar conjugal, social e econômico. O suicídio em DH foi relatado como sendo de 13%. (ISHIHARA; OLIVERI; WILD, 2021). O que confirma a importância de um diagnóstico assertivo.

### 2.2.3 Atividades físicas e fisioterapia

A complexidade das devastadoras consequências psicossociais e físicas da DH sustentam abordagens individualizadas de cuidado, particularmente em relação à manutenção da atividade física. Apesar das evidências sobre os benefícios da atividade físicas, parece haver uma falta de prática de exercícios

e / ou atividades físicas em pessoas com DH. Essa falta de prática de atividade física pode ser agravada pela dificuldade de acesso ao apoio de saúde profissional (JONES et al., 2021).

Pensando em resolver isso, em 2009, o Grupo de Trabalho de Fisioterapia da Europa *A Huntington Disease Network (EHDN)* desenvolveu um documento de orientação clínica baseado em evidências para informar o manejo ideal da fisioterapia de pessoas com DH e facilitar uniformidade de atendimento internacionalmente (QUINN et al., 2020).

Desde então há um número crescente de estudos examinando a viabilidade e eficácia das intervenções de fisioterapia para melhorar a função física, mobilidade, cognição, humor e qualidade de vida em indivíduos com DH (QUINN et al., 2020).

Um programa de fisioterapia aplicado no estágio inicial da doença e voltado para a melhoria de complicações, tais como diminuição da flexibilidade, coordenação, equilíbrio e força muscular tem o potencial para reduzir manifestações da doença e melhorar a qualidade de vida de um indivíduo. Existe evidência de que o exercício pode ser útil no tratamento de pessoas que ainda não estão gravemente afetadas pela doença, pois retarda o desenrolar de complicações funcionais e cognitivas (BRANDÃO; ALVES, 2012).

Para além do trabalho a nível funcional, o fisioterapeuta tem outro papel muito importante, o de fornecer apoio aos familiares do indivíduo no que diz respeito à orientação sobre como lidar com possíveis situações de dificuldade diante da evolução dos comprometimentos motores do paciente, e no encaminhamento ao psicólogo, que pode levar à superação de dificuldades emocionais (BRANDÃO; ALVES, 2012).

#### 2.2.4 Alimentação de pacientes com HD

As alterações neuropatológicas na HD incluem perda proeminente de neurônios GABAérgicos estriatal progressiva e envolvimento do córtex cerebral, pálido, tálamo, tronco cerebral e cerebelo. Essa neurodegeneração generalizada resulta em distúrbios do movimento. Além da coreia, o sintoma motor

característico da DH, outros sintomas típicos dos distúrbios motores incluem distonia, incoordenação, parkinsonismo e apraxia ideomotora. Quando esses distúrbios heterogêneos do movimento envolvem a musculatura orofaríngea, surgem dificuldades para engolir (SCHINDLER et al., 2020).

Geralmente esses sintomas aparecem no estágio intermediário da DH, podem ocorrer disfagia (dificuldade de deglutição), engasgo, dificuldade com a auto alimentação devido aos movimentos coreicos (irregulares e involuntários), e dificuldades adicionais devido a casos psicossociais.(GABA, 2008).

Essas dificuldades com a alimentação ocasionam perda de peso e deterioração da saúde, como desenvolvimento de pneumonia por broncoaspiração, resultante dos desvios de líquidos e demais alimentos para os pulmões e dos frequentes engasgos. Para evitar esses problemas e manter o paciente em bom estado por mais tempo, segue cuidados quanto a posição adequada enquanto se alimenta, ter incluso no cardápio suplementos alimentares que contribuam na manutenção do peso e da saúde, evitar engasgos, sem esquecer de adequar também a composição da dieta, que deve ser variada e conter carboidratos, gorduras, proteínas e fibras (obtidas de frutas, legumes, verduras, cereais e feijões/leguminosas), além de vitaminas e minerais.(GRUTTERS; GAASBEEK; VENINGA, 2015).

Quando os nutrientes ingeridos pelo paciente não são suficientes para suas demandas metabólicas, ou quando a alimentação por via oral é contraindicada, há necessidade de suporte nutricional. O paciente pode ser alimentado por via endovenosa (nutrição parenteral), mas como normalmente a função gastrointestinal é preservada, emprega-se de preferência a nutrição enteral (o alimento vai diretamente para o estômago por meio de uma sonda, sem passar pela boca). A curto prazo, pode-se usar uma sonda nasogástrica, mas para o tratamento prolongado, é melhor praticar uma gastrostomia (MARIA; BARASNEVICIUS; TORRES, 2009).

#### 2.2.5 HD juvenil



Existem duas formas de DH. A mais comum é a Doença de Huntington adulta. Pessoas com a forma adulta, normalmente, desenvolvem os sintomas entre 30 anos e 50 anos. Agora, a forma juvenil da doença apresenta um pequeno número de casos e começa na infância ou na adolescência (GIL-MOHAPEL; REGO, 2011; RODRIGUES; NOGUEIRA; RAMALHO, 2010).

Em pacientes juvenis com DH, os sintomas podem ser diferentes, tendo como característica a bradicinesia (lentidão anormal dos movimentos voluntários), tremores, rigidez e distonia, podendo a coreia estar ausente. As crianças afetadas pela DH também podem apresentar convulsões. A maior parte dos pacientes sofre também de caquexia, emagrecimento muito acentuado, em nível muscular, e perda de peso, que aparecem de forma inexplicável mesmo com um consumo calórico elevado (GIL-MOHAPEL; REGO, 2011).

Para o cuidado de pacientes com HD juvenil, vários pesquisadores recomendam abordagens multidisciplinares que são necessários e incluem a família, assistentes sociais, terapeutas e médicos para manter a qualidade da vida e para diminuir os problemas psicossociais. Defende-se não apenas o suporte apenas para as crianças, mas também para os pais ou mesmo todo o sistema social, incluindo escolas, melhorando a qualidade de vida de pacientes e cuidadores (ACHENBACH et al., 2020).

Os sintomas em juvenis, se manifestam antes dos 20 anos de idade e correspondem a aproximadamente 5% a 10% do total de casos. A doença pode ter uma evolução longa de até 30 anos em alguns casos, mas a morte ocorre principalmente em decorrência da imobilidade e infecções (MARTELLI, 2014)

#### 2.2.6 Aconselhamento genético (AG)

Este projeto como o título sugere, realizou um trabalho de aconselhamento genético a uma família com um caso de HD clinicamente confirmado, procurando trazer benefícios à comunidade em termos de acessibilidade a saúde e na melhoria das condições de diagnóstico para uma prevenção de futuros casos e precisão no tratamento.

O AG, pode ser uma forma de permitir à família uma decisão adequada e embasada em conhecimentos científicos (decisão informada) sobre a um planejamento familiar diante de diagnósticos positivos para doenças genéticas, no caso da HD, uma doença ainda sem cura é uma forma de planejar o controle de novos casos. Com o acesso à informação o aconselhamento genético, permitem que haja integralidade na saúde desses indivíduos (VIEIRA et al., 2013).

Dessa forma, se realizado um bom diagnóstico e aconselhamento genético, poderiam ser diminuídos gastos futuros com outros pacientes, provenientes da mesma família que carregam esses genes desvantajosos ou mesmo deletérios como herança. Retardo as chances de ter mais uma criança com a mesma doença na família são regras simples que integram o processo de aconselhamento genético e que podem fazer a diferença (GROSSI et al., 2009).

Em 2018 uma matéria publicada em pela Sociedade Brasileira de Genética Médica (SBGM) defende a oferta de aconselhamento genético a todas as partes do país. Pois em 2014 o Ministério da Saúde publicou a portaria 199/2014, que instituiu a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras.

Além disso, aprovou as Diretrizes para Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras no âmbito do SUS e instituiu incentivos financeiros de custeio. Porém na realidade, somente sete centros de referência habilitados e, mesmo assim, com limitações importantes nas estruturas e verbas para oferecer os testes complementares necessários, com equipe de trabalho que possa atender às necessidades de uma população de 210 milhões de pessoas.

O tempo passou estamos em 2021 e o cenário ainda é o mesmo, as famílias afetadas por doenças genéticas ainda buscam por tratamentos via SUS, não encontrando suporte necessário para sanar as suas dúvidas, muito menos para um diagnóstico correto. A escolha de desenvolver esse projeto parte do pressuposto que região sudoeste do Paraná é composto por 42 municípios, distribuídos por 4 microrregiões: Capanema, Francisco Beltrão, Pato Branco e Palmas (BRISKIEVICZ, 2012). Contemplando várias pequenas cidades de baixa

renda, onde predomina a agricultura familiar (SILVA, 2010). Nesta população humilde já foram diagnosticados casos de HD assim como outras síndromes.

A população destas localidades necessitam deslocar-se para Francisco Beltrão ou Pato Branco (que são cidades regionais) para obterem serviços médico-hospitalares (BRISKIEVICZ, 2012). Ou até Curitiba, há quase 500 km de distância para a acessibilidade de tratamentos mais eficazes, mesmo tendo garantido por lei o direito a Política de Atenção Integral em Genética Clínica do Sistema Único de Saúde (SUS), que foi publicada com a portaria nº 81 do Ministério da Saúde de 21 de janeiro de 2009. Serviço esse, que ainda não se encontra disponível para a maior parte dessa população

Figure 1: Mapa com distribuição geográfica dos 42 municípios que formam a região sudoeste do Paraná. A cor vermelha representa municípios com mais vulnerabilidade social, em azul claro os municípios que fazem divisa com o estado de Santa Catarina e na cor azul escuro os municípios com um índice social mais elevado.



Fonte: MULLER DE PAULA et al., 2009.

### 2.3 MÉTODO WHOQOL-BREF

Com relação ao HD, é de grande interesse avaliar a qualidade de vida dos indivíduos afetados, bem como de seus familiares e cuidadores. A Organização Mundial da Saúde (OMS) definiu saúde como um completo estado de bem-estar físico, mental e social e não meramente a ausência de doença (WHO, 2006). Por falta de um termo para definir o que é qualidade de vida a OMS reuniu especialistas de várias partes do mundo, que definiram que a qualidade de vida

pode ser classificada como a percepção do indivíduo de sua posição na vida no contexto da cultura e sistema de valores nos quais ele vive e em relação aos seus objetivos, expectativas, padrões e preocupações (FLECK, 2005).

Assim, A preocupação com o conceito de “qualidade de vida” refere-se a um movimento dentro das ciências humanas e biológicas no sentido de valorizar parâmetros mais amplos que o controle de sintomas, a diminuição da mortalidade ou o aumento da expectativa de vida (PIO et al., 1999).

A busca por um instrumento que avaliasse qualidade de vida dentro de uma perspectiva genuinamente internacional fez com que a Organização Mundial da Saúde desenvolvesse um projeto colaborativo multicêntrico. O resultado deste projeto foi a elaboração do WHOQOL-100 (PIO et al., 1999), um instrumento de avaliação de qualidade de vida, composto por 100 itens, um método mais longo possuindo 6 domínios, como essa versão ficou muito extenso, se desenvolveu o WHOQOL-BREF sendo esse mais curto com 4 domínios e 26 questões distribuídas aleatoriamente e intercaladas de acordo com cada domínio, deixando os questionários dinâmicos, objetivos sem ser cansativos. Desenvolvido pelo grupo chamado World Health Organization Quality of Life (daí o nome, WHOQOL), traduzido e validado para o Brasil por um grupo de pesquisadores na Universidade Federal do Rio Grande do Sul e tem por objetivo avaliar a qualidade de vida geral das pessoas em diferentes culturas (PEREIRA; TEIXEIRA; SANTOS, 2017). Assim, uma derivação desta ferramenta será utilizada para avaliação do bem-estar de indivíduos acometidos pela HD e seus cuidadores.

### **3 OBJETIVO**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Fazer diagnóstico molecular de uma família com casos relatados da doença de Huntington no Sudoeste do Paraná e aplicar um questionário sobre qualidade de vida do paciente em duas populações diferentes, baseado em modelo padronizado para fins de aconselhamento genético.

##### **3.1.1 Objetivo específicos**

- Realizar a extração do DNA dos pacientes e familiares;

- Realizar a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com o DNA dos pacientes e familiares;
- Obter um resultado preliminar visual pela eletroforese;
- Enviar o DNA de pacientes e familiares para o sequenciamento, para obter a sequência exata e confirmação do resultado genético;
- Montagem de heredograma familiar, com os genótipos possíveis e comprovados;
- De posse dos resultados moleculares de cada indivíduo interessado das famílias, com ajuda profissional especializada falar sobre os resultados e seus possíveis tratamentos.
- Aplicação de questionários para verificação quanto a qualidade de vida dos pacientes afetados com HD em duas populações diferente

#### **4 METODOLOGIA**

##### **4.1 ETAPA 1: DIAGNÓSTICO MOLECULAR NA REGIÃO SUDOESTE DO PARANÁ**

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres humanos da UTFPR (CEP-UTFPR) e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), com o protocolo de nº CAAE 48185515.7.0000.5547. Em sua 1ª etapa, os pacientes e famílias portadoras de doenças genéticas foram localizados por busca retrospectiva através de casos já relatados da doença na região. Os pacientes foram abordados quanto ao interesse na participação no projeto.

##### **4.1.1 Extração de DNA**

Os procedimentos foram realizados no Laboratório de Análises Biológicas e Biologia Molecular (BioMol) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos. Para extrair o DNA genômico total os voluntários foram encaminhados para o laboratório de BioMol, onde foi utilizado o protocolo do kit Promega® (Fig. 5.a) as amostras de saliva foram colhidas com cotonetes estéreis submetidos a extração de DNA imediatamente. Do cotonete foi cortado apenas a cabeça com o algodão, colocando-o dentro de um tubo eppendorf de

2 mL. Foi adicionado 400  $\mu$ L de tampão “Cell lysis solution”, invertendo-se o tubo 5-6 vezes para misturar. Logo após foi incubado em temperatura ambiente por 5 minutos invertendo algumas vezes, para ocorrer lise das células.

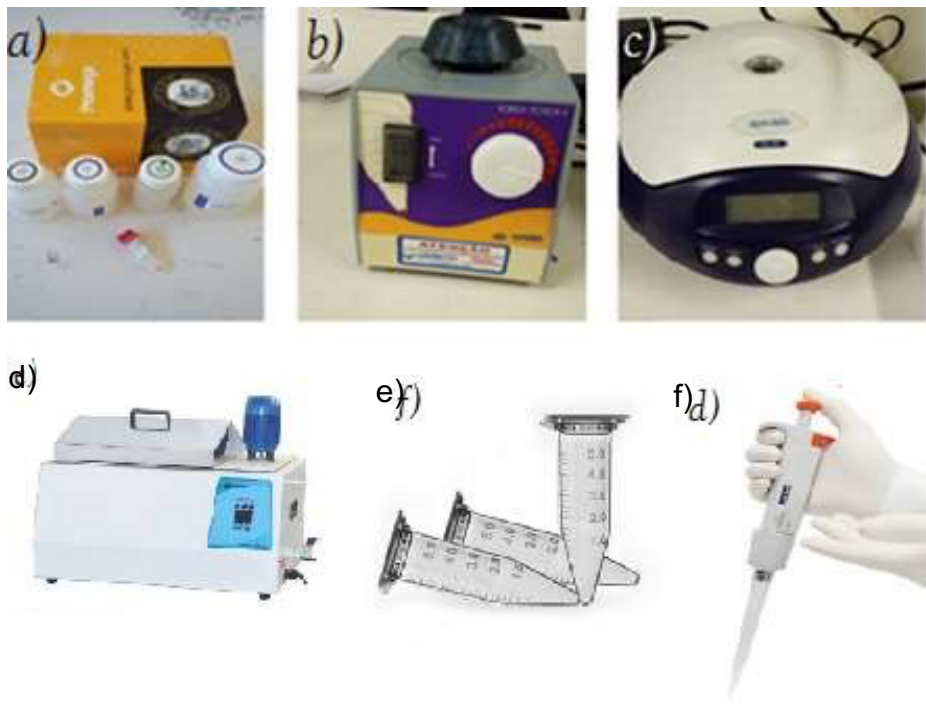
No vórtex (Fig. 5. b) foi mantido a agitação vigorosa por 10-15 segundos garantindo a eficiência da lise celular. Com as células ressuspendidas acrescentou-se 300 $\mu$ L de Nuclei Lysis Solution ao tubo. Invertendo o tubo algumas vezes para homogeneizar. Ao adicionar 7  $\mu$ L de proteinase K 20 mg/ml foi incubado toda a solução misturada até o momento por 2 horas a 55° C. Para acontecer a lise nuclear foi adicionado 1,5  $\mu$ L de RNase solution, e invertido o tubo 2-5 vezes, e incubado por mais 12 minutos a 37°C, até ficar bem dissolvido. Em temperatura ambiente a solução ficou em repouso por 5 minutos e centrifugada em seguida por 30 segundos.

Nesse momento foi acrescentado 100 $\mu$ L de Protein Precipitation Solution, e agitado no vórtex por 10-20 segundos. Foi centrifugando novamente por 3 minutos a 13-16,000  $\times$ g. Foi removido o sobrenadante para um novo tubo de 1,5mL, e houve o descarte completo do pellet, uma vez que lá estão as proteínas indesejadas, e apenas o algodão ficou dentro do tubo para garantir que o DNA esteja na solução.

Essa é uma das fases que pede mais atenção para extração, pois com o acréscimo de 300 $\mu$ L de isopropanol a temperatura ambiente. Suavemente a solução foi agitada por inversão. Então as fitas de DNA em forma de fio branco formam uma massa ligeiramente observável. Nessa etapa o DNA fica visível como um pequeno pellet no fundo, após centrifugar por 3 minuto a temperatura ambiente a 13-16,000  $\times$ g. O sobrenadante foi descartado, e o tubo virado gentilmente. Com o tubo eppendorf aparentemente vazio foi acrescentado 300 $\mu$ L de etanol 70% gelado. Esse etanol é de grau analítico (Merck®), diluído em água MiliQ autoclavada para garantir a total integridade do DNA. Depois os tubos foram invertidos por várias vezes para lavar o pellet de DNA do fundo, e foi realizado a centrifugação por 5 minutos, removendo o etanol cuidadosamente com o uso de uma micropipeta. Como o pellet de DNA estava pouco firme nesta etapa, todo cuidado é pouco para que este não seja aspirado dentro da pipeta.

Agora sim, a etapa final, sobre uma camada de papel absorvente os tubos foram virados e deixados secar, de forma que não fiquem resíduos de álcool na parede do tubo para interferir a solução final. O DNA foi ressuspendido em 100µL de DNA rehydration Solution, incubando 65°C por uma hora. Alternativamente, em alguns casos, o DNA foi reidratado pela incubação da solução em temperatura ambiente ou a 4°C (geladeira). E finalmente, o DNA extraído foi guardado em freezer (2-8°C).

Figure 2: a) kit Promega®; b) vórtex; c) Centrífuga; d) Banho-maria; e) microtubos; f) micropipeta.



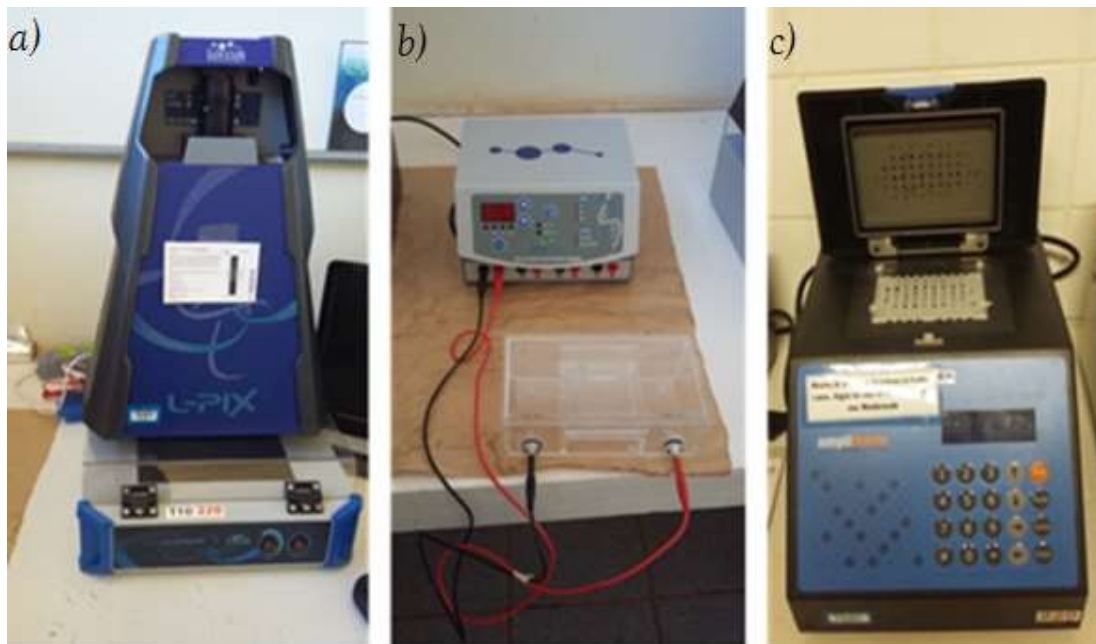
Fonte: Autora, Lojanetlab (<https://www.lojanetlab.com.br/>), Uniscience (<http://uniscience.com.br/>)

#### 4.1.2 Eletroforese e PCR

A quantificação do DNA foi realizada através de eletroforese em gel de agarose 1%. Este foi corado com brometo de etídeo e analisado sob luz UV e capturados por fotodocumentador (Fig.6.a). Para a PCR, foram testados dois métodos. No primeiro, descrito por CULJKOVIC et al., 1997. Após a quantificação do DNA, foi realizada PCR (Reação em Cadeia de Polimerase) com o *primer* específico para a doença, amplificando exclusivamente o gene da HD. Os *primers* utilizados na solução de PCR foram: *primer* n° 1: 5'-ATG AAG GCC TTC GAG TCC CTC AAG TCC TCC-3'; e *primer* n° 2: 5' CAG CAG CGG

CTG TGC CTG-3'. O protocolo utilizado para reações de PCR com volume final de 29,2  $\mu$ l, sendo 5  $\mu$ l de DNA genômico, 1  $\mu$ l de cada primer (10mM), 1  $\mu$ l de dNTP mix, 0,2  $\mu$ l Taq DNA polimerase *Platinun* (Invitrogen®), 0,75  $\mu$ l MgCl<sub>2</sub> (1,5 mM), 2,5  $\mu$ l de tampão de PCR e 17,75  $\mu$ l de água miliQ. As amostras foram acondicionadas em termociclador Amplitherm 95X (Fig.4.C), programado para: amplificação inicial de 94°C por três min, seguidos de 39 ciclos de: 94°C por 30s, 55°C por um min, 72°C por três min, e extensão final de 72°C por 10 min. As amostras foram pipetadas em um gel de agarose 4% e a corrida de eletroforese realizada durante uma hora a 100 V (Fig. 4.b). Os produtos de PCR foram corados com brometo de etídeo, visualizados em um transiluminador sob luz UV a 254 nm e fotografados em um fotodocumentador.

Figure 3: a) Fotodocumentador e transiluminador sobre luz UV; b) Fonte e cuba para corrida de eletroforese; c) termociclador Amplitherm.



FONTE: Autora

O segundo método utilizou-se da mesma forma de extração de DNA, corado com GelRed® (pois não é um corante não mutagênico) analisado sob luz UV, seguindo de PCR. Os *primers* utilizados na solução de PCR foram os mesmos utilizados por WARNER; BARRON; BROCK (1993), que foi o protocolo utilizado para reações de PCR nesse experimento. Com volume final de 15  $\mu$ l, sendo a ele foi adicionado 4  $\mu$ l de DNA genômico, 1  $\mu$ l de cada primer, 7,5  $\mu$ l de PCR Master Mix Promega® e completou-se com 1,5  $\mu$ l de água do próprio Kit



Master Mix. As amostras foram acondicionadas em termociclador Amplitherm 95X, programado para: amplificação inicial de 94°C por 4 min, seguidos de 35 ciclos de: 94°C por trinta segundos, 60°C por trinta segundos, 72°C por quarenta e cinco segundos, e extensão final de 72°C por 10 min. As amostras foram pipetadas em um gel de agarose 4% seguido de eletroforese durante quarenta minutos a 120 V e visualizados em um transiluminador sob luz UV, a 254 nm e fotografados em transiluminador. Em todos os métodos as bandas foram comparadas com um padrão (*ladder*) para estimativa e quantificação das bandas em pares de bases (pb).

#### 4.1.3 Sequenciamento

Os participantes foram chamados a uma reunião com objetivo de esclarecer os resultados obtidos, tendo livre arbítrio entre ficar ou desistir das outras etapas propostas no estudo. Aos dois voluntários que entraram em acordo com a continuidade, coletou-se 5 mL de sangue em ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), para não haver coagulação do mesmo. As amostras de cada paciente foram devidamente armazenadas em tubos de coletas, identificadas com as nome de cada paciente e data coletada. Em seguida com o auxílio de luvas descartáveis preenchidas com ar, os tubos foram alocados em caixa de isopor com bloco de gelo descartável tipo gelox, de forma que os tubos de coleta não tivessem nenhum contato direto com o gelo da caixa. Foram enviadas no mesmo dia via Sedex para sequenciamento em um laboratório parceiro especializado.

O sequenciamento realizado neste laboratório é uma técnica utilizada desde a década de 90 onde os géis de agarose utilizados nos experimentos no laboratório de biologia molecular da UTFPR foram substituídos por um feixe de capilares cobertos de um polímero e a fluorescência de cada capilar é detectada individualmente evitando comprometimento do resultado devido a desalinhamentos, o que ocorre com os géis nas eletroforeses. Dessa forma, o processo se torna mais rápido por não envolver processos manuais e com uma precisão maior no resultado, tornando-o mais confiável. Por fim os voluntários receberam o resultado definitivo conforme especificado no item abaixo.

#### 4.1.4 Aconselhamento

Aconteceram reuniões com as famílias para apresentação de resultados e orientação de cada membro da família interessado sobre o risco de recorrência, ou seja, a chance de nascimento de outros filhos com o mesmo problema. As famílias receberam o prognóstico, as estimativas e as informações sobre possibilidades mais atuais de tratamento, quando necessário.

Os indivíduos afetados e a família foram orientados quanto aos procedimentos para melhorar sua qualidade de vida e todo o apoio psicológico foi indicado antes e depois do recebimento dos exames. Esta etapa foi acompanhada pela psicóloga e quando necessário a médica parceira ao projeto foi solicitada, onde todas as dúvidas foram devidamente respondidas.

#### 4.2 ETAPA 3: PESQUISA COM ABORDAGEM DE QUESTIONÁRIOS

Essa etapa foi designada como a 3ª parte do projeto e consistiu na aplicação de um questionário. O projeto com as questões foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos (CEP) da UTFPR. Para a aplicação foi utilizado a metodologia WHOQOL-BREF, conforme anexo 3 (PIO et al., 1999).

Este método é composto de 26 perguntas, sendo dividido da seguinte forma: as perguntas número 1 e 2 sobre a qualidade de vida geral, e mais 24 perguntas as quais compõem 4 domínios conforme representado no (Quadro 1), físico, psicológico, relações sociais e meio ambiente. As respostas seguem uma escala de Likert de 1 a 5, quanto maior a pontuação melhor a qualidade de vida ((FLECK, 2005). Este questionário é padronizado com a finalidade de perguntas rápidas e dados amostrais estatisticamente testáveis. Abaixo está uma descrição de como foi estruturado o questionário.

Quadro1: Divisão das facetas dentro de cada um dos quatro domínios físico, psicológico, relações sociais e meio ambiente, e suas distintas questões de distribuição de acordo com os temas sugeridos pelo WHOQOL-BREF, e como calcular a porcentagem referente a cada domínio.

Domínios	Questões e temas	Como calcular
<b>Qualidade de vida</b>	1. Percepção da qualidade de vida 2. Satisfação com a saúde	Somar os valores da entrevista (de 1 a 5) e Dividir pelo número de participantes. Fazer uma média onde o resultado vai ser de 1 até 5.
<b>Domínio 1: Físico</b>	3. Dor e desconforto 4. Energia e fadiga 10. Sono e repouso 15. Mobilidade 16. Atividades da vida cotidiana 17. Dependência de medicação ou de tratamentos 18. Capacidade de trabalho	Somar os valores das facetas e dividir por 7. (Q3, Q4, Q10, Q15, Q16, Q17, Q18) /7. Mesmo formato deve ser feito nos demais domínios.
<b>Domínio 2: psicológico</b>	5. Sentimentos positivos 6. Pensar, aprender, memória e concentração 7. Autoestima 11. Imagem corporal e aparência 19. Sentimentos negativos 26. Espiritualidade/religião/crenças pessoais	Somam-se os valores das facetas e dividir por 6. (Q5, Q6, Q7, Q11, Q19, Q26) / 6.

<b>Domínio 3: Relações sociais</b>	20. Relações pessoais 21. Suporte (Apoio) social 22. Atividade sexual	Realizado a soma dos valores das facetas e dividir por 3. (Q20, Q21, Q22) /3
<b>Domínio 4: Meio ambiente</b>	8. Segurança física e proteção 9. Ambiente no lar 12. Recursos financeiros 13. Cuidados de saúde e sociais: disponibilidade e qualidade 14. Oportunidades de adquirir novas informações e habilidades 23. Participação em, e oportunidades de recreação/lazer 24. Ambiente físico: (poluição/ruído/trânsito/clima) 25. Transporte	Somar os valores das facetas e dividir por 8. (Q8, Q9, Q12, Q13, Q14, Q23, Q24, Q25) / 8

Fonte: Autora

#### 4.2.1 Aplicação do questionário WHOQOL-BREF

As questões foram aplicadas em formato on-line pela plataforma do google forms. O questionário foi respondido pelos voluntários da pesquisa residentes no sudoeste do Paraná, assim como os participantes da Associação de Huntington de São Paulo (ABH), antes de responder as questões todos assinaram o TCLE

(Termo de Compromisso Livre e Esclarecido), oportunizando a comparação de dados entre diferentes famílias.

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O início desse trabalho foi motivado após a procura de um dos voluntários participantes da pesquisa, com caso já confirmado na família como já mencionado neste trabalho. Tendo participação de uma família da cidade de Dois Vizinhos – Pr, composta por quatro membros participantes, dois do sexo masculino e dois do sexo feminino.

Os participantes voluntários que aceitaram participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Como essa linha de pesquisa nunca havia sido desenvolvida na UTFPR – campus Dois Vizinhos, buscou-se referências bibliográficas para o início e desenvolvimento de todos os testes, assim como a busca por profissões de saúde para orientação de como proceder com cada procedimento.

Em seguida, com a ajuda dos participantes foi possível montar o heredograma com o histórico familiar, ajudando a entender a evolução da doença. Nesse estudo foi possível perceber que a doença já está presente há quatro gerações (Fig. 2), tendo um número considerável de casos em cada geração.

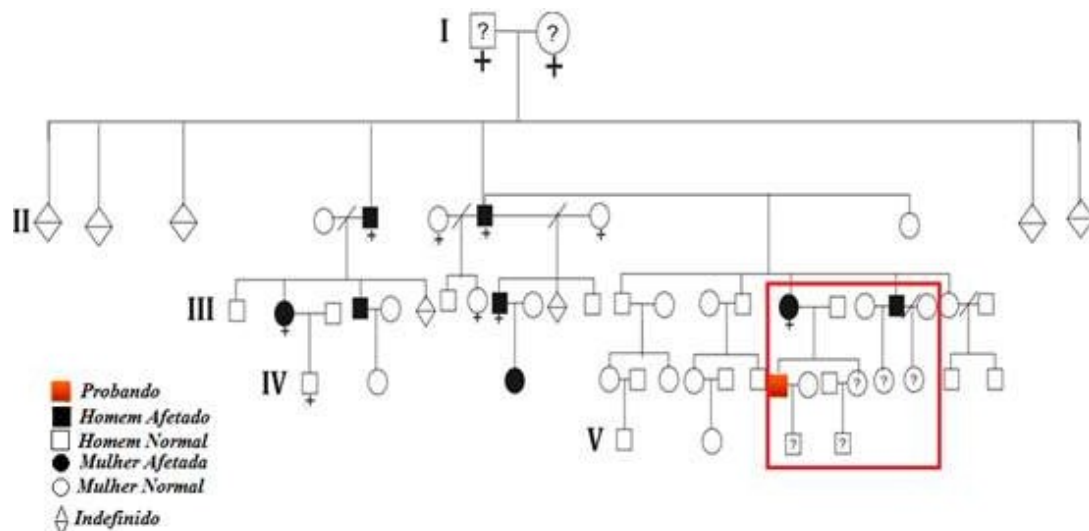
Na I geração estão representados os tataravôs do probando (primeira pessoa que procurou participar da pesquisa). Nesse caso nenhum dos participantes soube informar qual dos dois teria a doença. Esse casal teve uma união estável com sete filhos, dos quais, dois (apresentados na II geração) foram afetados e vieram a falecer. Nessa época aproximadamente na década de 1940, não se tinha muito conhecimento sobre a HD na microrregião, e os pacientes foram tratados como loucos.

Na II geração, o primeiro filho afetado se casou com uma pessoa normal e teve quatro filhos, onde dois foram afetados e já faleceram. Nesse caso o primeiro filho da III geração teve filhos, mas vieram a entrar em óbito por outros motivos sem que houvesse a possibilidade de saber a existência do gene da

doença ou manifestação de sintomas. No caso o indivíduo (III.9) deixou uma filha que optou por não participar do projeto neste momento, pois não quer saber se tem o alelo da HD.

O segundo filho afetado da II geração (III.7) casou-se por três vezes (Avô do probando). No primeiro foram concebidos dois filhos, provavelmente nenhum afetado. Em um segundo casamento teve três filhos: que por fatores assintomáticos levam a pensar ser afetado (III.9), que veio a falecer, e deixou uma filha (IV.3), que mostra o fato mais curioso a doença ter se manifestado com apenas 24 anos. A união no terceiro casamento foi responsável pela geração de cinco descendentes, onde dois foram afetados (III.17 e III.20). Esses se casaram e possuem dois filhos cada um. A primeira afetada desse casamento (III,17) é mãe do probando (indivíduo que foi estudado nessa pesquisa) e é a pessoa da qual o DNA foi extraído para estabelecer um parâmetro para os outros casos. No caso do segundo filho (III.20) a presença de alguns sintomas parecidos com os da HD, mas que podem ser causados por outras doenças, para isso foi necessário realizar o teste molecular, que fez parte da segunda etapa desse projeto.

Figure 4: Heredograma da família participante do projeto. Em destaque (quadrado laranja) está a família que participou voluntariamente do projeto.



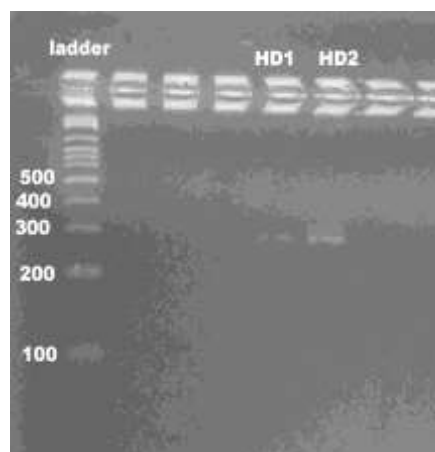
Fonte: Autora

A metodologia de avaliação utilizada na primeira etapa do projeto teve como base os trabalhos de ČULJKOVIĆ et al., (1997) e WARNER; BARRON; BROCK, (1993). Assim, consideramos alelos normais aqueles que possuem 11 a 34 repetições da trinca dos nucleotídeos CAG (142 até 211 pares de base). Alelos da doença HD são aqueles que apresentam de 39 a 121 repetições de CAG (de 226 até 472 pares de bases). Após comparamos os resultados obtidos nos laboratórios da UTFPR-DV com os resultados do sequenciamento realizado em um laboratório parceiro.

A PCR parece ser o método de primeira escolha para estimar o número de repetições CAG nos portadores da DH. O diagnóstico por PCR é provavelmente até o momento a maneira mais precisa para diagnóstico da HD, bem como, para outras doenças herdadas para as quais as sequências do gene e a mutação são conhecidas e de difícil confirmação clínica (MARTELLI, 2014).

Utilizando essa técnica, foram obtidas as bandas genéticas de DNA HD1 e HD2 na Figura 7 que representam o DNA da pessoa com diagnóstico médico comprovado para HD, possuindo em torno de 300 pares de bases o que corrobora que este paciente é portador da doença.

*Figure 5:* Resultado obtido para o paciente clinicamente confirmado com HD. Nota: HD1 e HD2 são duas amostras deste paciente. Setas indicam as bandas do DNA do paciente; *Ladder* representa o marcador para a contagem dos pares de base.

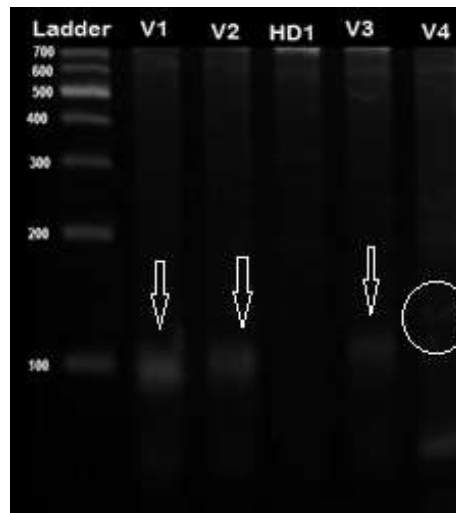


Fonte: Autora

Nas Figura 7 e 8 foram utilizados os primers e Protocolos de PCR descrito na metodologia, assim estabelecendo um padrão de comparação entre outros pacientes. Ao realizar a comparação genética dos familiares representado na

figura 8, verifica-se que os voluntários identificados como V1, V2, V3 não são portadores da doença, pois possuem cerca de 100 pares de base. Enquanto o V4 possui mais de 100 pares de base (pb), porém menos de 200 pb. Todavia não se pode afirmar que os indivíduos V4 é portador para a doença HD.

Figure 6: Familiares do paciente com HD. V1-V4: familiares. HD1 é a amostra do paciente. *Ladder* representa o marcador para a contagem dos pares de base.



Fonte: Autora

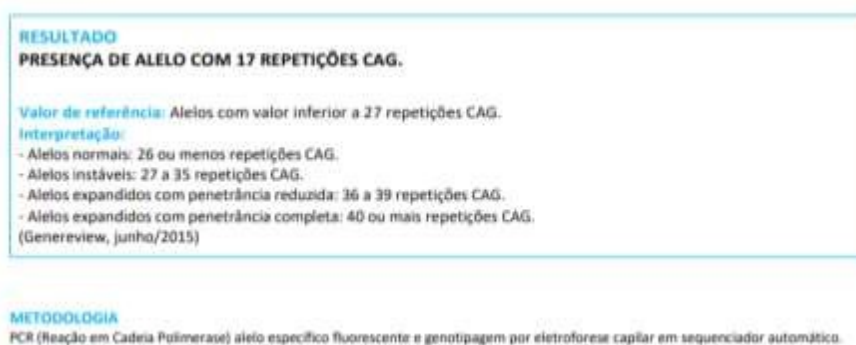
Foram testados os protocolos de PCR do segundo método. Mesmo com a utilização de *primer* específico para a doença já testada nos outros experimentos em que se obteve um bom resultado. Não foi possível verificar a presença de DNA. Com essas observações voltamos às temperaturas dos experimentos iniciais onde foi possível obter os resultados positivos novamente.

Os voluntários V1 e V2 decidiram prosseguir para a próxima etapa. O voluntário V4 optou a não seguir a próxima etapa neste momento. Alguns meses depois surgiram alguns sintomas e esse voluntario procurou por conta própria fazer o exame para confirmação.

que confirmam os resultados obtidos na primeira etapa do projeto, que foi desenvolvido no laboratório da UTFPR- DV.



Figure 7: Resultado do sequenciamento do DNA do Paciente V1.



Fonte: Laboratório São Camilo de Maringá

Após a conclusão do sequenciamento pela instituição parceira, os voluntários foram convidados para nova reunião. As figuras 10 e 11 correspondem a os resultados do sequenciamento automático, que apresentam valores entre 17 e 19 repetições de CAG demonstram que os voluntários V1 e V2 seguem o padrão de sequência descrito por ČULJKOVIĆ et al., (1997) e WARNER; BARRON; BROCK, (1993). Considerando alelos normais aqueles que possuem 11 a 34 repetições da trinca dos nucleotídeos CAG, comprovando que os dois voluntários não são portadores da HD, subsequente seus filhos também não correm o risco de manifestação, a não ser que ocorra uma mutação ao acaso o que seria muito difícil de acontecer.

Um dos voluntários relata ter demonstrado preocupação pelo resultado. Apresentando sintomas de correia, por ser filho de uma paciente com HD se sentia receoso, com o resultado do exame o paciente descobriu que os sintomas eram psicológicos.

Neste caso o teste preditivo (TP) teve fundamental importância na melhora da qualidade de vida deste paciente. No entanto, devido à ausência de medidas de prevenção, tratamento ou cura o resultado do TP nessas situações, poderá acarretar implicações indiretas em relação aos familiares. Baseado nessas experiências prévias recomenda-se que profissionais treinados especificamente nessas tarefas sejam os responsáveis pela requisição e

interpretação dos resultados. Desse modo, assegura-se que o profissional saberá reconhecer as peculiaridades e limitações dos testes e estará preparado para lidar com os conflitos éticos e psicossociais que possam surgir (SCOLARI; PAIVA, 2006)

Figure 8: Resultado do sequenciamento do DNA do Paciente V2.

**RESULTADO**  
**PRESENÇA DE ALELOS COM 17 E 19 REPETIÇÕES CAG.**

**Valor de referência:** Alelos com valor inferior a 27 repetições CAG.

**Interpretação:**

- Alelos normais: 26 ou menos repetições CAG.
- Alelos instáveis: 27 a 35 repetições CAG.
- Alelos expandidos com penetrância reduzida: 36 a 39 repetições CAG.
- Alelos expandidos com penetrância completa: 40 ou mais repetições CAG.

(Genereview, junho/2015)

**METODOLOGIA**

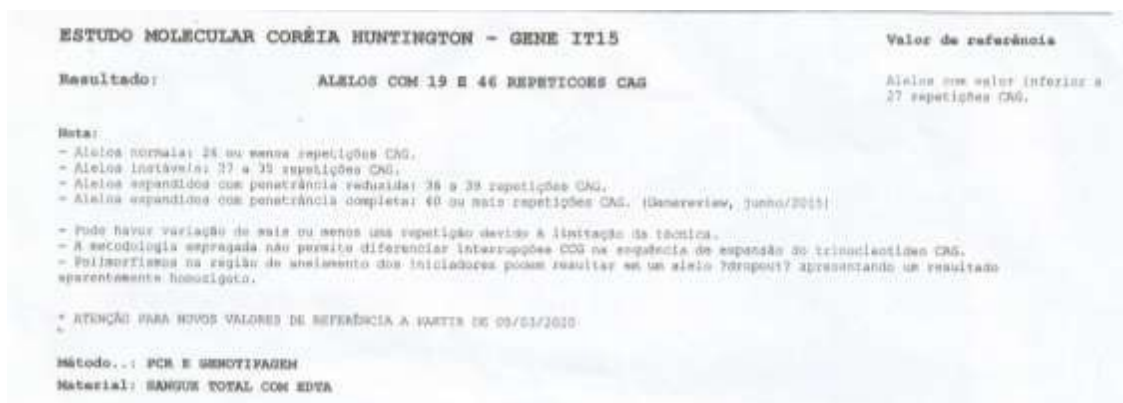
PCR (Reação em Cadeia Polimerase) alelo específico fluorescente e genotipagem por eletroforese capilar em sequenciador automático.

Fonte: Laboratório São Camilo de Maringá

A figura 12 consta o resultado do exame de sequenciamento genético do voluntario V4 fornecido e realizado pelo mesmo. O resultado do exame comprova que alteração em pares de bases demonstrada da figura 8 condiz com o gene da HD mesmo com um numero de pares de bases bem menor que a voluntaria HD1 e HD2 (paciente clinicamente confirmada) da figura 7.

Esse voluntario vem desde de o inicio desse prejetto desenvolvendo sintomas psicologicos caracteristicos da fase inicil da HD. A forma mais comum no início apresenta um quadro clínico típico, cujos sintomas de apresentação abrangem a irritabilidade, a depressão, pequenos movimentos coreicos involuntários, a diminuição da coordenação motora e dificuldades na aprendizagem de nova informação e na tomada de decisões (CUNHA, 2014).

Figure 9: Resultado do exame de sequenciamento genético realizado e fornecido pelo voluntário V4.

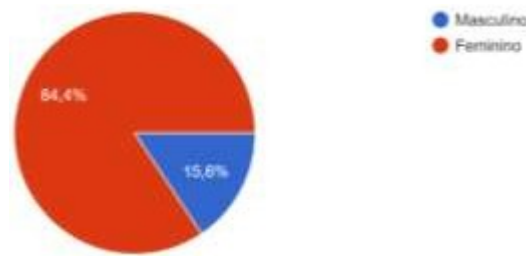


Fonte: Voluntário do projeto

A aceitação e busca por tratamento pode auxiliar significativamente na qualidade de vida do paciente com HD. No caso do voluntário V4 o diagnóstico teve grande impacto na sua qualidade de vida e de sua família, a busca por tratamento para o controle da coreia e dos sintomas psicológicos trouxeram mais autonomia e segurança para ambos. Esse paciente recebe auxílio de psicólogo, fonoaudiólogo, fisioterapeuta e clínico geral disposto pelo plano saúde da empresa onde trabalhava. Na segunda fase da HD é normal o declínio da habilidade de trabalhar, precisa de pouco auxílio para realizar outras atividades (RODRIGUES; NOGUEIRA; RAMALHO, 2010), por esse motivo a empresa recorreu em acordo com o paciente, via judicial por aposentadoria tendo um parecer favorável.

O questionário divulgado teve 64 participações durante os 15 dias de divulgação nas redes sociais, Facebook, Instagram, e e-mail da ABH e dos pesquisadores do projeto. Obtiveram 84,4% de participantes do sexo feminino e apenas 15,6% masculino (figura 13). Atingindo diferentes estados do país, com pessoas de 22 a 74 anos de idade como mostra a figura 14, o mapa torna possível observar a distribuição de casos de HD em diferentes regiões demográficas do território brasileiro.

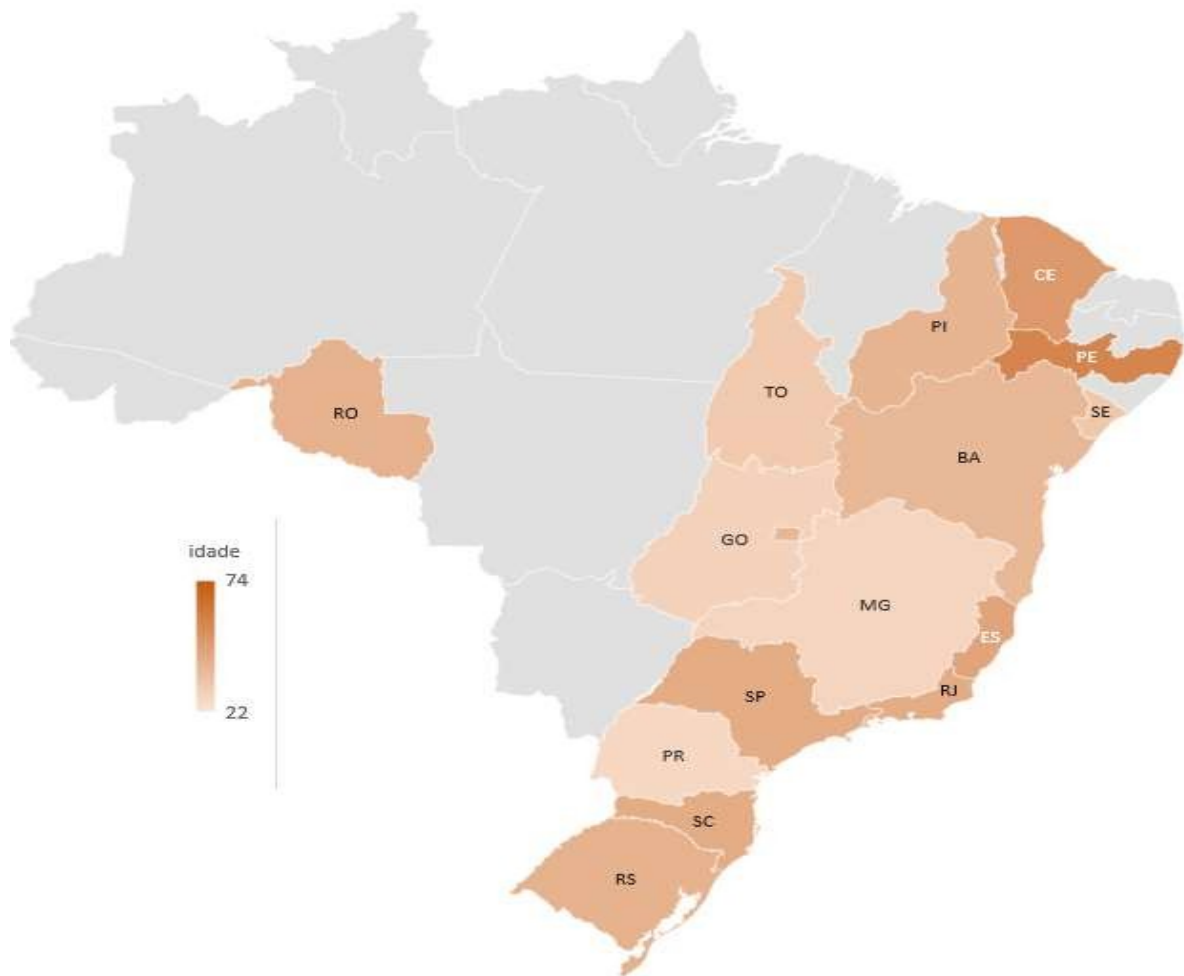
Figure 10: Gráfico com percentual de participantes masculinos e femininos participantes da pesquisa através de questionários.



Fonte: Autora

Os cuidadores envolveram a grande maioria dos participantes. No gráfico da figura 15, a amostragem de 70,3% corresponde a condição de cuidador de um paciente com HD e apenas 29,7% dos familiares que participaram da pesquisa não possuem relação ativa na vida de um paciente afetado pela doença. Esse percentual indica que os cuidadores são em grande maioria familiares mais próximos ao paciente. Seguindo um padrão social estabelecido pelas hierarquias diante da noção comum de que a família deve compor um núcleo de amor, proteção e cuidados, nota-se que os familiares próximos são os mais propensos a se tornarem os cuidadores principais (MARCON et al., 2005; SANTOS; A, 2011). Destaca-se também que a grande maioria destes cuidadores são mulheres.

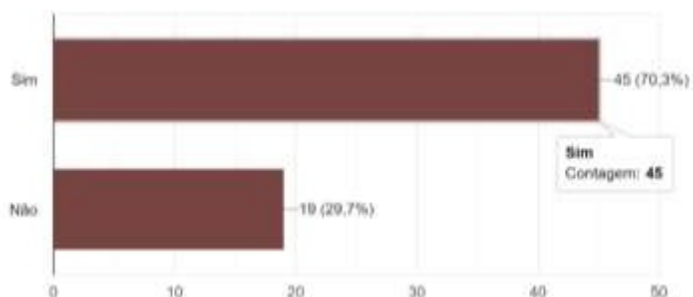
Figure 11: Mapa com as cidades onde os voluntários que participaram respondendo o questionário residem relacionando com a idade dos mesmos que vai de 22 a 74 anos.



Fonte: Autora

Quanto a relação de parentescos com pacientes da HD, apresentado na figura 15 demonstra que o maior índice de cuidadores é de filhos/filhas, mais precisamente 46,9% das amostragens. Em seguida, observa-se esposas (7,8%) e 4,7 % dos que responderam foram como sobrinhos/sobrinhas. A percentuais menores, mas bem parecidos entre si, são observados outros familiares como nora, sobrinhos, pai, mãe, irmãos entre outros.

Figure 12: Gráfico correspondente a amostragem de cuidadores de pacientes com HD representados com a palavra sim, e ou apenas familiares com pacientes afetados pela doença sem participação na vida cotidiana desses pacientes definidos pela palavra não.



Fonte: Autora

Essas informações de parentesco em relação aos cuidadores na participação na pesquisa da figura 15 são muito importantes, pois demonstram que os familiares estão procurando estar ativos sobre novas informações da doença. Ser cuidador não é tarefa fácil e nem sempre é uma escolha. Cuidar de outro ou outros é uma atividade que exige dedicação, interação, carinho e reflexividade. É exigido esforço e compreensão das condições que o outro enfrenta e como isso vai modificar a vida dentro da casa, na rotina, do dia a dia e principalmente no futuro (SANTOS; A, 2011).

Observando por outros ângulos, os cuidadores também precisam de cuidado, principalmente nos casos da Doença de Huntington. Segundo SANTOS, (2018), o cuidador presencia a evolução da doença de perto, acompanhando as mudanças gradativamente e piora dos sintomas, carregando sobre si uma carga enorme, a diminuição das relações sociais, exposição ao estresse, mudança na dinâmica familiar e a falta de apoio profissional pode dificultar ainda mais a vida do cuidador resultando num desgaste físico e mental ou até adoecimento do mesmo.

O maior índice de participantes foi alcançado através da ABH, uma associação proativa que divulga grande quantidade de informação atualizada sobre o assunto, tanto pelo site quanto pelas redes sociais, com conteúdo atuais e de fácil acesso. Assim, subentende-se que esses filhos e/ou cuidadores que são a maioria entre os participantes tenham outras possibilidades tanto de

planejamento familiar quanto a procura por tratamentos que melhorem a qualidade de vida para futuros casos se necessário.

Figure 13: Relação de parentesco e cuidados com o(as) paciente(s) com HD.



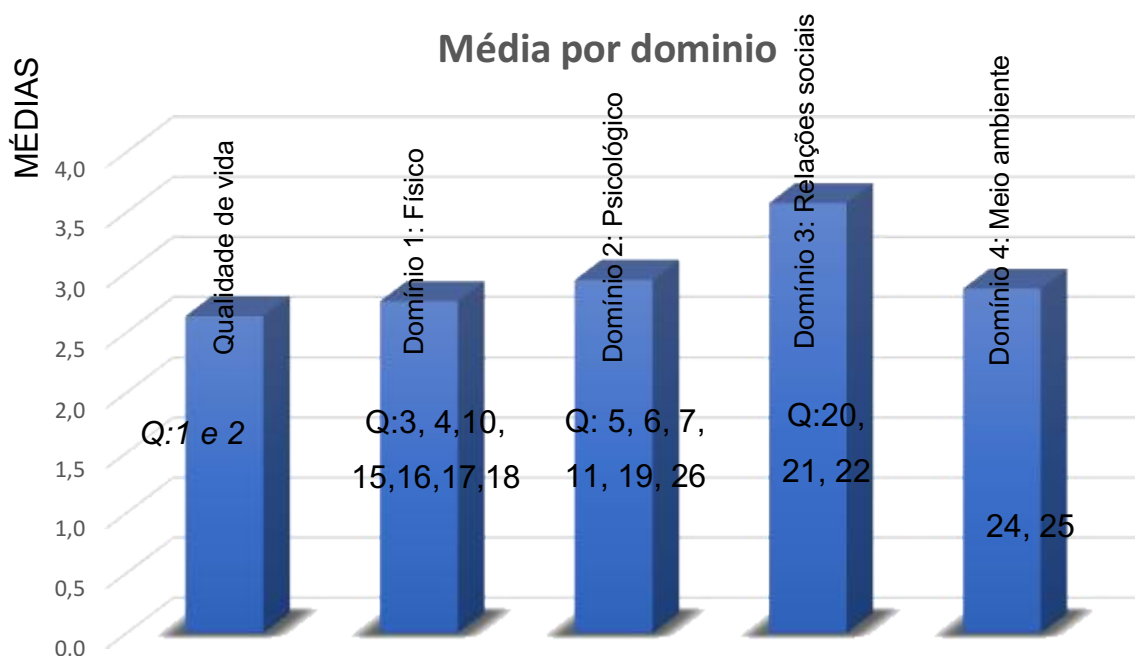
Fonte: Autora

A aplicação do questionário possibilitou calcular uma média para a qualidade de vida em cada domínio. A figura 17 mostra o gráfico com as médias, e os resultados demonstram a grande dificuldade enfrentada pelas famílias. Em uma escala de 1 a 5, a maior média alcançada foi no domínio de relações pessoais que atingiu 3,6, enquanto em todos os outros domínios as medias ficaram abaixo de 3, o que indica uma qualidade de vida média a ruim.

As duas primeiras perguntas, que abordam diretamente sobre qualidade de vida e informações recebidas pela família sobre a HD obtiveram uma média 2,6. Considerando-se que os resultados vão de 0 a 5, uma média de 2,6 é um pouco acima de 50% da qualidade de vida. Desta forma, fica claro a dificuldades enfrentadas pelas famílias participantes. Pode incorporar a sua discussão, justificando o porquê a qualidade de vida é ruim... devido a pouca assistência, não ter um protocolo de atendimento e atenção básica para pacientes....

O domínio 1, que aborda o estado físico teve uma média 2,8. As perguntas foram com temas sobre: dor e desconforto, energia e fadiga, sono e repouso, mobilidade, atividades da vida cotidiana, dependência de medicação ou de tratamento e capacidade de trabalho em todas as fases da doença. Como já esperado para essa área a média também foi baixa, considerando a escala. Partindo do pressuposto que a DH é uma enfermidade neurodegenerativa e hereditária, caracterizada pela presença de transtornos do movimento, distúrbios psiquiátricos e demência (GRAZIANI et al., 2007), já se esperava uma média mais baixa para esse domínio, pois ela acomete diferentes funções.

Figure 14: Gráfico com as médias por domínio. Questões (Q) 1 e 2 sobre qualidade de vida, Domínio 1: Físico as questões correspondentes são (Q3, Q4, Q10, Q15, Q16, Q17, Q18), domínio 2: psicológico (Q5, Q6, Q7, Q11, Q19, Q26), domínio 3: Relações sociais (Q20, Q21, Q22), domínio 4: Meio ambiente (Q8, Q9, Q12, Q13, Q14, Q23, Q24, Q25).



Fonte: Autora

O domínio 2 aborda o aspecto psicológico e compreende perguntas sobre sentimentos positivos, pensar, aprender, memória e concentração, autoestima, imagem corporal e aparência, sentimentos negativos, espiritualidade / religião / crenças pessoais. Neste caso a média de 2,9 também segue o padrão do domínio 1, se espera mais dificuldades dessa área por a doença ser ligada diretamente com o sistema nervoso central. Como ocorre alterações cognitivas o comprometimento principal é da função executiva, incluindo o planejamento e julgamento precários, comportamento impulsivo, desorganização, déficit psicomotor, apatia, falta de cuidados pessoais e perda de iniciativa (MARTELLI, 2014).

O domínio 3, sobre relações pessoais, teve a maior média dentre todos



os domínios (3,6). Ele trata de assuntos dentro das relações pessoais, como suporte (apoio) social, e mesma atividade sexual. Esse resultado pode ser associado ao motivo de a maioria dos participantes serem cuidadores de pacientes com HD ou familiares próximos, assim além de entenderem melhor as os pacientes buscam estar mais atentos as necessidades de cada um, movidos pelo afeto que sentem uns pelos outros tornando a compreensão mais fácil. Também um fatode grande valia é os familiares estarem inseridos em associações como a ABH e projetos como esse que incentivam e divulgam informação sobre relações pessoais.

Um exemplo disso foi o voluntário V4 que com estímulo familiar, teve a iniciativa de fazer o exame e procurar por uma qualidade de vida melhor. Se esse paciente não tivesse participado do projeto e recebido a assistência a informação necessária, provavelmente só teria descoberto a doença em fase avançada, o que torna o tratamento muito mais difícil. Mesmo já tendo sintomas visíveis ele está conseguindo ter uma vida saudável dentro de suas limitações, mas com uma qualidade de vida muito superior à de seus familiares que foram diagnosticados anteriormente em fases mais tardias da doença.

O domínio 4 trada de meio ambiente, segurança física e proteção, ambiente no lar, recursos financeiros, cuidados de saúde, novas informações e habilidades, participação recreação/lazer, transporte. Ficou empatado com o domínio 2 com media 2,9. Assim como os outros, se entende que esse resultado se deve a toda as medidas que as famílias afetadas precisam tomar para se adaptar a rotina e cuidados. As crises recorrentes e a sobrecarga física, emocional e financeira levam à convivência com incertezas e ao enfrentamento de dilemas éticos, individuais, sociais e profissionais, além de onerosos e contínuos gastos, gerando outras condições crônicas que passam a afetar toda a família (SANTOS; A, 2011).

Os resultados deste questionário ressaltam a importância de estudos entorno da HD, visando estudar, divulgar e encontrar formas de apoio aos pacientes e familiares acometidos com esta doença. Visto que não se têm protocolos e políticas públicas específicas para HD, o que favorece para diagnósticos errôneos. A ausência de registros no sistema único de saúde,

acaba dificultando o conhecimento da população sobre a HD. Pesquisas científicas ajudam a registrar a evolução dos casos e mostram que a doença precisa de investimento para oferecer uma melhor qualidade de vida aos pacientes.

## **6 CONCLUSÃO**

Esse trabalho mostrou o quanto importante o diagnóstico precoce para pacientes com HD. Que os protocolos utilizados são eficazes tanto quanto o sequenciamento automático e com um custo bem menor. Tornando possível o acesso de populações de baixa renda que não tem condições financeiras por um tratamento genético que apresentam altos custo para ser realizado.

Projetos desse gênero e associações como a ABH podem mudar a vida de muitas famílias. Além do repasse de informação que é muito importante esse envolvimento da comunidade científica auxiliar e instiga novos estudos na área. A HD por ser uma doença que afeta uma pequena parcela da população comparando a outras doenças genética tem por consequência pouco investimento na pesquisa por tratamento e divulgação.

Mesmo com a evolução da tecnologia e a ampla divulgação de informação nas redes sociais, pouco se ouve falar sobre a HD, políticas governamentais de assistência a esses pacientes são quase inexistentes e quando encontradas no papel não funcional na vida real.

Esse projeto beneficiou uma família com o diagnóstico molecular, mudou a vida de um paciente que depois de gerações perdendo familiares com HD conseguiu buscar métodos que melhoram muito a qualidade de vida comparando com outros familiares. E espero que ajude muitas outras famílias com as informações contidas neste trabalho, até que se chegue a tão sonhada cura para essa doença que afeta cruelmente o paciente, todo o círculo familiar e comunidade envolvida.

## REFERÊNCIAS

- BRASIL**, Ministério da saúde. Gabinete do ministro. Portaria nº 199 de de janeiro de 2014. Institui a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras, aprova as Diretrizes para Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) e institui incentivos financeiros de custeio. Brasília. 2014
- ACHENBACH, J. et al. Clinical manifestation of juvenile and pediatric hd patients: A retrospective case series. **Brain Sciences**, v. 10, n. 6, p. 1–17, 2020.
- AKINYEMI, E. et al. Medical Marijuana Effects in Movement Disorders, Focus on Huntington Disease; A Literature Review. **Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques**, v. 23, n. 1, p. 389–395, 2020.
- ALBANO, L. M. J. Importância da genética no serviço público: relato da extinção de um setor de genética no Município de São Paulo, Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 7, n. 1, p. 29–34, 2007.
- ALBERTS, B. et al. **Biologia Molecular da Célula**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 1997.
- AURELIANO, W. DE A. Trajetórias terapêuticas familiares: Doenças raras hereditárias como sofrimento de longa duração. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 23, n. 2, p. 355, 2018.
- BARBIERI, R. M. E. S. A PESQUISA DE ALGUMAS DOENÇAS GENÉTICAS COMO METODOLOGIA DIDÁTICA. **Secretaria Do Estado do Paraná**, p. 22, 2017.
- BASSO, L. A.; WAINER, R. Mourning and sudden losses: Contributions of Cognitive Behavioral Therapy. **Revista Brasileira de Terapias Cognitivas**, v. 7, n. 1, p. 35–43, 2011.
- BRANDÃO, R.; ALVES, A. P. R. O Treino de Equilíbrio na Prevenção de Quedas em Utentes no Estadio Inicial da Doença de Huntington O Treino de Equilíbrio na Prevenção de Quedas em Utentes no Estadio Inicial da Doença de Huntington. **Escola Superior de Saúde da Universidade Atlântica**, 2012.
- BRISKIEVICZ, M. A organização territorial do sudoeste paranaense a partir da inserção dos migrantes. **Sociedade e Território**, v. 22, n. 2, p. 19–36, 2012.
- BRUNONI, D. Aconselhamento Genético. **Departamento de Morfologia, Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina**, 2001.

CARVALHO, R. A. DE. Avaliação do método de sequenciamento de nova geração no diagnóstico genético de neoplasia endócrina múltipla tipo 1. **Avaliação do método de sequenciamento de nova geração no diagnóstico genético de neoplasia endócrina múltipla tipo 1 Dissertação**, p. 87, 2016.

CHEMALE, F. et al. Doença de Huntington. **Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre Departamento de ciências Morfológicas**, p. 1–37, 2000.

CORGOSINHO, L. T. S. et al. Huntington's disease presenting as mixed state episode. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 47, n. 5, p. 162, 2020.

ČULJKOVIĆ, B. et al. Improved polymerase chain reaction conditions for quick diagnostics of Huntington disease. **Brain Research Protocols**, v. 2, n. 1, p. 44–46, 1997.

CUNHA, L. Doença de Huntington: Diferentes Formas de Apresentação e de Evolução? p. 1–65, 2014.

CUSIN, C. et al. Rapid improvement of depression and psychotic symptoms in Huntington's disease: A retrospective chart review of seven patients treated with electroconvulsive therapy. **General Hospital Psychiatry**, v. 35, n. 6, p. 678.e3-678.e5, 2013.

ESPINOZA-SUÁREZ, N. R.; PALACIOS-GARCÍA, J.; MORANTE-OSORES, M. DEL R. Cuidados paliativos en la enfermedad de Huntington: perspectivas desde la atención primaria de salud TT - Palliative care in Huntington's disease: perspective from primary health care. **Rev Neuropsiquiatr**, v. 79, n. 4, p. 230–238, 2016.

FLECK, M. P. DE A. O instrumento de avaliação de qualidade de vida da Organização Mundial da Saúde (WHOQOL-100): características e perspectivas. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 5, n. 1, p. 33–38, 2005.

GABA, A. NUTRIÇÃO E DOENÇA DE HUNTINGTON Guia familiar. **Associação Brasil Huntigton**, n. 11, p. 1–13, 2008.

GIL-MOHAPEL, J. M.; REGO, A. C. Doença de huntington: Uma revisão dos aspectos fisiopatológicos. **Revista Neurociencias**, v. 19, n. 4, p. 724–734, 2011.

GONÇALVES, N. Doença de Huntington: uma revisão. **Ciências da Saude, Universidade da Beira Interior**, 2013.

GRAZIANI, O. et al. Doença de Huntington . O que é. **Portal**, v. 5, n. 1, p. 85–

87, 2007.

GRIFFITHS, A. J. F. et al. **Introdução a Genética**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

GROSSI, R. et al. Serviços de Aconselhamento Genético: Um panorama Nacional. In: **V Congresso Brasileiro multidisciplinar de Educação Especial**. 5. ed. Londrina: [s.n.]. p. 2736–2743.

GRUTTERS, E. V. B.-; GAASBEEK, D.; VENINGA, M. V. Vivendo com a doença de Huntington - Guia para alimentação e dieta. **Associação Brasileira de Huntington**, p. 27, 2015.

HARIHARAN, A. et al. Potential of protease inhibitor in 3-nitropropionic acid induced Huntington's disease like symptoms: Mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. **NeuroToxicology**, v. 45, p. 139–148, 2014.

HEPP, D. A importância das técnicas e análises de DNA. **Revista de Educação, Ciência e Tecnologia do IFRS – Campus Porto Alegre**, v. 3, p. 114–124, 2016.

ISHIHARA, L.; OLIVERI, D.; WILD, E. J. Neuropsychiatric comorbidities in Huntington's and Parkinson's Disease: A United States claims database analysis. **Annals of Clinical and Translational Neurology**, v. 8, n. 1, p. 126–137, 2021.

JONES, U. et al. The development of PAT-HD: A co-designed tool to promote physical activity in people with Huntington's disease. **Health Expectations**, n. January, p. 638–647, 2021.

LIMA, L. P. et al. New insights into genomic selection through population-based non-parametric prediction methods. n. August, p. 290–298, 2019.

MARCON, S. S. et al. Vivência e reflexões de um grupo de estudos junto às famílias que enfrentam a situação crônica de saúde. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v. 14, n. spe, p. 116–124, 2005.

MARIA, E.; BARASNEVICIUS, A.; TORRES, B. **Doença de Huntington Guia para Famílias e Profissionais de Saúde**. [s.l: s.n.].

MARTELLI, A. Aspectos clínicos e fisiopatológicos da Doença de Huntington. **Arch Health Invest**, v. 3, p. 32–39, 2014.

MELLO, F. C. DE Q.; FONSECA-COSTA, J. A utilidade da biologia molecular no diagnóstico da tuberculose. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 31, n. 3, p. 188–190, 2006.

MOSCOVICH, M. et al. Américo Negrette and Huntington's disease. **Arquivos**

**de Neuro-Psiquiatria**, v. 69, n. 4, p. 711–713, 2011.

MULLER DE PAULA, A. C. et al. SUDOESTE PARANAENSE: especificidades e diversidades. p. 1–67, 2009.

PEREIRA, É. F.; TEIXEIRA, C. S.; SANTOS, A. DOS. Qualidade de vida: abordagens, conceitos e avaliação. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 26, n. 2, p. 241–250, 2017.

PIO, M. et al. Desenvolvimento da versão em português do instrumento de avaliação de qualidade de vida da OMS ( WHOQOL-100 ) Development of the Portuguese version of the OMS evaluation instrument of quality of life. v. 21, n. 1, p. 19–28, 1999.

QUINN, L. et al. Clinical recommendations to guide physical therapy practice for Huntington disease. **Neurology**, v. 94, n. 5, p. 217–228, 2020.

RODRIGUES, J. N.; NOGUEIRA, L. O.; RAMALHO, L. F. Doença de huntington: aspectos clínicos e cuidados de enfermagem. **Faculdade promove de brasilia**, 2010.

SANTOS, A. DE F. DOS; A. a Resiliência E Sua Forma De Promoção. **Universidade Federal de Minas Gerais**, 2011.

SANTOS, J. F. DOS. QUALIDADE DE VIDA DOS PACIENTES COM COREIA DE HUNTINGTON E DE SEUS FAMILIARES Autor: **UNIVERSIDADE PAULISTA – UNIP**, 2018.

SCHINDLER, A. et al. Fiberoptic endoscopic evaluation of swallowing in early-to-advanced stage Huntington’s disease. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2020.

SCOLARI, R.; PAIVA, R. O perfil psicossocial do usuário do teste preditivo para a doença de huntington e as ataxias espinocerebelares. 2006.

SILVA, A. F. REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE – PCR. [s.d.].

SILVA, A. I. DE M. DA. a Posse Da Terra E Os Lugares De Memória: Francisco Beltrão - 1969-2007. p. 114, 2010.

SNUSTAD, D. P.; SIMMONS, M. J. **Fundamentos de Genética**. 6. ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

SYDE-, T. Doença de Huntington e outras coreias. **Doença de Huntington e outras coreias**, v. 9, n. 1, p. 29–38, 2010.

VIEIRA, D. K. R. et al. Atenção em genética médica no SUS: A experiência de

um município de médio porte. **Physis**, v. 23, n. 1, p. 243–261, 2013.

WARNER, J. P.; BARRON, L. H.; BROCK, D. J. **A new polymerase chain reaction (PCR) assay for the trinucleotide repeat that is unstable and expanded on Huntington's disease chromosomes. Molecular and cellular probes**, 1993.

WHO. CONSTITUTION OF THE WORLD HEALTH ORGANIZATION, forty-fifth edition, supplement. n. February 1977, p. 1–18, 2006.

ZATZ, M. Projeto genoma humano e ética. **São Paulo em Perspectiva**, v. 14, n. 3, p. 47–52, 2000.

ACHENBACH, J. et al. Clinical manifestation of juvenile and pediatric hd patients: A retrospective case series. **Brain Sciences**, v. 10, n. 6, p. 1–17, 2020.

AKINYEMI, E. et al. Medical Marijuana Effects in Movement Disorders, Focus on Huntington Disease; A Literature Review. **Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences: a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques**, v. 23, n. 1, p. 389–395, 2020.

ALBANO, L. M. J. Importância da genética no serviço público: relato da extinção de um setor de genética no Município de São Paulo, Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 7, n. 1, p. 29–34, 2007.

ALBERTS, B. et al. **Biologia Molecular da Célula**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 1997.

AURELIANO, W. DE A. Trajetórias terapêuticas familiares: Doenças raras hereditárias como sofrimento de longa duração. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 23, n. 2, p. 355, 2018.

BARBIERI, R. M. E. S. A PESQUISA DE ALGUMAS DOENÇAS GENÉTICAS COMO METODOLOGIA DIDÁTICA. **Secretaria Do Estado do Paraná**, p. 22, 2017.

BASSO, L. A.; WAINER, R. Mourning and sudden losses: Contributions of

Cognitive Behavioral Therapy. **Revista Brasileira de Terapias Cognitivas**, v. 7, n. 1, p. 35–43, 2011.

BRANDÃO, R.; ALVES, A. P. R. O Treino de Equilíbrio na Prevenção de Quedas em Utentes no Estadio Inicial da Doença de Huntington O Treino de Equilíbrio na Prevenção de Quedas em Utentes no Estadio Inicial da Doença de Huntington. **Escola Superior de Saúde da Universidade Atlântica**, 2012.

BRISKIEVICZ, M. A organização territorial do sudoeste paranaense a partir da inserção dos migrantes. **Sociedade e Território**, v. 22, n. 2, p. 19–36, 2012.

BRUNONI, D. Aconselhamento Genético. **Departamento de Morfologia, Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina**, 2001.

CARVALHO, R. A. DE. Avaliação do método de sequenciamento de nova geração no diagnóstico genético de neoplasia endócrina múltipla tipo 1. **Avaliação do método de sequenciamento de nova geração no diagnóstico genético de neoplasia endócrina múltipla tipo 1 Dissertação**, p. 87, 2016.

CHEMALE, F. et al. Doença de Huntington. **Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre Departamento de ciências Morfológicas**, p. 1–37, 2000.

CORGOSINHO, L. T. S. et al. Huntington's disease presenting as mixed state episode. **Revista de Psiquiatria Clinica**, v. 47, n. 5, p. 162, 2020.

ČULJKOVIĆ, B. et al. Improved polymerase chain reaction conditions for quick diagnostics of Huntington disease. **Brain Research Protocols**, v. 2, n. 1, p. 44–46, 1997.

CUNHA, L. Doença de Huntington: Diferentes Formas de Apresentação e de Evolução? p. 1–65, 2014.

CUSIN, C. et al. Rapid improvement of depression and psychotic symptoms in Huntington's disease: A retrospective chart review of seven patients treated with electroconvulsive therapy. **General Hospital Psychiatry**, v. 35, n. 6, p. 678.e3-678.e5, 2013.

ESPINOZA-SUÁREZ, N. R.; PALACIOS-GARCÍA, J.; MORANTE-OSORES, M.



DEL R. Cuidados paliativos en la enfermedad de Huntington: perspectivas desde la atención primaria de salud TT - Palliative care in Huntington's disease: perspective from primary health care. **Rev Neuropsiquiatr**, v. 79, n. 4, p. 230–238, 2016.

FLECK, M. P. DE A. O instrumento de avaliação de qualidade de vida da Organização Mundial da Saúde (WHOQOL-100): características e perspectivas. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 5, n. 1, p. 33–38, 2005.

GABA, A. NUTRIÇÃO E DOENÇA DE HUNTINGTON Guia familiar. **Associação Brasil Huntigton**, n. 11, p. 1–13, 2008.

GIL-MOHAPEL, J. M.; REGO, A. C. Doença de huntington: Uma revisão dos aspectos fisiopatológicos. **Revista Neurociencias**, v. 19, n. 4, p. 724–734, 2011.

GONÇALVES, N. Doença de Huntington: uma revisão. **Ciências da Saude, Universidade da Beira Interior**, 2013.

GRAZIANI, O. et al. Doença de Huntington . O que é. **Portal**, v. 5, n. 1, p. 85–87, 2007.

GRIFFITHS, A. J. F. et al. **Introdução a Genética**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

GROSSI, R. et al. Serviços de Aconselhamento Genético: Um panorama Nacional. In: **V Congresso Brasileiro multidisciplinar de Educação Especial**. 5. ed. Londrina: [s.n.]. p. 2736–2743.

GRUTTERS, E. V. B.-; GAASBEEK, D.; VENINGA, M. V. Vivendo com a doença de Huntington - Guia para alimentação e dieta. **Associação Brasileira de Huntington**, p. 27, 2015.

HARIHARAN, A. et al. Potential of protease inhibitor in 3-nitropropionic acid induced Huntington's disease like symptoms: Mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. **NeuroToxicology**, v. 45, p. 139–148, 2014.

HEPP, D. A importância das técnicas e análises de DNA. **Revista de Educação, Ciência e Tecnologia do IFRS – Campus Porto Alegre**, v. 3, p. 114–124, 2016.

ISHIHARA, L.; OLIVERI, D.; WILD, E. J. Neuropsychiatric comorbidities in Huntington's and Parkinson's Disease: A United States claims database analysis. **Annals of Clinical and Translational Neurology**, v. 8, n. 1, p. 126–137, 2021.

JONES, U. et al. The development of PAT-HD: A co-designed tool to promote physical activity in people with Huntington's disease. **Health Expectations**, n. January, p. 638–647, 2021.

LIMA, L. P. et al. New insights into genomic selection through population-based non-parametric prediction methods. n. August, p. 290–298, 2019.

MARCON, S. S. et al. Vivência e reflexões de um grupo de estudos junto às famílias que enfrentam a situação crônica de saúde. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v. 14, n. spe, p. 116–124, 2005.

MARIA, E.; BARASNEVICIUS, A.; TORRES, B. **Doença de Huntington Guia para Famílias e Profissionais de Saúde**. [s.l: s.n.].

MARTELLI, A. Aspectos clínicos e fisiopatológicos da Doença de Huntington. **Arch Health Invest**, v. 3, p. 32–39, 2014.

MELLO, F. C. DE Q.; FONSECA-COSTA, J. A utilidade da biologia molecular no diagnóstico da tuberculose. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 31, n. 3, p. 188–190, 2006.

MOSCOVICH, M. et al. Américo Negrette and Huntington's disease. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 69, n. 4, p. 711–713, 2011.

MULLER DE PAULA, A. C. et al. SUDOESTE PARANAENSE: especificidades e diversidades. p. 1–67, 2009.

PEREIRA, É. F.; TEIXEIRA, C. S.; SANTOS, A. DOS. Qualidade de vida: abordagens, conceitos e avaliação. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 26, n. 2, p. 241–250, 2017.

PIO, M. et al. Desenvolvimento da versão em português do instrumento de avaliação de qualidade de vida da OMS ( WHOQOL-100 ) Development of the Portuguese version of the OMS evaluation instrument of quality of life. v. 21, n. 1, p. 19–28, 1999.

QUINN, L. et al. Clinical recommendations to guide physical therapy practice for Huntington disease. **Neurology**, v. 94, n. 5, p. 217–228, 2020.

RODRIGUES, J. N.; NOGUEIRA, L. O.; RAMALHO, L. F. Doença de huntington: aspectos clínicos e cuidados de enfermagem. **Faculdade promove de brasilia**, 2010.

SANTOS, A. DE F. DOS; A. a Resiliência E Sua Forma De Promoção. **Universidade Federal de Minas Gerais**, 2011.

SANTOS, J. F. DOS. QUALIDADE DE VIDA DOS PACIENTES COM COREIA DE HUNTINGTON E DE SEUS FAMILIARES Autor: **UNIVERSIDADE PAULISTA – UNIP**, 2018.

SCHINDLER, A. et al. Fiberoptic endoscopic evaluation of swallowing in early-to-advanced stage Huntington’s disease. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2020.

SCOLARI, R.; PAIVA, R. O perfil psicossocial do usuário do teste preditivo para a doença de huntington e as ataxias espinocerebelares. 2006.

SILVA, A. F. REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE – PCR. [s.d.].

SILVA, A. I. DE M. DA. a Posse Da Terra E Os Lugares De Memória: Francisco Beltrão - 1969-2007. p. 114, 2010.

SNUSTAD, D. P.; SIMMONS, M. J. **Fundamentos de Genética**. 6. ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

SYDE-, T. Doença de Huntington e outras coreias. **Doença de Huntington e outras coreias**, v. 9, n. 1, p. 29–38, 2010.

VIEIRA, D. K. R. et al. Atenção em genética médica no SUS: A experiência de um município de médio porte. **Physis**, v. 23, n. 1, p. 243–261, 2013.

WARNER, J. P.; BARRON, L. H.; BROCK, D. J. **A new polymerase chain reaction (PCR) assay for the trinucleotide repeat that is unstable and expanded on Huntington’s disease chromosomes. Molecular and cellular probes**, 1993.

WHO. CONSTITUTION OF THE WORLD HEALTH ORGANIZATION, forty-fifth edition, supplement. n. February 1977, p. 1–18, 2006.

ZATZ, M. Projeto genoma humano e ética. **São Paulo em Perspectiva**, v. 14, n. 3, p. 47–52, 2000.

