**CONCEIÇÃO CAMPANARIO DA SILVA PEREIRA**

# DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE: IMUNOEXPRESSÃO DA α-DISTROGLICANA NA MUSCULATURA ESQUELÉTICA E ASSOCIAÇÃO COM PERFORMANCE COGNITIVA

Tese apresentada à Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

**São Paulo**

**2004**

# Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

**CONCEIÇÃO CAMPANARIO DA SILVA PEREIRA**

# DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE: IMUNOEXPRESSÃO DA α-DISTROGLICANA NA MUSCULATURA ESQUELÉTICA E ASSOCIAÇÃO COM PERFORMANCE COGNITIVA

Tese apresentada à Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

**Orientador**: Prof. Dr. Acary Souza Bulle Oliveira

**Co-oritentador**: Prof. Dra.Beatriz Hitomi Kiyomoto

**São Paulo**

**2004**

Pereira, Conceição Campanario da Silva Pereira
**Distrofia Muscular de Duchenne: Imunoexpressão da α-distroglicana em musculatura esquelética e associação com performance cognitiva**/Conceição Campanário da Silva Pereira.-- São Paulo, 2004.
xiii, 78f.

Tese (Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em Ciências.

Título em inglês: Duchenne muscular Dystrophy: α-dystroglycan immunoexpression and cognitive performance

1.$\alpha$-distroglicana 2. Distrofia Muscular de Duchenne
3. Imuno-histoquímica. 4.Avaliação cognitiva

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO**

**ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE NEUROLOGIA E NEUROCIRURGIA**

**Chefe do Departamento:**

Profa. Dra. Débora Amado Scerni

**Coordenador do Curso de Pós-graduação:**

Prof. Dr. Esper Abrão Cavalheiro

**CONCEIÇÃO CAMPANARIO DA SILVA PEREIRA**

**DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE: IMUNOEXPRESSÃO DA α-DISTROGLICANA NA MUSCULATURA ESQUELÉTICA E ASSOCIAÇÃO COM PERFORMANCE COGNITIVA**

**BANCA EXAMINADORA**

**Titulares:**

Prof. Dr. Fernando Kok

Profa. Dra. Claudia Ferreira da Rosa Sobreira

Prof. Dr Edmar Zanoteli

**Suplente:**

Profa. Dra Juliana Gurgel Gianetti

Aprovada em:...../...../.....

Esta tese foi realizada na Disciplina de Neurologia Clínica – Departamento de Neurologia e Neurocirurgia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, durante o curso de pós-graduação em Neurologia, com o auxílio financeiro das entidades: CAPES, CNPq, FAPESP, PRONEX e FADA.

***Dedicatória***

*Dedico o meu trabalho aos meus pais, Pericles e Marilia,*
*meus torcedores incondicionais.*

*Dedico também aos meus avós, Manoel de Abreu Campanario (in memoriam)*
*e Pericles da Silva Pereira (in memoriam), ambos médicos, meus*
*exemplos de ética e humanidade.*

## *Agradecimentos*

Ao Prof. Dr. Acary Souza Bulle Oliveira, por ter me possibilitado realizar este trabalho, pela sua confiança e aprendizado, além de ser um exemplo de humanismo diante daqueles que sofrem.

À Profa. Dra. Beatriz Hitomi Kiyomoto, por ter aberto as portas do laboratório, me ensinando e apoiando neste projeto desde o início.

À Prof. Dra. Luciana de Souza Moura, pelo incentivo profissional, coleguismo e amizade.

Ao Prof. Dr. Edmar Zanoteli, pela sua colaboração na realização da imuno-histoquímica para o diagnóstico da distrofia muscular de Duchenne.

À Marlene Silveira Rocha, pela sua dedicação na realização das biopsias musculares no setor de doenças neuromusculares da UNIFESP.

À Regina Toni Loureiro de Freitas, pela realização da imuno-histoquímica para o diagnóstico da distrofia muscular de Duchenne.

Ao Prof. Dr. Kevin P. Campbell, doador do anticorpo utilizado, proporcionando a realização deste trabalho.

À Ana Edina de Melo Sampaio, pela realização da avaliação cognitiva nos pacientes.

Aos pacientes da Neuromuscular, que consentiram a realização deste trabalho.

Ao meu irmão Péricles, que me incentivou na realização desta pesquisa.

Ao meu irmão Paulo Manoel, que sempre me apoiou em todos os meus projetos.

## SUMÁRIO


Dedicatória..... vi
Agradecimentos..... vii
Listas..... x
Resumo..... xiii
**1. INTRODUÇÃO**..... 1
1.1 Distrofia muscular de Duchenne (DMD) ..... 2
1.1.1 Quadro Clínico..... 2
1.1.2 Quadro enzimático..... 3
1.1.3 Biopsia muscular..... 3
1.1.4 Eletroneuromiografia..... 3
1.1.5 Genética..... 3
1.2 Distrofina..... 5
1.3 Complexo de proteínas associados à distrofina (CPAD)..... 6
1.3.1 Expressão em SNC..... 9
1.3.2 Expressão em DMD..... 10
1.4 DMD e Cognição..... 11
1.4.1 Cérebro e cerebelo..... 11
1.4.2 Estudos cognitivos..... 12
1.5 α- distroglicana (α-DG) ..... 14
1.5.1 Funções e imunoexpressão..... 14
1.5.2 Expressão em diferentes miopatias..... 16
1.5.2.1 DMD..... 16
1.5.2.2 DCM..... 17
1.5.2.3 DMC..... 17
1.5.3 Glicosilação e Sistema Nervoso Central (SNC)..... 18
1.6 Objetivo..... 20
**2. MATERIAL E MÉTODOS**..... 21
2.1 Casuística..... 22
2.2 Biopsia Muscular..... 25
2.2.1 Histoquímica..... 25
2.2.2 Imuno-histoquímica com α-distroglicana..... 25
2.3 Análise de Resultados..... 27
2.4 Avaliação cognitiva..... 29
2.5 Avaliação Estatística..... 30

**3. RESULTADOS**..... 31
3.1 Biopsias musculares ..... 32
3.1.1 Histoquímica..... 32
3.1.2 Imuno-histoquímica com α-DG..... 34
3.1.2.1 Músculo controle..... 34
3.1.2.2 Músculo paciente DMD..... 35
3.2 Avaliação Cognitiva..... 40
3.3 Expressão da α–DG e QI..... 45
3.4 Análise Estatística..... 48
**4. DISCUSSÃO**..... 49
4.1 Casuística..... 50
4.2 α-DG..... 51
4.3 Avaliação Cognitiva..... 52
4.3.1. QI total..... 52
4.3.2 QI verbal..... 54
4.3.3 QI de execução..... 55
4.4 α-DG x Avaliação..... 55
4.4.1. QI total..... 56
4.4.2 QI verbal..... 57
4.4.3 QI de execução..... 59
4.4.4 Evidências da relação entre expressão da α-DG e QI..... 59
**5. CONCLUSÕES**..... 60
**6. ANEXOS**..... 62
**7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**..... 68
Abstract

## Lista de Figuras


**Figura 1.** Padrão de imunofluorescência (IF) da α-distroglicana (α-DG) em músculo esquelético normal, corte transversal e longitudinal..... 34

**Figura 2.** Padrão de IF em músculo esquelético de normal, corte transversal 34

**Figura 3A.** Cortes seriados de músculo esquelético com coloração com Hematoxilina-eosina (HE) e α-DG de pacientes com DMD..... 38

**Figura 3B.** Cortes seriados de músculo esquelético com coloração com HE e α-DG de paciente com DMD..... 38

**Figura 4A.** Cortes seriados de músculo esquelético com coloração com HE e α-DG de paciente com DMD..... 39

**Figura 4B.** Cortes seriados de músculo esquelético com coloração com HE e α-DG de paciente com DMD..... 39

## Lista de Tabelas


| | | |
|---|---|---|
| **Tabela 1.** | Biopsias musculares dos 19 pacientes: Análises de rotina e reações imuno-histoquímicas..... | 23 |
| **Tabela 2.** | $\alpha$-distroglicana (α-DG) e percentagem de fibras reagentes à imuno-histoquímica..... | 32 |
| **Tabela 3.** | Expressão da α-DG, conforme categorias em percentagem..... | 35 |
| **Tabela 4.** | Quociente de Inteligência (QI) dos 19 pacientes..... | 36 |
| **Tabela 5.** | Categorias de Inteligência e QI total..... | 40 |
| **Tabela 6.** | Categorias de inteligência e QI verbal com WISC-III..... | 41 |
| **Tabela 7.** | Categorias de inteligência e QI de execução com WISC-III..... | 42 |

**Lista de Abreviaturas**

| | |
|---|---|
| RACh | Receptor de acetil-colina |
| α-DG | α-distroglicana |
| AMEP | Atrofia muscular espinhal progressiva |
| β-DG | β-distroglicana |
| CDG | Complexo distrofina-glicoproteína |
| CK | Creatinoquinase |
| CPAD | Complexo de proteína associado à distrofina |
| DG | Distroglicana |
| DMC | Distrofia muscular congênita |
| DCM | Distrofia muscular Cintura Membros |
| DMD | Distrofia muscular de Duchenne |
| FCMD | Distrofia muscular *Fukuyama* |
| PFF | Proteína fukutina-relacionada |
| MAT | Matrix Analogies Test |
| MEB | *Muscle-Eye-Brain* (distrofia muscular) |
| MEC | matriz extra-celular |
| PCR | *polymerase chain reaction* (Reação de cadeia de polimerase) |
| POMGnT1 | 2-N-acetilglicosminiltransferase-1 |
| POMT1 | O-manosiltransferase-1 |
| PPVT-R | *Peabody Picture Vocabulary Test Revised* (teste cognitivo) |
| QI | Quociente de inteligência |
| RM | Ressonância magnética |
| RMCf | Ressonância magnética de crânio funcional |
| ERM | Espectroscopia por Ressonância Magnética |
| SNC | Sistema Nervoso Central |
| WISC-III | *Wechsler Intelligence Scale for Children* (teste cognitivo) |
| WRAML | *Wide Range Assessment of Memory and Learning* (teste cognitivo) |
| SWW | Síndrome de *Walker Warburg* |

**Resumo**

A distrofia muscular de Duchenne (DMD) é uma distrofia muscular que se expressa com déficit cognitivo em 20-30% dos casos. Apesar do cérebro destas crianças parecer normal, já foram encontradas alterações diversas, não explicando, porém o acometimento cognitivo. O gene da distrofina é muito grande e codifica a distrofina em várias isoformas. Deleções e duplicações em locais de ligação às isoformas distais como a Dp140, Dp71 favorecem a incidência de retardo mental. A distrofina se liga a um complexo de proteínas (CPAD), entre elas, as distroglicanas. Dentro do complexo das distroglicanas, a α-distroglicana tem sido demonstrada como importante no mecanismo, não só de estabilização da musculatura esquelética à contração e relaxamento musculares, mas também na sinaptogênese, migração neuronal e plasticidade neuronal. Seus diferentes papéis, na musculatura esquelética e no sistema nervoso central (SNC), nos levam a pensar sobre os mecanismos envolvidos em sua deficiência, bem como da distrofina, na fisiopatologia do déficit cognitivo dos pacientes com DMD. Foram avaliados 19 pacientes com DMD, sendo encontrada uma alta proporção (42,1%) com quociente de inteligência (QI) abaixo da média. Os pacientes apresentavam na época da biopsia muscular, entre 4 anos e 2 meses e 10 anos e 5 meses; e, na época das avaliações, entre 6 e 12 anos de idade. Dos 19 pacientes, 2 foram avaliados pelo Stanford-Binet. Dos 17 pacientes avaliados pelo WISC-III, 52,9% apresentaram um QI verbal menor do que a faixa média de inteligência, sendo que destes 29,4% um QI abaixo de 70. A proporção de pacientes com QI verbal dentro da faixa média de inteligência, isto é, entre a média inferior e a média superior, foi de 47%. Em nossa amostra de musculatura esquelética de biopsias de pacientes com DMD, obteve-se que, 89,5% dos pacientes apresentaram a imunoexpressão da α-distroglicana entre 0 e 25% do total das fibras musculares. Porém, um indivíduo apresentou uma imunoexpressão de 70,4%, e outro de 43,2%, ambos com performance cognitiva dentro da faixa média de inteligência, achado este não mencionado em literatura. Não houve uma relação estatisticamente significante entre os valores de QI total, verbal e de execução com a imunoexpressão da α-distroglicana em fragmentos musculares destes pacientes. A presença da α-distroglicana no cérebro, bem como da distrofina, sugere o seu papel na fisiopatologia do déficit cognitivo das crianças com DMD. Os mecanismos que envolvem a inteligência são complexos. Podemos atribuir fatores genéticos, estruturais, mas também devemos considerar os fatores ambientais e psicossociais, no caso de nossos pacientes, de grande valia no que se refere à carência de estímulos e oportunidades de aprendizado.

# *1. INTRODUÇÃO*

## 1.1 Distrofia muscular de Duchenne

### 1.1.1 Quadro clínico

A distrofia muscular Duchenne é definida como uma desordem ligada ao cromossomo X, locus Xp21, e se caracteriza por fraqueza muscular progressiva devida à deficiência da proteína distrofina no músculo esquelético (Dubowitz, 1995).

Ocorrendo em sua maioria antes dos 4 anos de idade, o curso clínico da doença mostra uma variabilidade no início dos sintomas. Os sintomas inicialmente presentes são uma marcha anormal, quedas freqüentes ao solo e dificuldade para subir escadas. Na evolução clínica, ocorre fraqueza de membros superiores, deformidades como enrijecimento dos flexores de quadril, do tendão de aquiles e flexores de joelhos, além da escoliose (Dubowitz, 1995).

Outros aspectos clínicos estão presentes na DMD: atraso do desenvolvimento neuropsicomotor prévio, marcha anserina, hiperlordose lombar, hiperglossia, aspecto hercúleo com proeminência generalizada dos músculos, palato ogival e hipertrofia de panturrilhas (Dubowitz, 1995).

A idade em que as crianças perdem a marcha, ocorre entre os sete e 13 anos, conforme a tese de Dubowitz* em 1960 (citado por Dubowitz, 1995).

Alguns indivíduos desenvolvem hipoventilação noturna, evoluindo para insuficiência respiratória, conforme a tese de Dubowitz em 1960 (citado por Dubowitz, 1995). E, a maioria dos indivíduos morre antes dos 20 anos de idade devido a infecções respiratórias ou insuficiência cardíaca (Dubowitz, 1995).

Nos estágios avançados da doença, o comprometimento da função cardíaca e respiratória pode coexistir. À medida que ocorre envolvimento cardíaco, este se complica devido à hipertensão pulmonar, que pode decorrer da insuficiência respiratória, e falência cardíaca à direita (Melacini et al, 1996).

*Dubowitz V. Progressive muscular dystrophy in Childhood.M.D [Thesis]. Cape Town: University of Cape Town; 1960 apud Dubowitz V. Muscle Disorders in childhood. 2nd ed. London: Saunders; 1995.

Por outro lado, a cardiomiopatia dilatada, com insuficiência ventricular esquerda, pode também causar hipertensão pulmonar. Outro fator complicante, é a fraqueza da musculatura respiratória que determina a hipoventilação e a hipoxemia, levando à vasoconstricção pulmonar com subseqüente hipertensão pulmonar (Melacini et al, 1996).

### 1.1.2 Quadro enzimático

As enzimas musculares como as transaminases, a aldolase, a lactato desidrogenase e a creatinoquinase(CK) estão aumentadas na DMD, bem como em outras distrofias musculares. Os valores de CK, porém estão aumentados de 50 a 100 vezes do normal, nos estágios iniciais da doença. Com a evolução da doença, os valores de CK caem (Dubowitz, 1995).

### 1.1.3 Biopsia muscular

A biopsia muscular apresenta diferentes padrões conforme o estágio clínico da doença, que vai desde áreas focais de degeneração e regeneração, até a progressiva substituição do tecido muscular por tecido fibroso e gorduroso (Dubowitz, 1995).

### 1.1.4 Eletroneuromiografia

A eletroneuromiografia mostra uma padrão de potenciais motores de baixa amplitude, de ação motor, polifásicos e de curta duração, que ocorrem também em todas as formas de distrofias musculares (Dubowitz, 1995).

### 1.1.5 Genética

Em torno de 2/3 dos pacientes apresentam mutação no gene da distrofina, na forma de deleções ou de duplicações (Koenig et al, 1987; Den Dunnen et al, 1989). O restante das mutações são representadas por mutações de ponto (Roberts et al, 1994).

Com a utilização do método PCR multiplex (*polymerase chain reaction)*, foi possível a detecção de 98% das deleções em estudo por Beggs et al, de outras deleções por Chamberlain et al, e do gene responsável pela DMD (Chamberlain et al, 1988; Beggs et al, 1990).

A freqüência de duplicações deve variar entre 5 e 15%, provavelmente decorrente das diferentes técnicas utilizadas (Abbs, Brobow, 1992). O restante dos casos de DMD são presumivelmente causados por pequenas mutações (mutações de ponto), puras deleções intronicas, ou inserção exonica de seqüências repetitivas (Muntoni, 2003).

O locus responsável pela DMD se localiza no Xp21, onde as anormalidades foram detectadas em diversos estudos, tanto citogenéticos, como por análise de ligação (Greenstein et al, 1977; Zatz et al, 1981; Davies et al, 1983; Verellen-Dumoulin et al, 1984; Francke et al, 1985; Bakker et al, 1985; Goodfellow et al, 1985).

O isolamento do gene da distrofina foi realizado por Kunkel et al (Kunkel et al, 1985). Em 1987 o gene foi completamente clonado (Koenig et al, 1987) e foi descoberta a proteína, produto do gene, a distrofina (Hoffman et al, 1987).

A aplicação da análise imuno-histoquímica, para a localização da distrofina no sarcolema (Zubrzycka-Gaarn et al, 1988; Arahata et al, 1988), permitiu um avanço na interpretação do diagnóstico em DMD. Com a completa ausência da imunoreatividade da distrofina na membrana da fibra muscular (sarcolema), foi possível relacionar com a forma severa da doença (Forma Duchenne), e, com a sua presença, mas em pouca quantidade, com a forma menos severa (Forma Becker) (Hoffman et al, 1988).

Em vários laboratórios foram desenvolvidos diferentes anticorpos contra a molécula de distrofina. A partir de estudos por Nicholson et al (1990), foi observada uma relação entre a presença da distrofina e a severidade clínica. Foram usados os anticorpos para distrofina, contra diferentes partes de sua molécula: região terminal C, região terminal N, e região central *rod* (Nicholson et al, 1990).

A distrofina, em suas mutações distais, tem tido uma relação significante com o retardo mental nos pacientes com DMD. Deleções e duplicações que impedem a ligação da distrofina à distroglicana e a expressão de isoformas específicas (Dp71, Dp140, Dp116), favorecem a ocorrência do déficit mental (Mehler, 2000).

Deleções nas regiões distais do gene, incluindo a região entre o exon 45 a 54, favorecem a incidência do retardo mental (D'Angelo, Bresolin, 2003; Felisari et al, 2000; Mehler, 2000).

Foram identificadas duas isoformas de distrofina distais envolvidas no déficit cognitivo: a Dp140 que se expressa predominantemente em tecido fetal e pouco em tecido cerebral; e a Dp71 que se expressa em células gliais e de giro denteado (Moizard et al, 1998; Felisari et al, 2000).

Em pacientes com distrofia muscular Becker (desordem alélica à DMD) também obteve-se uma relação estatisticamente significante entre a perda da isoforma Dp140 e retardo mental (Bardoni et al, 2000).

## 1.2 Distrofina

Tanto a distrofina como a utrofina, proteína homóloga à distrofina, e também localizada na região subsarcolemal, estão presentes não só na musculatura esquelética, como no cérebro (Tian et al, 1997).

A distrofina é um produto do gene da DMD, localizada na membrana pós-sináptica cortical e nos neurônios de Purkinje. Estes achados sugerem que a distrofina tem um importante papel no cérebro onde deve estar envolvida na função e arquitetura sináptica (Blake et al, 1999).

O cerebelo expressa uma isoforma de distrofina, diferindo em apenas poucos aminoácidos, a chamada P-distrofina, que se localiza após as células de Purkinje. A C-distrofina se expressa nas células piramidais do córtex e no hipocampo (Rae et al, 1998), ao longo da membrana do corpo celular e dendritos (Lidov et al, 1990).

A distrofina em camundongo se expressa largamente em neurônios do córtex cerebral, em neurônios piramidais e cerebelares, e na membrana pós-sináptica, estando ausente em camundongo mdx (Lidov et al, 1990).

A imunoreatividade ao longo dos corpos celulares e dendritos dos neurônios do córtex cerebral e células de Purkinje também foi encontrada em 3 pacientes falecidos de doença não neuromuscular, estando ausente em 3 pacientes com DMD (Uchino et al, 1994).

## 1.3 Complexo de proteínas associados à distrofina (CPAD)

A distrofina se encontra na membrana plasmática na fibra muscular e na membrana pós-sináptica de alguns neurônios do cérebro. No músculo, a distrofina está associada à um complexo protéico oligomérico, o CPAD, cujo papel parece ser o de estabilizar a membrana muscular e protegê-la do stress mecânico da contração e do relaxamento muscular. Diversas destas proteínas têm sido implicadas em uma variedade de processos, incluindo a sinaptogênese e patogênese microbial. A perda de distrofina coincide com a redução secundária do CPAD (Blake, Kroger, 2000).

O CPAD pode ser dividido em três sub-complexos: sarcoglicana, distroglicana e citoplasmático. O complexo distroglicana (DG) é sintetizado amplamente e é envolvido em vários processos celulares (Blake, Kroger, 2000).

Em relação à distribuição das proteínas do CPAD, as proteínas se distribuem da região extracelular à intracelular: a α-distroglicana (α-DG) na superfície muscular; seis proteínas na região ao longo da membrana que são a β-distroglicana (β-DG), a α, a β, a γ e a δ sarcoglicanas e sarcospan; cinco □ia net□□ na região intracelular que são as sintotrofinas, as distrobrevinas, as rapsinas, o n-NOS e Grb2 (Moukhles, Carbonetto, 2001).

A α e β distroglicanas, ambas são produzidas por clivagem proteolítica e glicosilação de um único precursor protéico. A $\alpha$-DG é um componente da matriz extra-celular (MEC) e é também, um receptor celular.

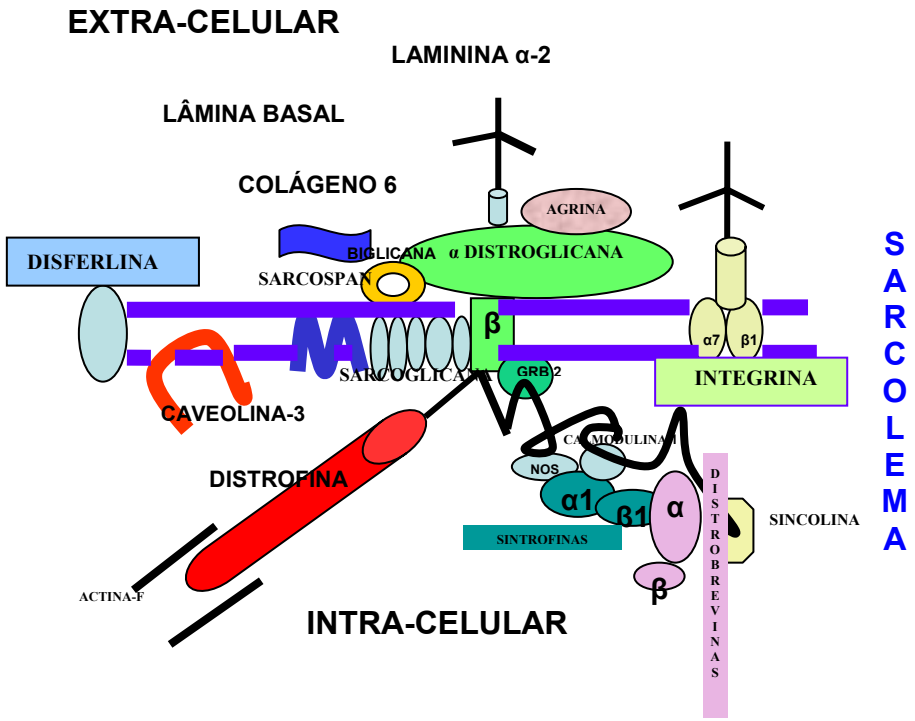
Ela se liga a diversos componentes da MEC incluindo a laminina $\alpha$-2 e a laminina 4 (junção neuromuscular), a agrina (proteína que coordena a sinaptogênese) e o perlecan. Já a β-DG se liga diretamente à distrofina e à α-DG (Blake, Kroger, 2000).

A laminina se liga à distroglicana na junção neuromuscular e facilita o agrupamento dos receptores de acetil-colina. A β-DG se liga à uma outra proteína, a rapsina, que liga a distrofina aos receptores de acetil-colina (Hemler, 1999).

A distroglicana foi identificada como o componente central do complexo distrofina-glicoproteína (CDG). Composta pelas unidades alfa e beta, são proteínas pós-traduzidas originadas de um RNA mensageiro (RNAm) codificado por um gene (Cohn et al, 2002).

Segue em anexo figura representativa do CDG:

## COMPLEXO DISTROFINA-GLICOPROTEÍNA




Modificado de Rando, 2001

### 1.3.1 Expressão em SNC

Há crescente evidência do papel do CDG nas □ia net□ do Sistema Nervoso Central (SNC). A distroglicana, a distrofina, as isoformas da distrofina Dp140 e Dp71, as distrobrevinas e as sintrofinas são abundantes no cérebro, sendo que algumas proteínas estão concentrados em frações pós-sinápticas (Lévi et al, 2002).

O chamado complexo CPAD-*like* dentro dos neurônios é composto pela distrofina, β-distrobrevina e sintrofina. É possível que o complexo CPAD-*like* no cérebro contenha na membrana neuronal nNOS, associado a sintrofina, β-distrobrevina e distrofina (Blake et al, 1999).

A identificação da β-distrobrevina como componente de ligação a distrofina e a sua riqueza em densidades pós-sinápticas (DPS), sugere que ambas sejam componentes das sinapses do sistema nervoso central (SNC) e podem definir o CPAD neuronal (Blake et al, 1999).

As sintrofinas, outro componente do complexo citoplasmático, podem se ligar às proteínas sinalizadoras como óxido nítrico neuronal sintase (*nNOS*), canais de sódio, *kinase-3* stress-ativados e microtúbulo-associado serina/treonina *kinase* (Blake et al, 1999).

Estas interações sugerem que o componente citoplasmático do CPAD, composto pelas sintrofinas, distrobrevinas, rapsinas, n-NOS e Grb-2, pode estar diretamente envolvido na ancoragem das proteínas sinalizadoras, ao sarcolema, na proximidade com a distrofina. Esta interação coloca o nNOS próximo aos receptores NMDA na membrana sináptica excitatória pós-sináptica (Blake et al, 1999).

Os neurônios distrofina-deficientes poderiam ficar mais suscetíveis aos insultos metabólicos e fisiológicos, já que o oxido nítrico é importante nos processos de neurotoxicidade cálcio-dependentes (Blake et al, 1999).

Já a α-distrobrevina, se liga diretamente ao terminal carboxila da distrofina e às sintrofinas, e, parece também estar envolvida na transmissão sináptica da junção neuromuscular. Ela se expressa em células granulares e axônios onde a distroglicana se expressa (Blake et al, 1999).

A α-distrobrevina, como a distroglicana, laminina-α2, a isoforma de distrofina Dp140, e a agrina, se encontram em astrócitos perivasculares e na glia Bergmann no cerebelo (Blake et al, 1999).

Nos astrócitos a α-distrobrevina1 é predominantemente associada ao Dp71 e a sintrofina. O Dp71 pode também estar presente em neurônios do giro denteado possivelmente associado a β-distrobrevina (Blake et al, 1999).

Enquanto a distrofina está apenas expressa em neurônios, diversos componentes do CPAD, como a distroglicana e a laminina-α2 estão associadas à interface glial e à vascular. Além disso, a utrofina e a β2-sintrofina, presentes na junção neuromuscular, estão associadas à microvasculatura (Blake et al, 1999).

### 1.3.2 Expressão em DMD

Em doenças decorrentes de mutações da distrofina (DMD/Becker) ou das sarcoglicanas (sarcoglicanopatias), ocorre a ruptura das ligações entre as proteínas do CPAD, e subseqüente instabilidade da sarcolema e sua lesão induzida pela contração muscular. Com a lesão, há o influxo de Cálcio que leva o músculo a estar mais suscetível à necrose (Cohn et al, 2002).

Quatro glicoproteínas, componentes do complexo distrofina-glicoproteína (CDG), foram denominadas por Ervasti e col., como: 156K, 50K (Ervasti et al, 1990).

Através do uso do anticorpo monoclonal VIA4, contra a glicoproteína 156K (atualmente α-DG), em imunoblots, revelou-se uma redução de 85% do total no músculo do camundongo mdx. Já, nas amostras de músculos de pacientes com DMD, a redução se encontrou em torno de 90% (Ervasti et al, 1990).

Este achado em camundongo mdx, foi também demonstrado com as proteínas do CDG, que estiveram significativamente reduzidas na musculatura esquelética (Ohlendieck, Campbell et al, 1991).

Outros autores já demonstraram haver marcante redução da expressão da β-DG e da α-DG (Culligan et al, 2001). Já no RNAm 43-156kD, precursor do complexo distroglicana, não houve demonstração de sua redução (Ibraghimov-Beskrovnaya et al, 1992).

O componente de 43kD, também isolado no cérebro, no músculo cardíaco e nos pulmões, ao contrário do que ocorre na musculatura esquelética, não apresentou redução no cérebro e pulmões, em camundongo mdx (Ibraghimov-Beskrovnaya et al, 1992).

## 1.4 DMD e Cognição

### 1.4.1 Cérebro e cerebelo

Apesar do cérebro de indivíduos com DMD pareça normal, já foram encontradas alterações diversas como: discreta atrofia cerebral, leve dilatação ventricular e atrofia cortical nos 30 casos examinados por Yoshioka (Yoshioka et al, 1980) e outros (Blake, Kroger, 2000; Anderson et al, 2002). Em estudo separado por Jagadha e Becker foi encontrada uma maior incidência de perda neuronal e gliose (Jagadha, Becker, 1988).

Em cérebros de pacientes com DMD foram também encontrados: desorganização da arquitetura cortical de predomínio em regiões fronto-temporais, erros de migração neuronal (heterotopias) e orientação neuronal anormal com atenuação das arborizações dos terminais dendríticos (Mehler, 2000).

Em camundongos mdx evidenciou-se uma marcante diminuição dos grupamentos de GABAa, em cerebelo e hipocampo, principalmente ao redor das células de Purkinje (Anderson et al, 2002).

Se o mesmo ocorre com as crianças com DMD, a sua habilidade de aprender e de executar tarefas poderia estar prejudicada, visto que o cerebelo tem-se mostrado como importante no papel do comportamento motor como automação, aprendizado (Anderson et al, 2002).

O N-acetil aspartato (NA) é um marcador neuronal e diminui a sua concentração em situações de perda neuronal ou perda da função mitocondrial, o que levaria ao aumento da relação da colina e NA. Entretanto, relatos do aumento da NA já foram relatados como associados à uma melhor performance cognitiva (Era et al, 1998).

O aumento de colina no cérebro tem sido relatado em várias desordens de SNC como doenças demenciais, tumores e Alzheimer. Nestes casos o aumento pode ser interpretado como um indicativo do aumento do *turnover*, da resposta inflamatória, ou mesmo decorrente do aceleramento da divisão celular (Era et al, 1998).

Em espectroscopia por Ressonância (ERM), o aumento de colina já havia sido descrito em cérebro de camundongos mdx nos quais foi detectado o aumento da relação da colina com NA. O aumento desta relação também foi encontrado no cerebelo e no hipocampo (Era et al, 1998).

O papel do cerebelo na função visuo-motora é bem estabelecido. Tem sido também estabelecido um crescente papel do mesmo na função cognitiva, a partir da observação de que, lesões do cerebelo, se associam com o comprometimento da linguagem. Parte da explicação decorreria do fato de que a via corticopontocerebelar é a principal responsável pela passagem de informação do córtex cerebral (Era et al, 1998).

Entretanto, pouco é sabido sobre o papel cognitivo do cerebelo, esta estrutura subcortical que se liga ao córtex pré-frontal e motor, e aos gânglios basais. Estudos, porém, mostram em Ressonância magnética de crânio funcional (RMCf), que ele desempenha um papel ativo no aprendizado motor, aparentemente agindo juntamente com o córtex pré-frontal. O neocerebelo, com um volume extenso em humanos, tem sido proposto como fazendo parte do papel lingüístico e cognitivo (Lieberman, 2002).

### 1.4.2 Estudos cognitivos

Crianças com DMD apresentam déficit cognitivo não progressivo, em 20-30% dos casos. Apresentam um retardo mental moderado, cujo nível de QI se enquadra em um desvio-padrão para a esquerda (Blake, Kroger, 2000). A média do QI destes pacientes é de 85, sendo que 30% têm um QI menor do que 70 (Anderson et al, 2002).

O pobre desempenho no teste de QI destas crianças tem sido atribuído primariamente à linguagem verbal (Blake, Kroger, 2000). É o que foi observado também por Karagan e Zellweger, em uma série de 53 pacientes (Karagan, Zellweger, 1978). Para Era, a proporção de QI menor do que 70 foi de 19% (Era et al, 1998).

O déficit relacionado à memória de trabalho verbal e de compreensão auditiva deficientes sugere o acometimento do "circuito fonológico" (Hinton et al, 2000).

Entretanto, outros relatos mostraram uma melhor performance do QI verbal e uma diminuição do QI com a idade (Anderson et al, 2002). Déficits na memória, leitura, matemática e escrita têm sido encontrados também em crianças com DMD (Felisari et al, 2000).

Em relação à idade, duração ou gravidade da doença, diversos estudos mostraram não haver qualquer relação com o QI (Worden, Vignos, 1962; Zellweger, Hanson, 1967; Prosser et al, 1969; Yoshioka et al, 1980).

Os achados em várias séries de pacientes com DMD sugerem um grau considerável de heterogeneidade com relação ao perfil neuropsicológico destas crianças (Era et al, 1998).

O desempenho cognitivo específico em atenção e memória se mostrou pobre nos pacientes com DMD, bem como a sua habilidade de compreensão verbal. As crianças teriam um maior risco em desenvolver uma alteração na memória verbal, não significando que todas elas teriam déficit verbal, o que explica a grande variabilidade de desempenho destes pacientes (Hinton et al, 2001).

Estudos comparativos entre pacientes com DMD e atrofia muscular espinhal progressiva, ambas doenças de comprometimento motor progressivo, demonstraram um maior comprometimento do QI verbal (Billard et al, 1998), e de memória (Whelan, 1987, Era et al, 1998), naqueles com DMD (Wicksell et al, 2004).

O padrão de maior déficit nas tarefas auditivas e lingüísticas em relação às tarefas visuo-espaciais tem sido identificado como um padrão comum aos disléxicos. Em casos de pacientes com DMD, sugere-se haver alguma similaridade com problemas de leitura e linguagem. Estas crianças não só demonstraram dificuldades em análise fonológica como também na percepção visual das palavras (Billard et al, 1998; Dorman et al, 1988).

## 1.5 α-distroglicana

### 1.5.1 Funções e imunoexpressão

A distrofina, suas isoformas, o complexo distroglicana, parecem estar envolvidos na plasticidade neuronal induzida por lesão, sendo possível que estes complexos possam participar em outras formas de plasticidade como as relacionadas à memória, aprendizado e outras funções comprometidas em pacientes com DMD (Zaccaria et al, 2001b).

A concentração da α-DG, β-DG e distrofina foi confirmada em neurônios hipocampais, nas □ia net□ GABAérgicas, sugerindo que estas proteínas formem um complexo nestas regiões (Lévi et al, 2002).

A α-DG é um componente periférico de membrana do CDG, comum a vários tecidos incluindo músculo, nervo, coração e cérebro. No músculo funciona ligando a actina da fibra muscular à matrix extra-celular (MEC), via distrofina e cadeia laminina α-2 da merosina (Muntoni et al, 2002).

A α-DG é uma proteína altamente glicosilada. Trata-se de uma proteína de ampla expressão, em diferentes tecidos: ela aparece em western blots com um peso molecular de 156kDa em musculatura esquelética, 140kDa em musculatura cardíaca, e 120kDa em cérebro e nervo periférico (Muntoni et al, 2002).

A α-DG no cérebro é menos glicosilada se comparada à sua isoforma no músculo, que é de 156kDa. No cerebelo ela se localiza nas células de Purkinje, corpo celular e dendritos. Na retina está associada à uma rica camada sináptica plexiforme e aos vasos sanguíneos. A β-DG, já se localiza no terminal astrocitário, que freqüentemente envolve a membrana basal parenquimatosa dos vasos sanguíneos (Tian al, 1997).

A partir de experimentos realizados em ratos e do uso de anticorpo contra a α-DG (mAb 1B7), identificaram a sua expressão em corpos de células piramidais e dendritos, em células de Purkinje em cerebelo, células granulares, e camada molecular de um modo de orientação radial. Também foi detectada uma imunorreatividade esparsa em processos astrocitários na substância branca cerebral. No córtex cerebral, ela se expressa em corpos celulares

piramidais e dendritos da camada V. Na substância cinzenta a $\alpha$-distroglicana se concentra dentro de neurônios sensoriais e em motoneurônios nas colunas ventrais e dorsais (Moukhles, Carbonetto, 2001). No cerebelo, está associada à membrana basal, na interface glio-vascular (□ia net al, 1997).

Em cérebro de camundongo, através do uso de diferentes anticorpos para as regiões globulares N e C-terminal da α-DG, a sua imunorreatividade foi encontrada em neurônios do córtex cerebral, hipocampo, bulbo olfatório, gânglio basal, tálamo, hipotálamo, tronco cerebral e cerebelo. A sua imunoexpressão também ocorreu nas células granulares do giro denteado do hipocampo e em alguns neurônios do tálamo e do hipotálamo onde a distrofina estava ausente, mas a utrofina e as isoformas de distrofina estavam presentes (Zaccaria et al, 2001). Ela se expressa também ao redor de vasos sangüíneos, processos gliais de Bergmann e na camada de células granulares (Moukhles, Carbonetto, 2001).

A α-DG se liga à duas proteínas de superfície celular: agrina essencial para sinaptogênese, e a neurexina, responsáveis pela especificidade na sinaptogênese (Lévi et al, 2002).

A presença da α-DG nas □ia net□ GABAérgicas leva à intrigante possibilidade de que ela funcione como um sinalizador trans-neuronal para a sinaptogênese. O fato de que a α-DG se liga à agrina e às α e β neurexinas via seus domínios extra-celulares, dá suporte para esta possibilidade (Lévi et al, 2002)

A α-DG se localiza na mesma região que a laminina $\alpha$-2, na membrana basal vascular, e se associa ao corpo celular das células de Purkinje (estruturas pós-sinápticas) (□ia net al, 1997).

Os locais comuns à expressão da distrofina foram os neurônios (Blake, Kroger, 2000) das células piramidais, poucos neurônios do córtex cerebral, as células de Purkinje do cerebelo e neurônios das regiões CA1-CA3 do hipocampo (Zaccaria et al, 2001ª).

### 1.5.2 Expressão em diferentes miopatias

#### 1.5.2.1 DMD

O CPAD, na ausência da distrofina, se rompe, causando uma redução extensa dos níveis de CPAD na membrana (Blake et al, 1999), levando ao comprometimento da sua integridade e à sua degeneração (Montanaro, Carbonetto, 2002).

Embora já tenha sido observada a diminuição da expressão da $\alpha$-distroglicana em musculatura esquelética, como em estudos realizados em camundongos mdx como os de Culligan e col., 1996, pouco se obtém em estudos com pacientes DMD, como os de Cullen e col., 1996 e Ohlendieck e col., 1993. Nestes estudos foram observadas reduções dos níveis de α-DG em músculo esquelético de pacientes DMD, havendo porém a manutenção de seus vestígios na posição normal (Cullen et al, 1996).

A partir do uso de anticorpos secundários e preparações de membrana total de quatro controles e quadro camundongos mdx, revelou-se a redução em 85% no músculo esquelético do camundongo mdx. Em amostras de músculos de DMD, foi encontrada uma redução de 90% da glicoproteína 156Kda, hoje conhecida como α-DG (Ervasti et al, 1990).

Foi também demonstrada em estudo por Culligan et al, a diminuição da α-DG em cérebros de camundongos mdx, com a manutenção da β-DG em níveis normais (Culligan et al, 2001). Já, em cérebro de pacientes com DMD, foi encontrada uma redução dos níveis da β-DG (□ia ne al, 1998).

A α-DG é um receptor da agrina que funciona como agrupador destes receptores de acetil-colina, como observado em células musculares de camundongos (Gee et al, 1994). Isto ocorre através da interação com a agrina e a rapsina na junção neuromuscular (Kano et al, 2002).

Através da análise de imunoblot com a α-DG em cérebro de ovelhas, observou-se a sua concentração em sinaptossomas e membranas sinápticas. Havendo uma perda da α-DG em cérebros de pacientes com DMD, poder-se-ia pensar em sua contribuição para a deficiência cognitiva presente nesta doença (Smalheiser, Collins, 1999).

#### 1.5.2.2 Distrofia muscular cintura-membros (DCM)

Com exceção da DCM 2I, até o momento não havia sido descrita nenhuma forma de DCM com expressão anormal de α-DG. Achado semelhante também pode ser encontrado na distrofia muscular congênita (DMC) 1C, ligada às mutações do gene Fukutina-relacionado. Porém, estas mutações também foram excluídas nestas famílias (Dinçer et al, 2003).

Na DCM tipo 2I e na DMC tipo 1C, ocorre a mutação no gene que codifica a proteína fukutina-relacionada (PFR), uma glicosiltransferase que altera a glicosilação no músculo. Porém, nestas duas distrofias musculares não houve achado de envolvimento do SNC (Montanaro, Carbonetto, 2002), apenas, recentemente foram descritos pacientes com alterações estruturais como cistos cerebelares, além do retardo mental, em um quadro de DMC tipo 1C (Topaloglu et al, 2003).

#### 1.5.2.3 DMC

As distrofias musculares *Muscle-eye-brain* (MEB), Fukuyama e Síndrome de Walker-Warburg (SWW), apresentam similaridades no que se refere a combinação entre as anormalidades musculares, oculares e cerebrais (Kano et al, 2002).

A DMC 1C, com o fenótipo de fraqueza severo, hipertrofia muscular, e estrutura cerebral normal apresenta mutações do gene da PFR, homólogo da fukutina, levando à modificação da glicosilação (Kano et al, 2002).

O papel potencial da glicosilação da distroglicana na patogênese da DMC é proveniente dos achados no músculo esquelético de pacientes com MEB e Fukuyama em camundongo myd (miodistrófico), nos quais ocorre alteração na glicosilação da α-DG e conseqüente quebra na ligação de afinidade com a laminina. Além disso, a perda da função da distroglicana por deleção genética ou modificação pós-tradução anormal resulta na presença de patologia cerebral semelhante à que ocorre na DMC (Moore et al, 2002).

A hipoglicosilação da α-DG, em DMC pode causar diversas formas de distrofia muscular como a Fukuyama e MEB, impedindo sua ligação da mesma com a laminina, neurexina e agrina (Michele et al, 2002).

No camundongo *myd* com várias alterações de SNC, inclusive erro de migração neuronal em córtex, cerebelo e hipocampo, ocorre o mesmo no músculo e no SNC. A perda das interações da α-DG, rompe a composição da MEC e sua estrutura de suporte para as células gliais (Michele et al, 2002).

Mutações no gene glicosiltransferase-like, o *LARGE*, são responsáveis pela miodistrofia em camundongos, demonstrando também a glicosilação reduzida da α-DG (Kano et al, 2002).

Em camundongos DG-nulos há uma desorganização das camadas corticais, heterotopias e agrupamentos de neurônios e glia além da membrana basal, sugerindo um comprometimento na migração cortical destes neurônios (Montanaro, Carbonetto, 2002).

Na distrofia muscular Fukuyama, MEB e SWW ocorre um comprometimento da migração neuronal (Montanaro, Carbonetto, 2002).

Tem sido sugerido que a deficiência de fukutina afeta a glicosilação da α-DG na musculatura esquelética e cardíaca, levando à alteração da sua função, não mais podendo se localizar adequadamente na membrana extra-celular da fibra muscular (Kano et al, 2002).

### 1.5.3 Glicosilação e sistema nervoso central

A glicosilação é um processo complexo após a tradução, no qual as proteínas passam através do reticulo endoplasmático e complexo de Golgi. Os carboidratos envolvidos têm o papel na modulação da estabilidade da proteína, conformação e interação com outras proteínas envolvidas na adesão, diferenciação e desenvolvimento (Muntoni et al, 2002).

As glicanas podem ser divididas em dois grupos, de acordo com a proteína a qual se ligam: as N-glicanas se ligam à asparagina, a O-glicana se liga à serina ou um resíduo de treonina. As glicanas O-ligadas mais comuns são aquelas onde a N-acetilgalactosamina se liga à serina ou asparagina. Outros açúcares O-ligados incluem a manose (Muntoni et al, 2002).

A glicosilação da α-DG varia nos diferentes tecidos e durante o desenvolvimento, sendo que, algumas glicosiltransferases podem ser expressas apenas em determinados tecidos, e, na ocorrência de mutações, apenas estes tecidos estariam afetados (Montanaro, Carbonetto, 2002; Muntoni et al, 2002).

As interações entre a α-DG com perlecan e laminina são mediadas por carboidratos, assim, mutações que afetam a glicosilação da α-DG poderiam prejudicar na habilidade de redistribuir e alcançar a superfície das proteínas e as suas ligações (Leschzimer et al, 2000). O tráfego intra-celular e redistribuição na superfície celular pode contribuir para o local final, desde que a rapsina, essencial na localização sináptica dos receptores de acetil-colina (RACh), trafegue intracelularmente como um complexo da DG (Montanaro, Carbonetto, 2002).

Após trabalho de Michele e col., 2002 e Moore e col., 2002 houve um progresso no entendimento do papel das interações celulares e moleculares que resultam em déficits no SNC. Foi revelado o papel da α-DG na migração neuronal, transmissão sináptica e sinalização de proteínas da superfície de membrana (Montanaro, Carbonetto, 2002), fazendo a ligação entre doenças que envolvam, simultaneamente, o músculo e o SNC.

O retardo mental nas DMC cujas mutações se encontram em genes envolvidos na glicosilação da a-DG, como Fukutina, O-manosiltransferase-1 (POMT1), O-manosil-B1, 2-N-acetilglicosminiltransferase-1 (POMGnT1), são respectivamente relacionados às distrofias musculares Fukuyama, SWW e MEB (Montanaro, Carbonetto, 2002).

## 1.6 Objetivos

O objetivo do presente estudo é avaliar a relação da imunoexpressão da $\alpha$-distroglicana com a performance cognitiva de pacientes com DMD

# *2. MATERIAL E MÉTODOS*

## 2.1 Casuística

Foram avaliados no ambulatório do setor de Doenças Neuromusculares da Disciplina de Neurologia Clínica da UNIFESP-EPM, 26 pacientes, meninos entre 6 e 16 anos, com o diagnóstico de DMD, com diagnóstico realizado a partir da história clínica, exame neurológico, dosagem de creatinoquinase (CK) e confirmado através da biopsia muscular. Destes, 3 não retornaram pois moravam em outro Estado e 4 apresentavam material da biopsia muscular insuficiente para prosseguimento deste estudo, restando portanto, 19 pacientes.

A seleção dos pacientes ocorreu a partir de março de 2003 até maio de 2004, conforme os critérios acima descritos.

A história clínica dos pacientes, bem como a análise da força muscular e níveis de CK, estão resumidos na tabela 1. Foram realizadas testagem da força muscular por meio da MRC (*Muscle Research Council*), em diversos grupos musculares, bem como a avaliação da habilidade motora, segundo as avaliações descritas por Scott e col., 1982. Todos os pacientes avaliados apresentavam aumento dos níveis de CK e percentagem de força muscular menor do que 100%. À realização da anamnese, era freqüente a presença de déficit de aprendizado.

**Tabela 1 –** ASPECTOS CLÍNICOS DOS 19 PACIENTES COM DISTROFIA MUSCULAR DUCHENNE

| paciente | DN | idade início | IDADE NA BIOPSIA | DNPM | ISDA | □ia. Aprendizado | AP | AF | Marcha | %MRC | Score HM | CK |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| FMG | 22/1/1992 | 3ª | 5ª2m | RDNPM | NDN | PRESENTE | NDN | NDN | perda aos 7ª | 34, 37 | 9 | 17X |
| MSO | 28/7/1995 | 2ª | 4ª2M | NORMAL | NDN | AUSENTE | NDN | NDN | perda aos 7ª | 81, 8 | 7 | 15X |
| JCB | 15/1/1990 | 1ª | 10ª2m | RDNPM | NDN | AUSENTE | NDN | TIO C/ DMD | perda aos 10ª | 71, 2 | 9 | 17X |
| JSM | 31/7/1991 | 2ª | 105m | RDNPM | BCP repetição | AUSENTE | NDN | IRMÃO C/ DMD | presente | 50 | 12 | 27X |
| JFBS | 18/9/1993 | 5ª | 7ª10M | NORMAL | NDN | PRESENTE | NDN | NDN | perda aos 9ª | 58, 7 | 12 | 26x |
| CAPC | 4/9/1994 | 6ª | 8ª | NORNAL | NDN | AUSENTE | NDN | NDN | presente | 76 | 22 | 38X |
| DDAB | 6/10/1992 | 6ª | 10ª | RDNPM | NDN | AUSENTE | NDN | NDN | presente | 90 | 27 | 39X |
| EVLJ | 20/2/1997 | 2ª | 6ª | NORMAL | NDN | AUSENTE | NDN | NDN | presente | 92, 5 | 31 | 64X |
| LASL | 13/10/1993 | 7ª | 9ª5M | NORMAL | NDN | AUSENTE | NDN | NDN | presente | 91, 8 | 26 | 60X |
| GBS | 12/4/1997 | 5ª | 6ª1M | RDNPM | NDN | AUSENTE | NDN | NDN | presente | 90 | 27 | 55X |
| WRB | 8/3/1995 | 4ª | 8ª3M | NORMAL | NDN | AUSENTE | NDN | NDN | presente | 96, 2 | 22 | 59X |
| JJM | 20/6/1992 | 2ª | 11ª | RDNPM | NDN | AUSENTE | NDN | NDN | presente | 80 | 27 | 40X |
| WC | 30/9/1995 | 5ª | 8ª | RDNPM | NDN | AUSENTE | NDN | NDN | presente | 87, 5 | 23 | 26X |
| RVA | 16/9/1997 | 1ª6M | 6ª | RDNPM | NDN | AUSENTE | NDN | NDN | presente | 87, 5 | 30 | 57X |
| POS | 30/6/1995 | 5ª | 8ª4M | NORMAL | NDN | PRESENTE | NDN | NDN | presente | 92, 5 | 25 | 59X |
| RAC | 23/9/1994 | 7ª | 9ª2M | NORMAL | NDN | PRESENTE | NDN | NDN | presente | 91, 2 | 30 | 52X |
| TMS | 23/1/1995 | 7ª | 9ª1M | NORMAL | NDN | AUSENTE | NDN | IRMÃO/ PRIMO C/ DMD | presente | 92, 5 | 23 | 36X |
| LCS | 15/3/1995 | 6ª | 8ª11M | NORMAL | NDN | AUSENTE | NDN | NDN | presente | 98, 7 | 38 | 79X |
| FSS | 26/6/1996 | 5ª | 7ª9M | RDNPM | NDN | PRESENTE | NDN | NDN | presente | 93, 7 | 38 | 53X |

HM= Habilidade Motora; MRC= Medical Research Council; DN= Data de nascimento; Idade início= Idade início dos sintomas; CK= Creatinoquinase: aumentada em x vezes o normal; MRC= Medical Research Council (**ANEXO III**); Score HM= Score de Habilidade Motora (**ANEXO IV**); ISDA= Interrogatório sobre diversos aparelhos; NDN=nada digno de nota ou, descrição da alteração; AP= Antecedente pessoal: NDN = nada digno de nota ou, descrição da alteração; AF= Antecedente familiar: PRESENTE OU AUSENTE para DMD; Consangüinidade= PRESENTE OU AUSENTE; DNPM= Desenvolvimento neuropsicomotor: NORMAL OU RDNPM = retardo do desenvolvimento neuropsicomotor; □ia. Aprendizado= Déficit de aprendizado: PRESENTE OU AUSENTE

Os pacientes apresentavam na época da biopsia muscular, entre 4 anos e 2 meses e 10 anos e 5 meses. A idade do início da queixa motora, ocorria entre 1 ano e os 7 anos. A idade dos pacientes na época das avaliações (entre março de 2003 a junho de 2004), estava entre 6 e 12 anos de idade.

Dentre os 19 pacientes nove apresentavam retardo do desenvolvimento neuropsicomotor prévio, representando 56,25%, do total e em todos a hipertrofia de panturrilha e o sinal de *Gowers*, foram sinais presentes.

Apenas um paciente apresentava queixa referente a outro sistema, que não fosse o sistema músculo-esquelético e nenhum apresentava queixa referente à qualquer antecedente patológico.

A consangüinidade estava ausente em todos os pacientes, com exceção de três pacientes (15,78%), com o antecedente de DMD na família.

Ao interrogatório inicial, a queixa de déficit de aprendizado esteve presente em cinco pacientes, representando 26,31% do total de pacientes.

Os valores de CK dos pacientes, na época do diagnóstico, estavam entre 15 a 79 vezes o valor normal.

Através da testagem de 32 grupos musculares, e realizando o cálculo da percentagem de MRC (% MRC), se obteve um desempenho entre 34,37 a 98,7%, conforme o cálculo acima exemplificado. Em relação a habilidade motora (legenda acima), de um total de 40, ela ficou entre nove e 38. Deste grupo, três já perderam a marcha, aos sete, aos nove, e aos dez anos, respectivamente.

O projeto foi aprovado pela comissão de ética da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (CEP 1103/02) e todos os responsáveis pelos pacientes receberam um informativo por escrito sobre o Termo de Consentimento, conforme **Anexo I**, relativo à realização do teste WISC-III para a avaliação cognitiva e assinaram uma autorização concordando com a sua realização.

## 2.2 Biopsias musculares

### 2.2.1 Histoquímica

Os fragmentos musculares, mantidos congelados à -80$^{o}$C, foram obtidos a partir da biopsia muscular do músculo deltóide (Schmidt et al, 1988). Os fragmentos foram congelados em nitrogênio líquido e submetidos à técnicas rotineiras de coloração e histoquímica. Foram realizados cortes seriados de oito a dez micra de espessura no criostato à -25$^{o}$C e realizadas as seguintes colorações: Hematoxilina-eosina (HE), sudan vermelho (SV), tricrômio de Gomori modificado (TG) e ácido periódico de Schiff (PAS). As reações histoquímicas processadas foram a nicotinamida-desidrogenase (NADH), succino-desidrogenase (SDH), adenosinatrifosfatase (ATPase) pré-incubada em diferentes pH (9, 4; 4, 63 e 4, 35). A avaliação e análise do material foram feitas através da microscopia óptica no microscópio Nikon, modelo Labofot. O aspecto histológico visto em todas as biopsias foi aquele típico de DMD/ Becker: presença de necrose com macrofagia, regeneração, proliferação de tecido conjuntivo e substituição gordurosa.

### 2.2.2 Imuno-histoquímica com α-distroglicana:

**Anticorpo**:

Para o estudo da α-DG foi utilizado o anticorpo monoclonal IIH6, fornecido pó Kevin P. Campbell do “Howard Hughes Medical Institute, Research Laboratories – University of Iowa, College of Medicina – Estados Unidos.” (Ervasti, Campbell, 1991).

O anticorpo IIH6 foi demonstrado como bloqueador da ligação da α-DG com a laminina, sugerindo seu papel na determinação da função do complexo glicoproteína-distrofina, sem a interferência da laminina (Ervasti, Campbell, 1993), diferentemente do VIA4, outro anticorpo de ligação com a α-DG (Matsumura et al, 1997).

O IIH6 não altera a ligação das células de Schwann de ratos com a fibronectina, demonstrando ter um papel maior na adesão molecular (Matsumura et al, 1997).

Este anticorpo já foi usado para avaliar a imunoexpressão em musculatura esquelética de camundongo, estando substancialmente diminuído em camundongos mdx (Lerschziner et al, 2000).

A especificidade tanto do IIH6, quanto de outro anticorpo, o VIA4-1, não é conhecida, estando porém ambos envolvidos na ligação com estruturas glicosiladas presentes dentro da α-DG, na musculatura esquelética. A redução dos níveis de IIH6 e VIA4-1, em músculos, está nos mesmos níveis, tanto em distrofias musculares congênitas com defeito de glicosilação, quanto em camundongos mdx (Jayasinha et al, 2003). Este achado sugere na eficiência do IIH6 em demonstrar a expressão da α-DG, independente de se analisar um processo primário de glicosilação decorrente de mutações de glicosiltransferases, como também, de analisar a sua expressão no modelo animal da DMD, o camundongo mdx.

**Técnicas**:

- Secções de cinco micra de espessura foram colhidas em lâminas tipo Superfrost e secas por duas horas à temperatura ambiente.
- Foram então mergulhadas em acetona 100% à 4$^{o}$C por dez minutos.
- Os cortes foram incubados em soro de cabra por quinze minutos à 37$^{o}$C. Em seguida, com o anticorpo IIH6, diluído à 1/200 em salina tamponada com fosfato (PBS), contendo 1% de albumina sérica bovina (BSA) por 16 horas à 4$^{o}$C.
- Os cortes foram lavados com PBS contendo leite desnatado 0,5%, gelado, em seis lavagens sucessivas de 5 minutos cada.

- Os cortes foram incubados por 1 h à 37$^{o}$C com anticorpo de cabra contra imunoglobulina de camundongo, conjugada à fluoresceína.
- As secções foram novamente lavadas com PBS contendo leite desnatado 0,5%, gelado, em seis lavagens sucessivas de 5 minutos cada.
- As lâminas foram montadas em *Permount* – G (*Southern Biotechnology*).
- Foram analisados em microscópio Olympus BX60 equipado com epi-iluminação e fotografados com câmera digital Spot-2 (Diagnostic Instrument Inc).
- Na mesma lâmina, foram colhidos e processados sob a mesma forma, cortes de fragmentos musculares de pessoas normais, com idade similar a dos pacientes.

**2.3 Análise de resultados**

Foram realizadas de biopsias musculares de pacientes com DMD, em suas características conforme o grau de fibrose, necrose, infiltrado gorduroso, tamanho da fibra, presença de fibra hialina, grau de centralização nuclear, grau de inflamação, proliferação de tecido conjuntivo e tipo de fibra (Tabela 2).

Através da realização da imuno-histoquímica para o anticorpo α-DG, foi feita a contagem de fibras reagentes, em relação ao total de fibras naquele campo. O resultado da média entre 2 a 3 campos diferentes com aumento de 20x, se expressa por percentagem de fibras reagentes para o IIH6.

## 2.4 Avaliação cognitiva

Após realização da avaliação clínica e laboratorial, bem como a confirmação do diagnóstico de inteligência, foi explicada aos pais da criança a importância da realização da avaliação cognitiva, para fins diagnósticos e de entendimento da doença. Foi então entregue aos pais da criança, ou responsável, o Termo de Consentimento Livre Esclarecido para a realização do mesmo. Após o consentimento dos pais, foi então programada a realização dos testes do WISC-III e Stanford-Binet.

Foram realizados testes nos pacientes selecionados, através da escala Wechsler de inteligência (WISC-III), com adaptação para a população brasileira. A partir daí, foram obtidos os respectivos quocientes de inteligência (QI total).

Os testes foram realizados pela psicóloga Ana Edina de Melo Sampaio, com experiência na área de neuropsicologia há 8 anos, mestre em psicologia da saúde pela UMESP, em março de 2004.

Na escala de WISC-III, o QI é dividido em faixa, conforme o que se segue:

**Legendas do Sistema de Interpretação dos Resultados do QI**

| **SISTEMA DE INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS**<br>**DESCRIÇÃO QUALITATIVA DOS ESCORES EM QI DO WISC-III** | |
|---|---|
| QI TOTAL | Categorias |
| 130 e acima | Muito superior |
| 120-129 | Superior |
| 110-119 | Média Superior |
| 90-109 | Média |
| 80-89 | Média Inferior |
| 70-79 | Limítrofe |
| 69 e abaixo | Intelectualmente deficiente |

Figueiredo, 2002.

## 2.4 Avaliações cognitivas

### WISC

Em 1939 Wechsler montou uma bateria de testes para avaliar a inteligência, montando a escala Wechsler-Bellevue Scale, possibilitando as avaliações da capacidade verbal e de execução, envolvendo também os aspectos afetivos (Matarazzo, 1976; Anastasi, Urbina, 2000).

A organização das escalas Wechsler de Inteligência para Criança, WISC, sofreu várias modificações, sendo a última a WISC-III, adaptada e padronizada para a população brasileira (Figueiredo, 2002).

As escalas Wechsler de Inteligência (WISC-III), compõem-se de 13 testes divididos em dois grupos ou escalas, denominados de escala verbal e escala de execução (Figueiredo, 2002).

A escala verbal avalia os seguintes aspectos (Cunha, 1993, 2000; Figueiredo, 2000, 2002):

- a capacidade de lidar com símbolos abstratos (raciocínio abstrato)
- as informações de conteúdos da educação formal e estimulações ambientais
- a compreensão, memória e fluência verbal.

A escala de execução avalia os seguintes aspectos (Groth-marnat, 1999):

- grau e qualidade do contato não verbal do indivíduo com o ambiente
- capacidade de integrar estímulos perceptuais e respostas motoras pertinentes
- capacidade de trabalhar em situações concretas
- capacidade de trabalhar rapidamente
- capacidade de avaliar informações visuo-espaciais.

**STANFORD-BINET**

Os testes são agrupados por níveis de idade, conforme a distribuição:

a) de 2 a 5 anos: provas organizadas com intervalo de meio ano, 6 provas em cada nível e uma prova alternativa

b) de 5 a 14 anos: provas com intervalo de 1 ano, com 6 provas para cada nível e uma prova alternativa

c) oito provas para o nível adulto médio e uma prova alternativa

d) três níveis para adulto superior (adulto superior 1, 2 e 3) com seis provas em cada nível e uma prova alternativa.

Para a aplicação da prova usa-se uma caixa de objetos de brinquedo, um conjunto de cartões com figuras impressas, um protocolo para anotação das respostas. Nos níveis inferiores de idade, as provas são predominantemente de realização (Terman, Merrill, 1968; Anastasi, Urbina, 2000).

## 2.5 Avaliação estatística

Realizada através de teste paramétrico, uma vez que existe relação entre as variáveis. Foi feito estudo estatístico de regressão, onde foi analisada a relação entre a variável independente representada pela percentagem de fibras reagentes para a α-DG, com a variável independente, representada pelo QI.

Foi então realizado o coeficiente de relação de *Pearson* que mede o grau de relação entre as variáveis.

Realizada análise de variância através da ANOVA, com a relação entre os grupos e dentre o grupo.

Feito também o coeficiente de determinação R-quadrado e fixado o p como $<0,05$.

# *3. RESULTADOS*

## 3.1 Biopsias musculares

### 3.1.1 Histoquímica

**Tabela 2 –** BIOPSIAS MUSCULARES DOS 19 PACIENTES: ANÁLISES DE ROTINA E REAÇÕES HISTOQUÍMICAS

| Pacientes | Necrose/Regeneração | Variação calibre | Inflamação | f.hialina | tamanho da fibra(micra) | segmentação | prolif.tec. conjuntivo ENDO/PERI | infiltr. Gorduroso | c.nuclear | moth eaten | ATPase |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| FMG | 2+/2+ | presente | 2+ | 2+ | 42-139 | 0 | 2+/2+ | 2+ | 3% | 0 | PI |
| MSO | 1+/1+ | presente | 1+ | 1+ | 19-85 | 1+ | 2+/2+ | 3+ | 8% | 0 | PI |
| JCB | 1+/1+ | presente | 2+ | 1+ | 27-102 | 1+ | 2+/1+ | 3+ | 6% | 0 | PI |
| JSM | 1+/1+ | presente | 3+ | 1+ | 24-204 | 0 | 2+/2+ | 1+ | 12% | 0 | PI |
| JFBS | 2+/2+ | presente | 1+ | 2+ | 37-103 | 0 | 2+/2+ | 1+ | 10% | 1+ | PI |
| CAPC | 1+/1+ | presente | 2+ | 2+ | 38-106 | 0 | 1+/2+ | 1+ | 5% | 0 | PI |
| DDAB | 2+/2+ | presente | 0 | 2+ | 54-140 | 1+ | 2+/2+ | 1+ | 10% | 0 | PI |
| EVLJ | 1+/1+ | presente | 2+ | 1+ | 15-93 | 0 | 1+/1+ | 1+ | 2% | 0 | PI |
| LASL | 1+/1+ | presente | 3+ | 0 | 24-101 | 0 | 2+/3+ | 2+ | 14% | 0 | PI |
| GBS | 1+/1+ | presente | 1+ | 1+ | 39-116 | 0 | 1+/1+ | 2+ | 2% | 1+ | PI |
| WRB | 1+/1+ | presente | 3+ | 2+ | 41-152 | 1+ | 2+/1+ | 3+ | 2% | 1+ | PI |
| JJM | 2+/2+ | presente | 2+ | 1+ | 48-147 | 1+ | 1+/2+ | 1+ | 12% | 0 | PI |
| WC | 2+/2+ | presente | 1+ | 1+ | 24-119 | 0 | 1+/2+ | 1+ | 9% | 1+ | PI |
| RVA | 1+/1+ | presente | 2+ | 2+ | 29-143 | 0 | 2+/2+ | 3+ | 5% | 0 | PI |
| POS | 1+/1+ | presente | 3+ | 1+ | 23-108 | 0 | 2+/2+ | 2+ | 5% | 1+ | PI |
| RAC | 1+/1+ | presente | 1+ | 1+ | 23-137 | 1+ | 1+/4+ | 3+ | 2% | 0 | PI |
| TMS | 1+/1+ | presente | 2+ | 2+ | 25-113 | 0 | 1+/2+ | 1+ | 5% | 1+ | PI |
| LCS | 2+/2+ | presente | 2+ | 2+ | 56-107 | 0 | 2+/3+ | 3+ | 3% | 0 | PI |
| FSS | 1+/1+ | presente | 2+ | 1+ | 30-103 | 1+ | 1+/4+ | 1+ | 2% | 1+ | PI |

| | |
|---|---|
| ATP | Coloração para ATP ase nos ph 9,4; 4,53 e 4,35 |
| C.NUCLEAR | Centralização nuclear em% |
| ENDO | Tecido conjuntivo endomisial |
| F.HIALINA | Fibra Hialina |
| IF | Imunofluorescência para distrofina |
| INFILTR.GORDUROSO | Infiltrado gorduroso |
| LEGENDAS | ausente 0<br>raras ou moderadas 1+<br>moderadas 2+<br>intensa 3+<br>grave 4+ |
| MOTH EATEN | Fibras moth eaten (em saca-bocados) |
| PERI | Tecido conjuntivo perimisial |
| PI | Predominância das fibras tipo I |
| PROL.MITOC. PROLIF.TEC.CONJUNTIVO | Proliferação mitocondrial; Proliferação do tecido conjuntivo |
| TIPO I | Fibras tipo I |
| VARIAÇÃO CALIBRE | Variação do calibre das fibras |

A biopsia muscular dos pacientes mostrou variado grau de necrose, regeneração, inflamação, proliferação de tecido conjuntivo, infiltrado gorduroso. A segmentação esteve presente em sete casos (36,84%).

A centralização nuclear este presente em todos as biopsias dos pacientes, bem como o predomínio de fibras tipo I. O achado de moth eaten esteve presente em sete biopsias (36,84%).

Todos os fragmentos musculares haviam sido previamente processados com o anticorpo contra a distrofina (anti-camundongo monoclonais), frações C, N e R, (Novocastra), título 1/100, e apresentaram imunoexpressão ausente.

### 3.1.2 Imuno-histoquímica com a α-DG

#### 3.1.2.1 Músculo controle

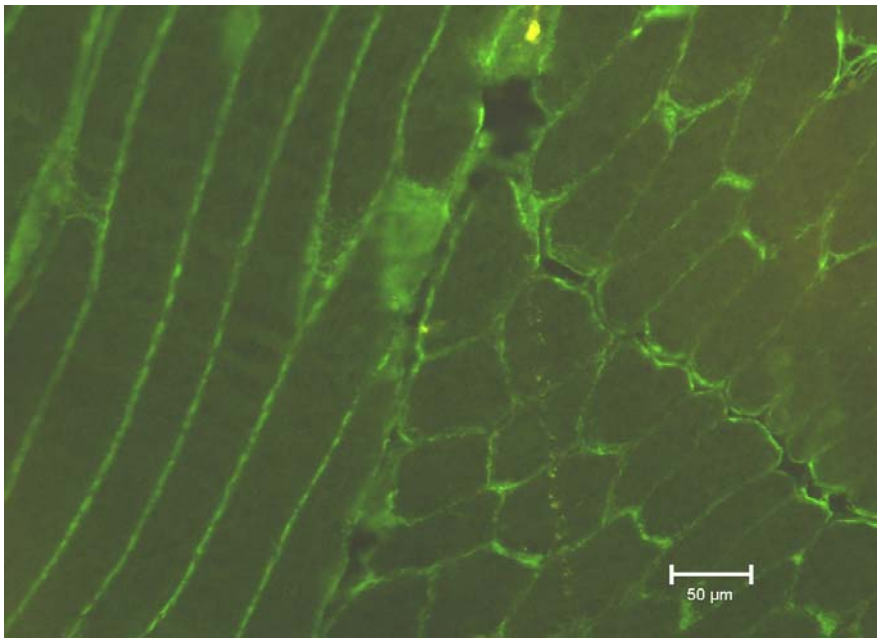



**Figura 01 –** Padrão de imunofluorescência da α-distroglicana (20x) em músculo esquelético normal, corte transversal e longitudinal

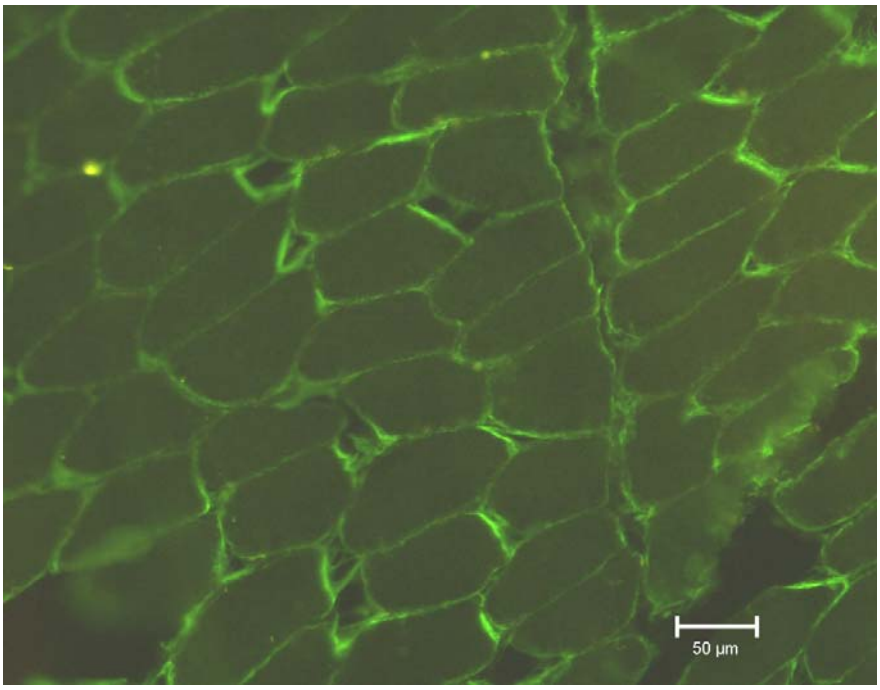



**Figura 02 –** Padrão de imunofluorescência da α-distroglicana (20x) em músculo esquelético de normal, corte transversal.

### 3.1.2.2 Músculo pacientes com DMD

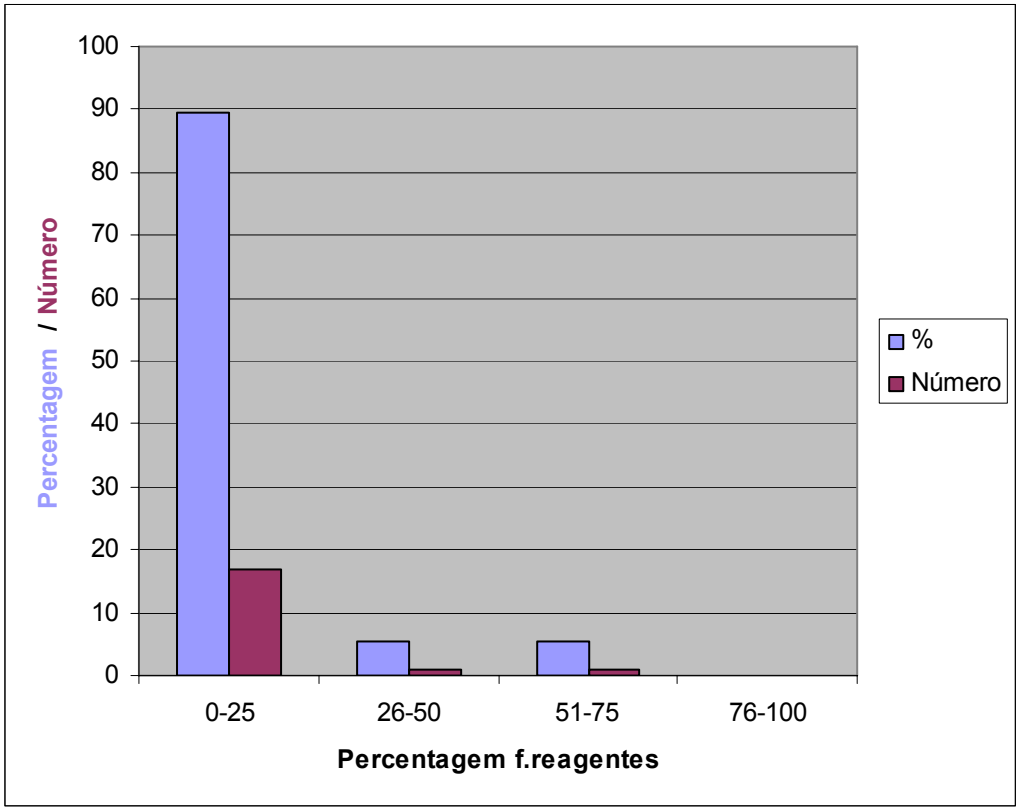
**Tabela 3 –** α-Distroglicana e percentagem de fibras reagentes à imuno-histoquímica

| Pacientes | α-distroglicana% de fibras reagentes |
|---|---|
| FMG | 12,7 |
| MSO | 2 |
| JCB | 12,6 |
| JSM | 7,9 |
| JFBS | 5,7 |
| CAPC | 10,6 |
| DDAB | 43,2 |
| EVLJ | 9,8 |
| LASL | 70,4 |
| GBS | 1 |
| WRB | 17,7 |
| JJM | 14,2 |
| WC | 3,39 |
| RVA | 4 |
| POS | 16,1 |
| RAC | 4,2 |
| TMS | 5,1 |
| LCS | 0 |
| FSS | 1,7 |

**Tabela 4 –** Expressão da α-distroglicana, conforme categorias em percentagem

| α-DG(% de fibras reagentes) | 0-25 | 26-50 | 51-75 | 76-100 |
|---|---|---|---|---|
| Número | 17 | 1 | 1 | 0 |
| % | 89,5 | 5,3 | 5,3 | 0 |

**Gráfico 1 –** Expressão da α-distroglicana, conforme categorias em percentagem




Conforme a **Tabela 3**, foram analisadas as biopsias musculares dos 19 pacientes com DMD à imuno-histoquímica com a reação para a α-DG. Foi feita a contagem de fibras reagentes, em relação ao total de fibras naquele campo. O resultado da média entre 2 a 3 campos de 20x, se expressa por percentagem, conforme exemplificado na metodologia.

Na **tabela 4**, as percentagens de reação foram divididas em categorias de fibras reagentes para a α-DG: de 0 a 25%, 26-50%, 51-75%, 76-100%. Obteve-se que 17 dos pacientes (89%), apresentavam uma imunoreatividade para α-DG, entre 0 e 25%. Apenas 1 paciente (5, 3%) apresentou uma imunoexpressão entre 26-50%, e um paciente com imunoreatividade entre 51-75%. Nenhum paciente apresentou imunoreatividade entre 76 e 100% (**Tabela 4**).

Os dados da **Tabela 4** estão melhores expressos no gráfico, sendo que o histograma azul, representa a percentagem de fibras reagentes, e o histograma vermelho, o número de fibras reagentes (**Gráfico 1**).

**Imunoexpressão da α-distroglicana em pacientes com DMD**

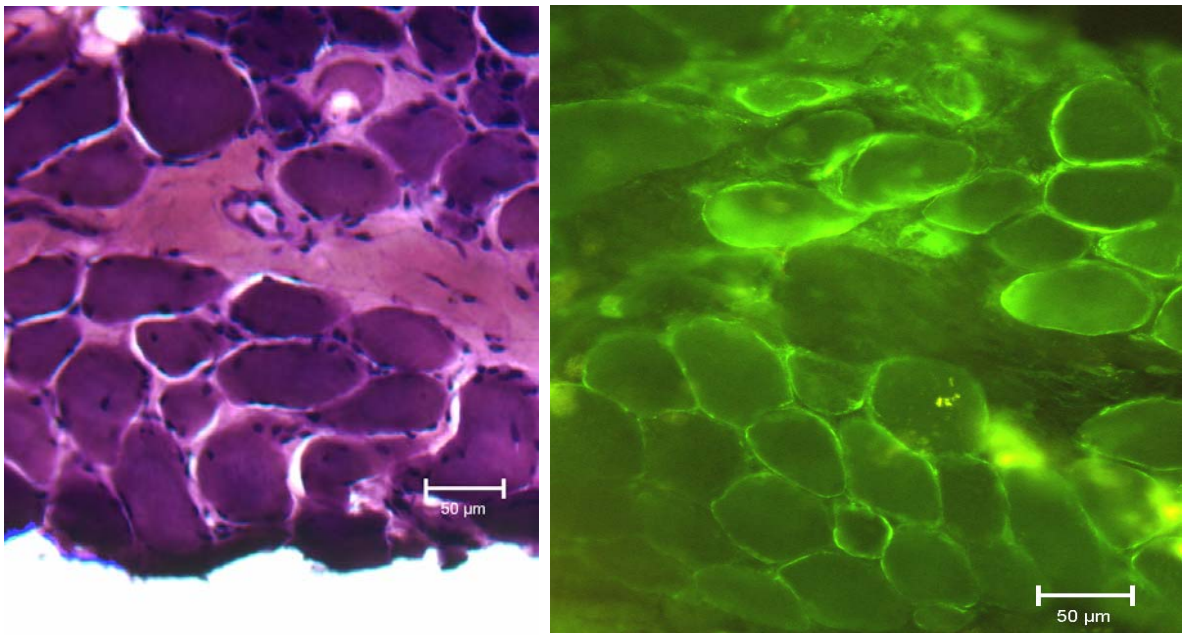



**Figura 03A** – Cortes seriados de músculo esquelético com coloração com Hematoxilina-eosina (HE) e α-distroglicana (α-DG) do paciente LAS: 70, 4% das fibras musculares apresentaram imunoexpressão.

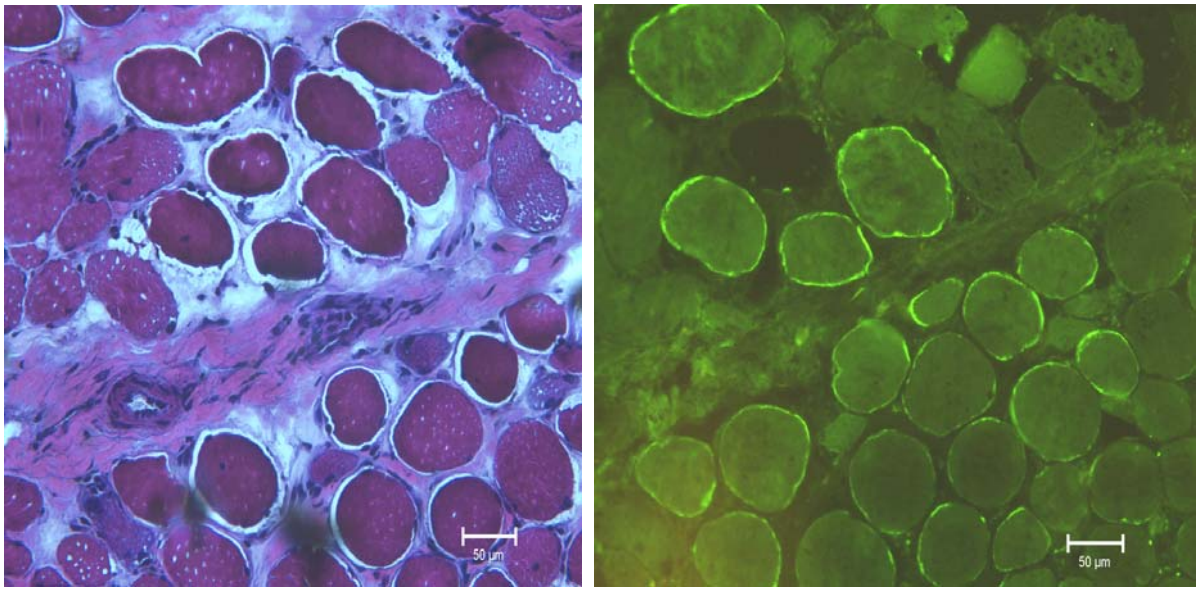



**Figura 03B**. Cortes seriados de músculo esquelético com coloração com HE e α-DG do paciente DDAB: 43, 2% apresentaram imunoexpressão.

**Imunoexpressão da α-distroglicana em pacientes com DMD**

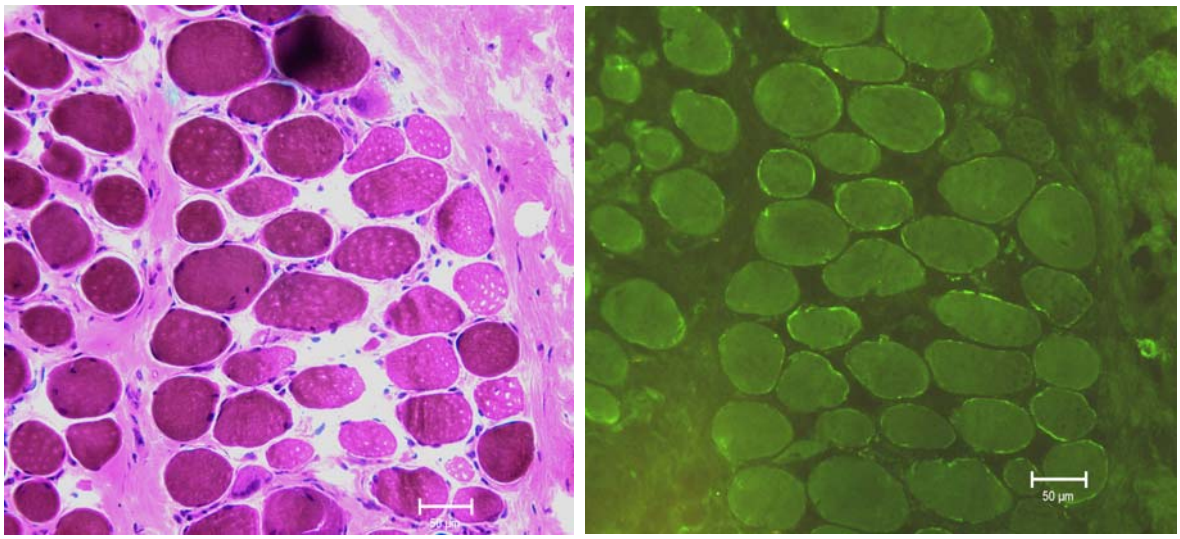



**Figura 4A**. Cortes seriados de músculo esquelético com coloração com hematoxilina-eosina (HE) e α-distroglicana (α-DG) do paciente CAPC: 10, 6% apresentaram imunoexpressão.

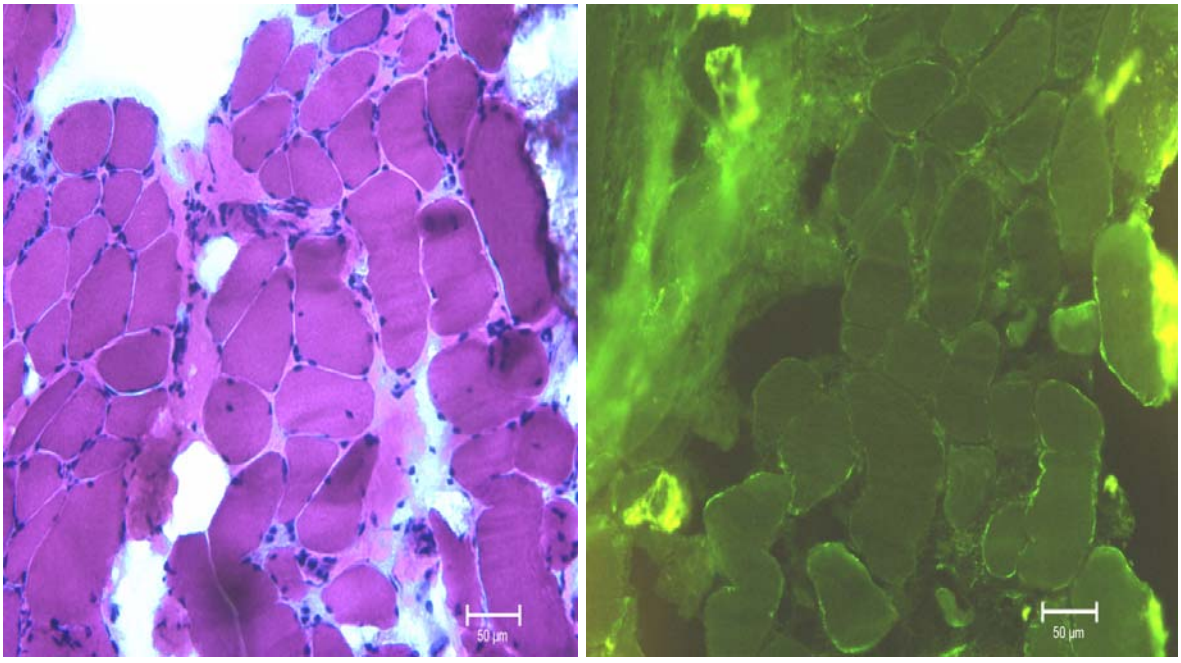



**Figura 4B**. Cortes seriados de músculo esquelético com coloração com HE e α-DG do paciente WRB: 17,7% apresentaram imunoexpressão.

Nas figuras 3 e 4, são mostrados cortes seriados de músculo esquelético de pacientes com DMD, em diferentes padrões de imunomarcação para a α-DG.

### 3.2 Avaliação cognitiva

**Tabela 5 –** Quociente de Inteligência (QI) dos 19 pacientes

| Pacientes | QI TOTAL | QI VERBAL | QI EXECUÇÃO |
|---|---|---|---|
| FMG | 54 | 56 | 60 |
| MSO | 113 | 116 | 106 |
| JCB | 63 | 67 | 64 |
| JSM | 71 | 83 | 63 |
| JFBS | 26 | | |
| CAPC | 84 | 92 | 77 |
| DDAB | 82 | 97 | 85 |
| EVLJ | 85 | 87 | 86 |
| LASL | 90 | 92 | 88 |
| GBS | 63 | 64 | 68 |
| WRB | 68 | 65 | 76 |
| JJM | 68 | 78 | 63 |
| WC | 53 | 57 | 57 |
| RVA | 78 | 75 | 85 |
| POS | 56 | | |
| RAC | 74 | 70 | 83 |
| TMS | 78 | 78 | 81 |
| LCS | 105 | 115 | 95 |
| FSS | 91 | 87 | 98 |

WISC III em todos os pacientes exceto JFBS E POS
STANFORD-BINET nos pacientes JFBS E POS

**Tabela 6 –** Categorias de Inteligência. E QI total

| QI total | 130 e > | 120-129 | 110-119 | 90- 109 | 80- 89 | 70-79 | 69 e < |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Número de pacientes | 0 | 0 | 1 | 3 | 3 | 4 | 8 |
| % de pacientes | 0 | 0 | 5,2 | 15,8 | 15,8 | 21 | 42,1 |

**Gráfico 2 –** Distribuição do QI total conforme as categorias de Inteligência

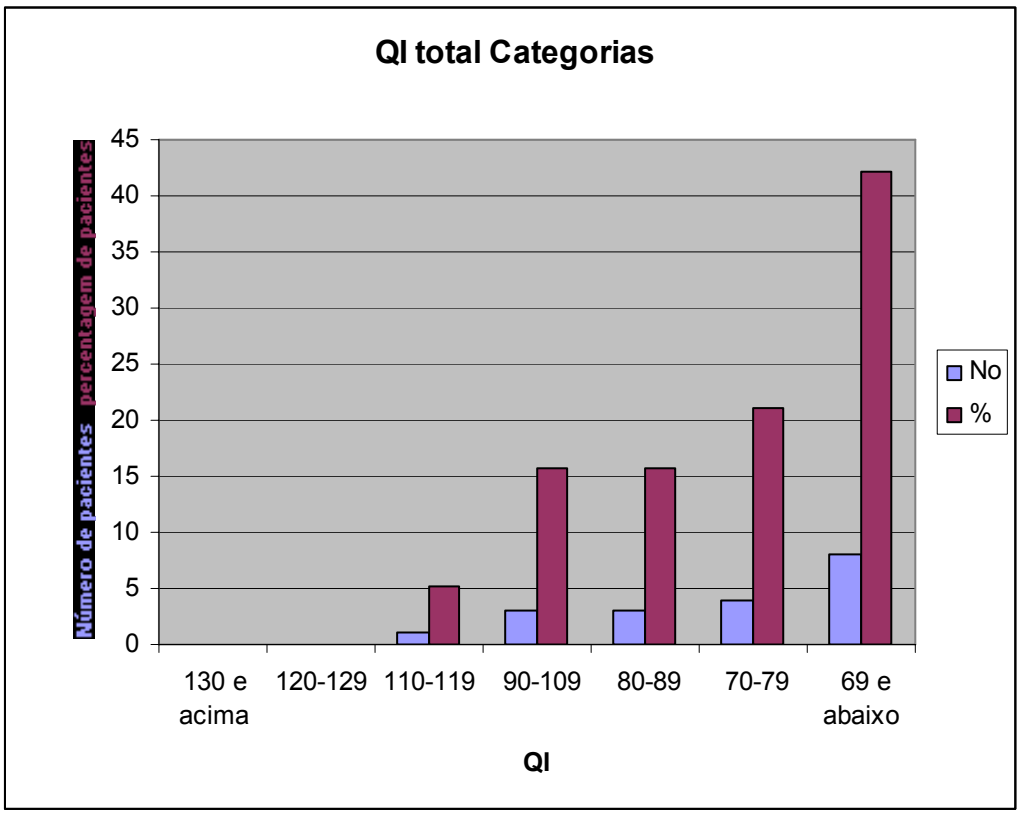


**Tabela 7 –** Categorias de inteligência e QI verbal dos 17 pacientes que realizaram WISC-III

| QI total | 130 e > | 120-129 | 110-119 | 90- 109 | 80- 89 | 70-79 | 69 e < |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Número de pacientes | 0 | 0 | 2 | 3 | 3 | 4 | 5 |
| % de pacientes | 0 | 0 | 11,8 | 17,6 | 17,6 | 23,5 | 29,4 |

**Gráfico 3 –** Distribuição do QI verbal conforme as categorias de Inteligência

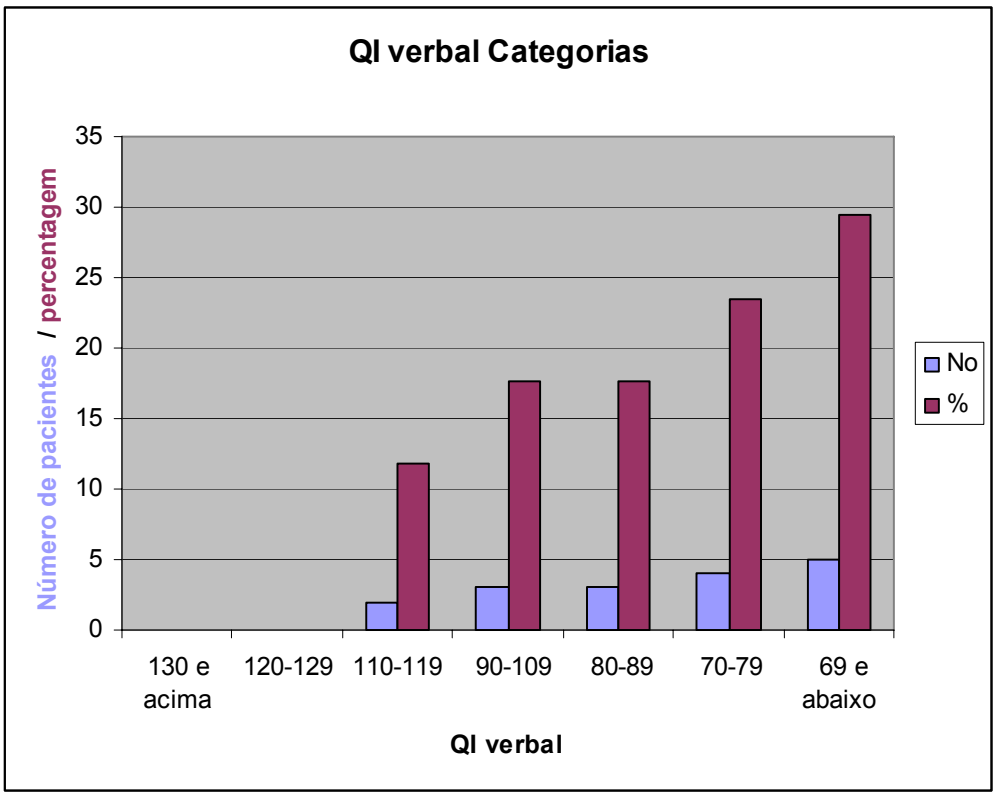
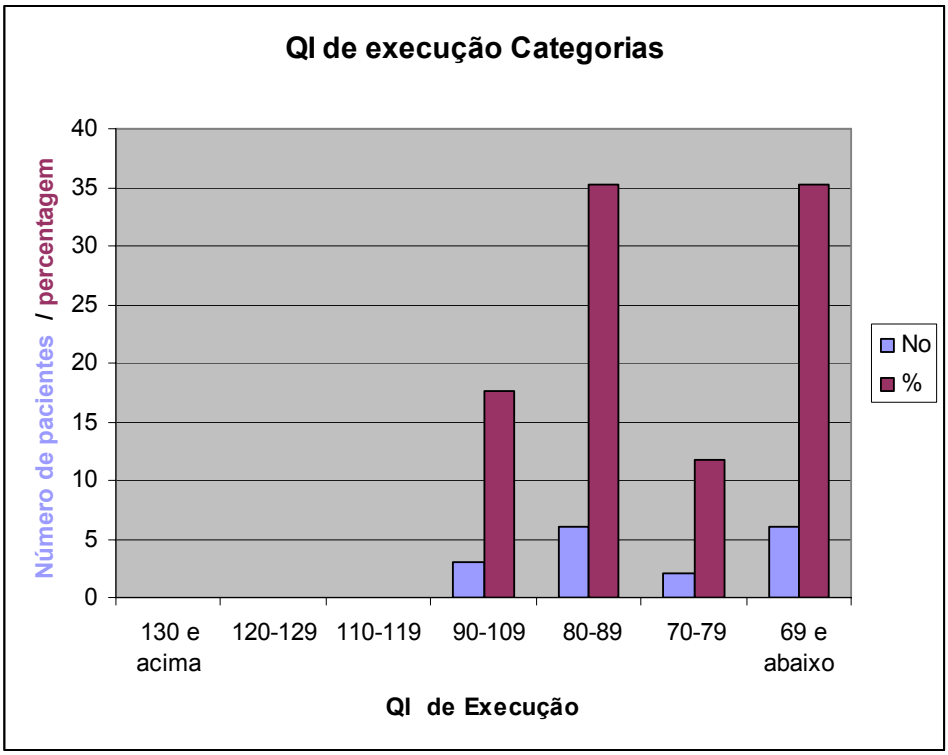


**Tabela 8 –** Categorias de inteligência e QI de execução dos 17 pacientes que realizaram WISC-III

| QI de execução | 130 e > | 120-129 | 110-119 | 90- 109 | 80- 89 | 70-79 | 69 e < |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Número de pacientes | 0 | 0 | 0 | 3 | 6 | 2 | 6 |
| % de pacientes | 0 | 0 | 0 | 17, 6 | 35, 3 | 11, 8 | 35, 3 |

**Gráfico 4 –** Categorias de inteligência e QI de execução dos 17 pacientes que realizaram WISC-III



Conforme demonstrado na **Tabela 5**, 17 pacientes foram avaliados pelo *WISC-III* e dois pacientes (JFBG e POS), através do *STANFORD-BINET.*

Estes pacientes, quando distribuídos conforme as categorias de inteligência, que vai do intelectualmente deficiente ao muito superior a média, apresenta a distribuição em números e percentagem conforme a **Tabela 6**.

Nenhum dos pacientes avaliados apresentou QI maior ou igual a 120, ou seja, muito superior ou superior à média. Um paciente apresentou um QI entre 110 e 119, ou seja, na média superior. Três pacientes apresentaram um QI entre 90 e 109, representando 15,8% do total, estando dentro da média.

Dentro da média inferior, estavam três pacientes, representando 15,8% do total. Na inteligência limítrofe, se encontravam quatro pacientes (21% do total). Dentro do grupo de pacientes intelectualmente deficiente, se encontravam 8 pacientes, representando 42,1% do total.

A representação gráfica, conforme a categoria do QI destes pacientes, é representada pelo **gráfico 2**.

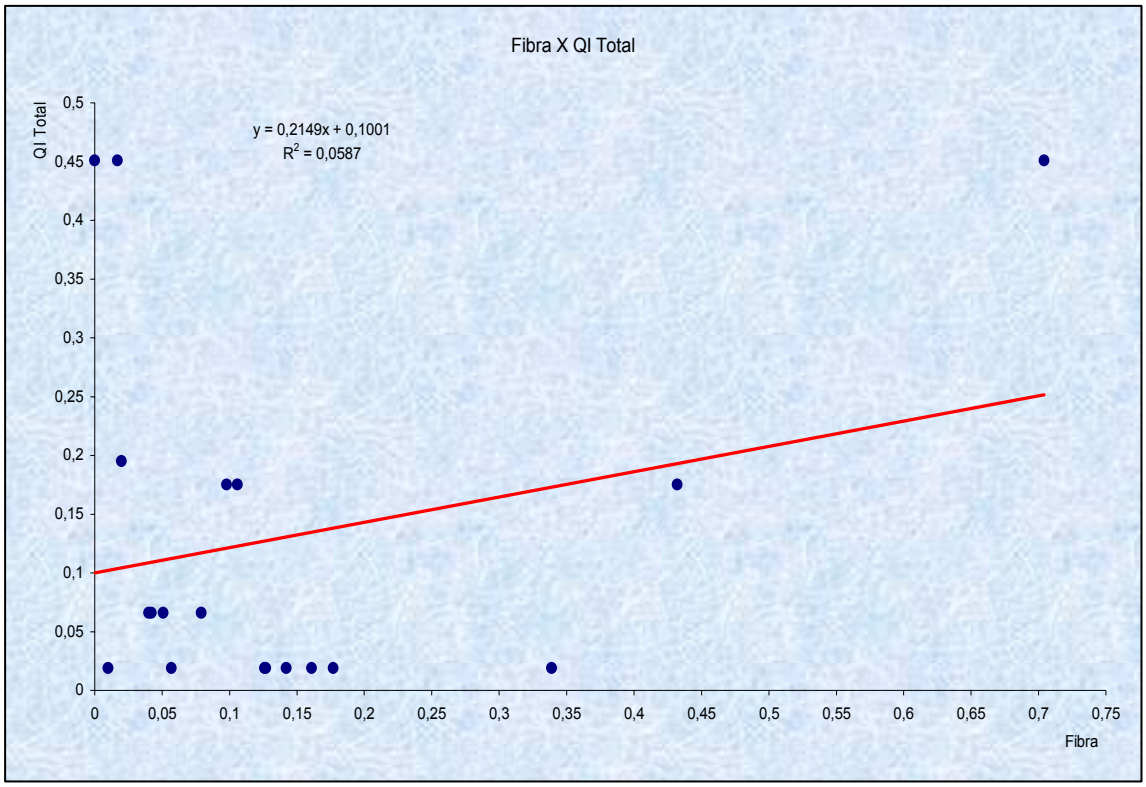
Conforme a **tabela 7**, que divide as diferentes categorias de inteligência, conforme o QI verbal, a grande proporção dos 17 pacientes analisados pelo WISC-III, representando 52,9% do total, apresentaram desempenho abaixo de 80, sendo que destes 29,4% com níveis abaixo de 70, o que implica em categorias limítrofe e intelectualmente deficiente.

Os indivíduos que se encontram na média e média superior, representam 29,4% do total. Estes dados são melhor ilustrados, conforme o **gráfico 3**.

Conforme a **tabela 8**, que divide as diferentes categorias de inteligência, conforme o QI de execução, há uma distribuição mais homogênea entre as categorias, sendo mais comum o desempenho nas categorias de média inferior e intelectualmente deficientes. Há uma boa proporção dos indivíduos dentro da média. Os dados são melhores ilustrados conforme o **gráfico 4**.

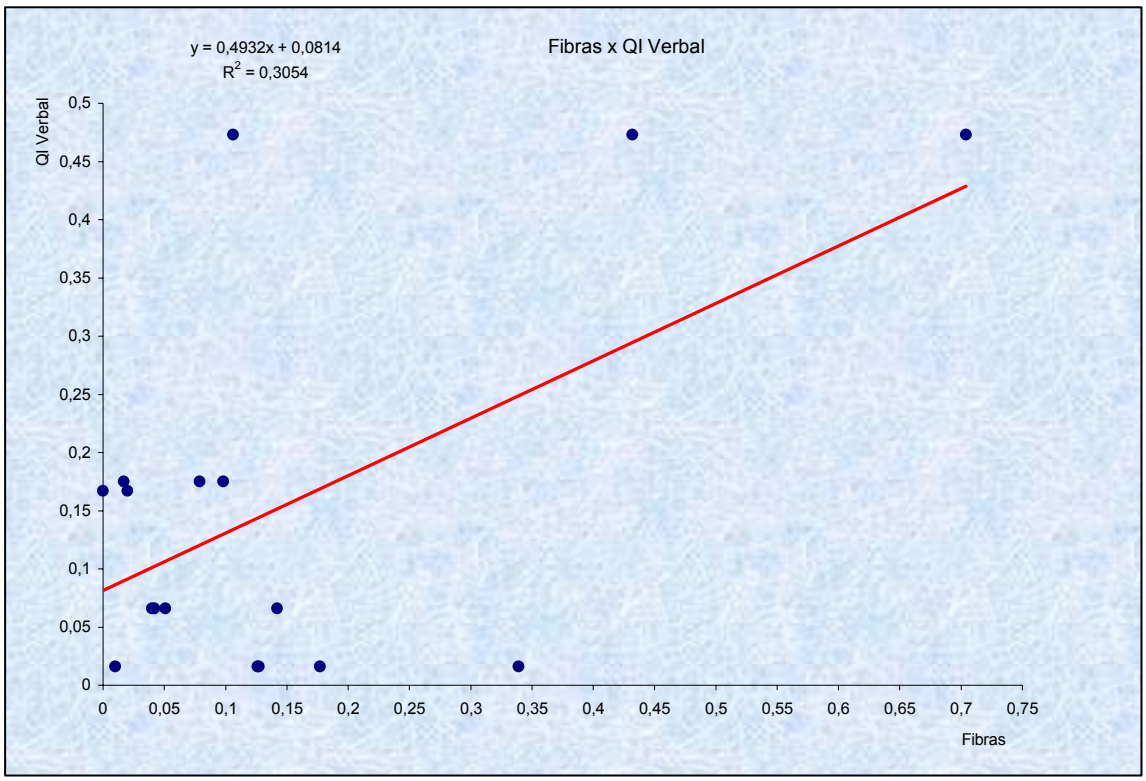
### 3.3 Expressão da α-distroglicana e QI

**Gráfico 4 –** Relação entre a percentagem de fibras musculares reagentes para α-distroglicana e o QI total



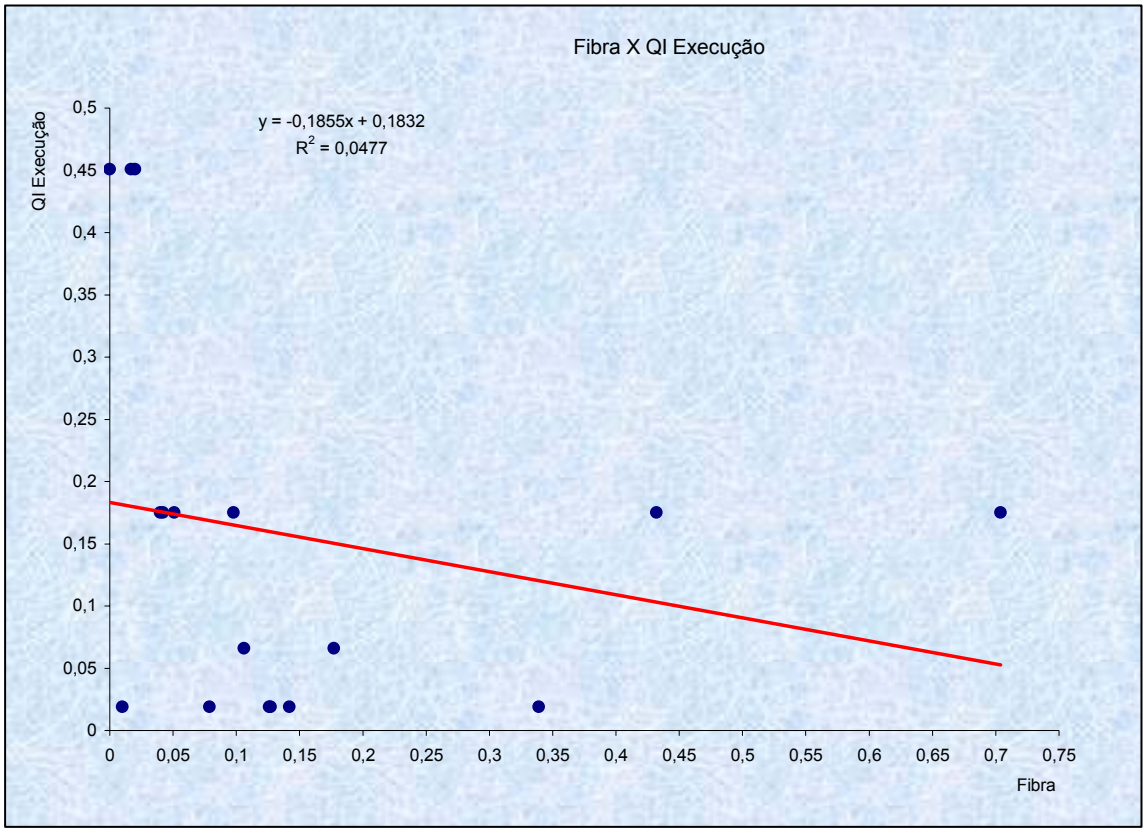

R-Quadrado **0,059**
R- Coeficiente de Correlação **0,242**
P= **0,81613**

**Gráfico 5 –** Relação entre a percentagem de fibras musculares reagentes para α-distroglicana e o QI verbal nos 17 pacientes que realizaram o WISC-III




R-Quadrado **0,30542098**
R- Coeficiente de Correlação **0,55264905**
P= **0,913155**

**Gráfico 6 –** Relação entre a percentagem de fibras musculares reagentes para α-distroglicana e o QI execução nos 17 pacientes que realizaram o WISC-III




R-Quadrado **0,04773439**
R- Coeficiente de Correlação **0,218**
P= **0,890018**

### 3.4 Avaliação estatística

Conforme o **Gráfico 4,** o coeficiente de determinação R-Quadrado, explicado pela variável independente, a percentagem de fibras reagentes para α-DG, mostra que 6% da variação do QI Total pode ser explicada pela percentagem de fibras e 94% por outros fatores.

Não houve diferença estatisticamente significante entre a proporção de fibras reagentes para α-DG e o valor do QI Total.

Conforme o **Gráfico 5,** o coeficiente de determinação R-Quadrado, explicado pela variável independente, a percentagem de fibras reagentes para α-DG, mostra que 30, 6% da variação do QI Verbal pode ser explicada pela percentagem de fibras e 69, 4% por outros fatores. Não houve diferença estatisticamente significante entre a proporção de fibras reagentes para α-DG e o valor do QI Verbal.

Conforme o **Gráfico 6,** o coeficiente de determinação R-Quadrado, explicado pela variável independente, a percentagem de fibras reagentes para α-DG, mostra que 5% da variação do QI Execução pode ser explicada pela percentagem de fibras e 95% por outros fatores.

Não houve diferença estatisticamente significante entre a proporção de fibras reagentes para α-DG e o valor do QI de Execução.

# *4. DISCUSSÃO*

## 4.1 Casuística

Os pacientes avaliados apresentaram quadro clínico compatível com a DMD. O retardo do desenvolvimento neuropsicomotor esteve presente em nove dos 19 casos. Em todos, a hipertrofia de panturrilhas foi um sinal dominante.

Eles apresentaram idade do início dos sintomas que vai de um ano a sete anos. A queixa inicial se caracterizou predominantemente por quedas freqüentes ao solo, dificuldade para correr, se levantar do chão, bem como, para subir escadas. Estes achados em nada diferem da série de 65 pacientes por Dubowitz (1995)**.**

Todos apresentam CK no momento do diagnóstico aumentada de no mínimo 15 vezes o valor normal.

A biopsia muscular destes pacientes foi realizada entre dois anos e um mês a nove anos após a queixa inicial dos sintomas, refletindo a dificuldade para alguns, do acesso ao tratamento e diagnóstico especializado.

Em todas as biopsias musculares o padrão miopático era evidente com centralização nuclear, variação do calibre das fibras, segmentação, predomínio das fibras do tipo I. O caráter distrófico foi evidente com a presença de necrose e regeneração, de rara a moderada, processo inflamatório, infiltrado gorduroso e proliferação conjuntiva endomisial e perimisial. A presença de fibra hialina esteve presente em 18 dos 19 fragmentos avaliados.

Estes achados, incluindo-se a apresentação clínica, CK elevado, e imunofluorescência negativa para distrofina, caracterizam o quadro de distrofia muscular de Duchenne (Dubowitz, 1995).

## 4.2 α-DG

Em nosso amostra de biopsias musculares de pacientes com DMD, obteve-se que 89,5% dos pacientes, apresentaram a imunoexpressão da α-DG entre 0 e 25% do total das fibras musculares. Porém, um indivíduo apresentou uma imunoexpressão de 70,4%, e outro de 43,2% das fibras musculares, achado este não mencionado em literatura.

O nosso achado é comparável aos encontrados em literatura tanto em camundongo mdx, modelo animal para deficiência de distrofina, como em pacientes com DMD.

Em camundongo mdx, ocorreu a diminuição da expressão da α-DG em musculatura esquelética, cuja redução em imunoblot, ficou em torno de 80 a 90% (Ohlendieck, Campbell, 1991; Culligan et al, 1996) ou quase ausente (Ervasti et al, 1990).

Em pacientes com DMD, a expressão do complexo distroglicana (α e β), esteve praticamente ausente para alguns (Montanaro, Carbonetto, 2003), e drasticamente reduzida para outros (Ohlendieck et al, 1993; Cullen et al, 1996).

Em análise de biopsias de 17 pacientes com DMD, à imuno-histoquímica, obteve-se uma intensa redução de todos os componentes do CPAD, incluindo a α-DG, em todos os pacientes, não havendo relação com a intensidade de degeneração das fibras musculares (Ohlendieck et al, 1993).

Interessantemente, que apesar dos achados em literatura da diminuição da α-DG em pacientes com DMD e camundongos mdx, o que observamos em alguns pacientes, é que, independente da intensa inflamação, e proliferação endomisial, houve uma expressão da α-DG em níveis de 79,4% e 43,2% das fibras musculares, não se correlacionando portanto com o grau de degeneração muscular.

Convém ressaltar o fato de que foi usado o anticorpo IIH6, que reconhece um epitopo glicosilado. A DMD não é causada por defeitos de glicosiltransferases, e a anormalidade de nosso achado pode ser interpretada como apenas um processo de redução secundária. Seria porém, de grande interesse prosseguir esta investigação, com o estudo imuno-histoquímico, com o uso de anticorpos centrais (*core*) da α-DG, o que permitiria o melhor entendimento deste estudo.

Em análise da musculatura esquelética de pacientes com miopatia por corpúsculo de inclusão, através do uso de anticorpos como o IIH6 e VIA4, que reconhecem a porção glicosilada da α-DG, foi avaliada também a porção central desta proteína, sendo que foi detectada uma baixa expressão do IIH6 e VIA4, com níveis normais da porção central (Huizing et al, 2004).

Deleções nas regiões distais do gene, incluindo a região entre o exon 45 a 54, favorecem a incidência do retardo mental (Felisari et al, 2000; Mehler, 2000; D'Angelo, Bresolin, 2003). Deleções e duplicações que impedem a ligação da distrofina à distroglicana ou impedem a expressão de isoformas específicas (Dp71, Dp140, Dp116), favorecem a ocorrência do déficit mental (Mehler, 2000).

Isto nos leva a conjecturar sobre a imunoexpressão variável presente em nossos pacientes, e especular se o local da mutação da distrofina, favoreceria a incidência de retardo mental nestes pacientes, por determinar a dificuldade da ligação da distrofina a distroglicana.

## 4.3 Avaliação cognitiva

### 4.3.1 QI total

Os 19 pacientes avaliados foram submetidos à bateria de testes presentes no WISC-III, teste validado para amostra de brasileiros (Figueiredo, 2001). Dentro deste grupo de 19 pacientes, dois foram impossibilitados de serem avaliados pelo WISC-III, o qual engloba a faixa entre os 6 e 16 anos de idade. Eles apresentaram intenso comprometimento cognitivo, e, apenas através do Stanford-Binet, que avalia a cognição pela idade, poder-se-ia obter uma avaliação de QI.

Considerando-se o QI total dos pacientes nesta amostra, não se obteve nenhum paciente com uma QI superior e muito superior à média. A maior parte dos pacientes apresentou um QI menor do que 69, isto é, se encontrando no grupo dos intelectualmente deficientes. Apenas 5,2% dos indivíduos se encontram no grupo de inteligência médio superior.

O déficit cognitivo de nossos pacientes não teve qualquer relação com a intensidade de comprometimento motor, se observarmos a percentagem de MRC ou HM, e o valor do QI. Tivemos pacientes com a percentagem de MRC de 81,8 e HM de 7 e valores do QI de 113. Por outro lado, tivemos pacientes com percentagem de MRC de 91,22 e HM de 30, e QI de 74.

A associação entre deficiência mental e DMD tem sido longamente reconhecida. A relação do QI com a idade, duração ou gravidade do quadro, não se mostrou como fator de interferência no desempenho cognitivo (Worden, Vignos, 1962; Zellweger, Hanson, 1968; Prosser et al, 1969).

A proporção de déficit cognitivo dos pacientes com DMD é de 20-30% dos pacientes (Blake, Kroger, 2000). Rae e col., 1998 encontraram uma proporção de 19%, dos pacientes com DMD com QI abaixo de 70.

Após estudo comparativo entre de uma série de meninos com DMD e com atrofia muscular espinhal, obteve-se que os fatores como os de privação ambiental, reação psicossocial presentes em ambas as doenças de característica crônica, evolução fatal e de comprometimento motor grave, foram fatores independentes no desempenho cognitivo, cuja performance foi pior no grupo dos pacientes com DMD (Rae et al, 1998).

O achado de nosso grupo de pacientes, se comparado à literatura, reflete uma alta proporção de meninos (42,1%) com DMD e com QI abaixo da média. Apesar de Rae e col. (1998) não considerar o fator ambiental como interferindo no desempenho do QI, observamos em nosso grupo uma grande dificuldade de acesso à escola para muitos dos pacientes, dificultando muitas vezes a melhora de seu desempenho a longo prazo.

Em série de 30 pacientes com DMD, 10 apresentaram QI menor do que 75, não havendo qualquer relação com a idade ou gravidade do quadro. A curva do QI mostra uma distribuição normal, porém com um desvio para a esquerda (Yoshioka et al, 1980).

Conforme a meta-análise de 32 estudos com o número total de 1231 indivíduos com DMD, com idade média de 12,2 anos, o escore limite para deficiência mental foi de 70, para alguns, e 80 para outros. O número de indivíduos por estudo esteve entre 1 a 197, e as publicações datam de 1961 a 1999. A média do QI menor de 70 foi de 80,2, estando a sua percentagem em 34,8% (Cotton et al, 2001).

Estes artigos, porém, apresentam uma variedade grande de instrumentos de avaliação, que vai desde o WISC, Stanford Binet, a outros métodos. Este achado pode refletir também na variação de QI, entre os diferentes grupos avaliados (Cotton et al, 2001).

Entretanto, em uma série de 20 pacientes por Wicksell e col., 2004, através do uso do teste *Raven* de matriz colorida progressiva, como método de avaliação da habilidade intelectual, não houve diferença significativa entre os pacientes com DMD e os indivíduos normais. Foi, porém detectada dificuldade na memória de curto prazo, o que repercutiria a longo prazo no desenvolvimento intelectual (Wicksell et al, 2004).

### 4.3.2 QI verbal

Em nossa série de 17 pacientes avaliados pelo WISC-III, 52,9% apresentaram um QI verbal menor do que a faixa média de inteligência, sendo que destes 29,4% um QI abaixo de 70. A proporção de pacientes dentre da faixa média de inteligência, isto é, entre a média inferior e a média superior, foi de 47%.

A nossa série de pacientes apresentou uma boa proporção de pacientes com QI verbal baixo, o que não é diferente dos achados de literatura como da série de 53 pacientes com DMD (Karagan, Zellweger, 1978).

O pobre desempenho no teste de QI destas crianças tem sido atribuído primariamente à linguagem verbal (Blake, Kroger, 2000). Entretanto, outros relatos mostraram uma melhor performance do QI verbal e uma diminuição do QI com a idade (Anderson et al, 2002). Déficits na memória, leitura, matemática e escrita têm sido associados também em crianças com DMD (Felisari et al, 2000).

Em série de 41 pacientes, comparados com seus irmãos normais, foi realizada uma bateria de teste neuropsicológicos para testagem dos desempenhos: verbal, viso-espacial, atenção e memória, pensamento abstrato, aquisição acadêmica. O desempenho cognitivo específico em atenção e memória se mostrou pobre nos pacientes com DMD. Os pacientes mostraram ter mais dificuldade do que seus irmãos em manter uma informação fonológica, assim sendo, haveria um maior risco de desenvolverem um déficit na memória verbal (Hinton et al, 2001).

Apesar da referência de alguns autores sugerindo que o déficit cognitivo em pacientes com DMD seja global, outros consideram um acometimento mais específico, como o déficit verbal, o mais acometido, considerando observações de que algumas crianças adquiram a linguagem mais tardiamente, alterações de nomeação, fluência verbal, leitura, produção fonológica ou grafo-fonológica, expressão da linguagem e aprendizado verbal (Cotton et al, 2001).

Alguns autores sugerem um déficit de linguagem similar às crianças com dislexia, mais do que propriamente um déficit cognitivo (Cotton et al, 2001).

O padrão de maior déficit nas tarefas auditivas e lingüísticas em relação às tarefas visuo-espaciais tem sido identificado como uma padrão comum aos disléxicos, o que vem sendo encontrado em alguns casos de DMD (Dorman et al, 1988). Estas crianças não só demonstraram dificuldades em análise fonológica como também na percepção visual das palavras (Dorman et al, 1988; Billard et al, 1998).

### 4.3.3 QI de execução

Em nossa amostra de 17 pacientes avaliados pelo WISC-III, 47,1% apresentaram QI menor do que 80, isto é, na categoria limítrofe e de intelectualmente deficiente. O QI esteve dentro da categoria média e média inferior de inteligência, em 52,9% dos pacientes.

A média do QI de execução foi de 84,5, obtida a partir da meta-análise, em 878 crianças, em diferentes artigos. Poucos estudos consideraram que grande parte dos sub-testes de execução depende da coordenação motora, o que influenciaria na execução destes testes, pelo grave comprometimento motor (Cotton et al, 2001).

Considerando o envolvimento motor como variável no nosso grupo, conforme os dados da tabela referente à casuística, na qual constam a percentagem de MRC (Anexo III) e a habilidade motora (HM) (Anexo IV) observamos que há uma diversidade de grau de acometimento entre os indivíduos do grupo, o que poderia refletir no desempenho motor durante a prova. Em nossa amostra há indivíduos com uma percentagem de MRC de 34,37% para um total de 100%, até aquele com 98,7% de força muscular, sendo que três já perderam a marcha.

## 4.4 α-DG e Avaliação cognitiva

### 4.4.1 QI total

Não houve uma relação estatisticamente significante entre a percentagem de fibras reagentes para α-DG e o valor do QI total destes pacientes. Isto pode ser explicado pelo pequeno número de pacientes nesta amostra analisada, ou mesmo se considerarmos que a α-DG não seria o único fator responsável pelo desempenho cognitivo.

Apesar de termos 2 crianças (DDAB e LASL) com QI total na faixa média de inteligência, e expressão da α-DG de 43,2% e 70,4% das fibras musculares, respectivamente, o que implicaria em uma relação do QI com a expressão da α-DG, temos três pacientes (MSO, LCS, FSS), com QI dentro da faixa média porém com expressão da α-DG abaixo de 25% das fibras musculares.

Considerando que a α-DG se localiza nos neurônios com a mesma distribuição da distrofina (Blake, Kroger, 2000), que são: nos neurônios da células piramidais, do córtex cerebral, das células de Purkinje do cerebelo e das regiões CA1-CA3 do hipocampo (□ia net al, 1997, Zaccaria et al, 2001ª); além de outros locais, como os processos astrocitários na substância branca cerebral e nos neurônios sensoriais e motoneurônios nas colunas ventrais e dorsais (Moukhles, Carbonetto, 2001), nós poderíamos especular sobre o seu papel no SNC, e, conseqüentemente no desempenho cognitivo.

Indivíduos com DMD apresentam uma perda ou diminuição dos componentes do CPAD, incluindo a α-DG. Esta diminuição afetaria a organização sináptica dos receptores de acetil-colina, em áreas envolvidas no aprendizado e memória (Zaccaria et al, 1998; Zaccaria et al, 2000), o que explicaria em parte o déficit cognitivo encontrado nestes pacientes. Através de estudos em gânglio cervical superior de camundongo, foi demonstrada a localização da α-DG e a distrofina, na região pós-sináptica, e o envolvimento com a estabilização dos receptores de acetil-colina (Zaccaria et al, 1998; Zaccaria et al, 2000).

Estudos recentes já demonstraram que a distrofina, em suas mutações distais, tem tido uma relação significante com o retardo mental nos pacientes com DMD (Mehler, 2000)

As duas isoformas de distrofina, Dp71 e Dp140, cujas mutações estariam na parte distal do gene, apresentam ampla distribuição cerebral, e, sua ausência se mostrou como relacionada ao déficit mental destes pacientes (Moizard et al 1997; Bardoni et al, 2000, Felisari et al, 2000).

Apesar de haver uma relação positiva entre estas mutações e o déficit cognitivo dos pacientes com DMD, não se sabe ainda a função destas isoformas no SNC. Pelo fato de serem isoformas da distrofina, distais, isto é, serem uma porção envolvida na ligação da distrofina com o CPAD (Felisari et al, 2000), poderíamos especular sobre o papel da sua ausência, na expressão da α-DG, e, assim sendo, o papel no baixo desempenho cognitivo destes pacientes.

O objetivo de relacionar o QI com a expressão da α-DG, foi o de ilustrar esta delicada relação, que, em parte poderia explicar o mecanismo de déficit cognitivo destes pacientes. Apesar de ser uma amostra pequena, considero relevante este estudo com a finalidade de pensarmos sobre outros mecanismos que envolvam a cognição nestas crianças.

Considero, também, não ser apenas um elemento que esteja envolvido no desempenho cognitivo destas crianças, fazendo parte dele, a distrofina, a α-DG, e o CPAD, além do meio ambiente, com todos os fatores psicossociais envolvidos.

À medida que desvendamos todos os elementos presentes na musculatura esquelética e SNC, e sua relação, damos um passo à frente para entender os mecanismos envolvidos no aprendizado, memória, e tudo que envolva a cognição.

### 4.4.2 QI verbal

Nos 17 pacientes avaliados pelo WISC-III, sendo possível avaliar o QI verbal, não se obteve uma relação estatisticamente significante entre o QI verbal e a expressão da α-DG. Isto poderia ser explicado pelo pequeno número de indivíduos na amostra e outros fatores envolvidos.

Já foi amplamente discutida a presença da deficiência no QI verbal dos pacientes com DMD. Em nossa amostra 52,9% dos pacientes avaliados pelo WISC-III, apresentaram um QI verbal menor do que a faixa média de inteligência.

Apesar de, em nossa casuística, não termos obtido uma relação estatisticamente significante entre a α-DG e o QI verbal, ainda podemos conjecturar sobre o seu papel, mesmo que em pequena parcela, no desempenho cognitivo verbal. A ausência da α-DG poderia ter uma possível relação com a dislexia. Ao sabermos que um dos locais envolvidos na expressão da α-DG em SNC é o cerebelo, nas células de Purkinje (Zaccaria et al, 2001ª), podemos especular sobre a relação do déficit verbal nos pacientes com a DMD e a dislexia, visto que na dislexia o cerebelo é um dos locais de maior alteração estrutural (Eckert et al, 2003) e um dos locais de expressão da α-DG (□ia net al, 1997; Zaccaria et al, 2001).

O comprometimento verbal, ou seja, de linguagem, não é só atribuído às regiões corticais, como também às regiões subcorticais. O cerebelo está ligado às estruturas pré-frontais, córtex motor e gânglios da base. Vários estudos têm propostos papéis lingüísticos e cognitivos ao cerebelo (Lieberman, 2002).

Há evidência anatômica e comportamental de que o cerebelo contribui não apenas para a função motora, como também para os aspectos de comportamento sensorial, cognitivo, lingüístico e emocional. As conexões cerebelares com o córtex cerebral enviam sinais para áreas da linguagem como a área de Broca, no córtex pré-frontal, contribuindo enormemente para o aprendizado e a linguagem. O cerebelo contribui não só com os mecanismos motores de produção da fala, como também do processamento da cognição. Com o uso de técnicas avançadas de imagem, o cerebelo lateral revelou estar extremamente ativado durante atividades mentais, incluindo o processamento da linguagem (Leiner et al, 1991).

### 4.4.3 QI de execução

Não houve relação estatisticamente significante entre a percentagem de fibras reagentes para α-DG e o QI de execução. Isto significa que uma alta percentagem de fibras reagentes para α-DG não explica o desempenho no QI de execução.

Pouco se pode atribuir a α-DG, no desempenho do QI, em nossa casuística. Porém, podemos considerar que três de nossos pacientes já perderam a marcha, o que poderia repercutir no desempenho dos testes de QI execução, obtivemos que dois deles apresentaram o QI de execução menor do que 70. Outros três pacientes (GBS, JJM, WC), apresentaram também um QI de execução menor do que 70, porém uma percentagem de MRC entre 87,5 e 90%.

Parece que o QI de execução possa estar relacionado à capacidade do indivíduo em trabalhar rapidamente, apresentar respostas motoras pertinentes, entre outras (Groth-Marnat, 1999), o que não dependeria tanto da expressão da α-DG no SNC. Já o QI verbal, estaria mais diretamente ligado à expressão da α-DG, que se localiza em centros relacionados à linguagem, entre eles o cerebelo (Lieberman, 2002).

### 4.4.4 Evidências da relação entre expressão da α-DG e QI

No total das 19 crianças avaliadas, duas apresentaram o QI dentro da faixa média de inteligência e a imunoexpressão da α-DG maior de 40% das fibras musculares. Este achado pode sugerir o papel da α-DG no processo cognitivo destas crianças.

# *5. CONCLUSÕES*

O presente estudo permite concluir o que se segue:

- Comprometimento no QI é uma característica marcante nos pacientes com DMD.
- Imunoexpressão da α-distroglicana (α-DG) esteve diminuída na maioria dos pacientes com DMD.
- Não foi demonstrada uma relação estatisticamente significante entre a imunoexpressão da α-DG e o QI total, verbal e de execução
- A imunoexpressão da α-DG presente em 70,4% das fibras musculares em um paciente e 43,2% em outro, com QI dentro da média de inteligência, sugere a importância da α-DG para o processo do desempenho cognitivo.

# *6. ANEXOS*

## Anexo I

### UNIFESP - Universidade Federal de São Paulo - EPM

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Carta de Informação sobre avaliação cognitiva

A distrofia muscular Duchenne é uma doença que compromete primariamente a parte motora da criança. Em algumas crianças porém, observamos problemas de aprendizado, referidos pelos pais e pela escola.

Com a finalidade de entender melhor esta doença, faremos o teste de inteligência chamado WISC III. Esta avaliação será realizada pela psicóloga, membro da Equipe de Neuromuscular, da Escola Paulista de Medicina-UNIFESP, devidamente treinada para a sua realização.

Estas informações estão sendo fornecidas para a sua participação voluntária nesta avaliação. Se os senhores pais concordarem, seu(ua) filho(a) irá realizar este teste. A partir do resultado do teste, nós profissionais, médicos e psicólogos, poderemos ter uma idéia de qual é a dificuldade de seu filho, e, assim poderemos ajudá-lo a se adaptar melhor na escola, melhorando o seu aprendizado e integração social.

**O Teste**

O teste WISC III mede a capacidade de inteligência da criança.

Consiste de 13 subtestes, através de perguntas que avaliarão a capacidade da criança, por meio de suas respostas que deverão ser escritas no papel. A duração do teste é de aproximadamente 1 hora, com o paciente sentado em posição confortável.

A partir destas respostas, a psicóloga dará notas, levando à conclusão sobre o desempenho da inteligência da criança, e concluindo qual é a sua maior dificuldade.

O paciente tem garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Dra Conceição Campanário da Silva Pereira pode ser encontrada no endereço R.Pedro de Toledo, 377, Telefone(s) 5571-3324. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Botucatu, 572 – 1º andar – cj 14, 5571-1062, FAX: 5539-7162 – E-mail: HTcepunifesp@epm.brTH

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição. As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.

O paciente/responsável tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Há o compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Eu (responsável pela criança), _____ concordo voluntariamente com a realização da avaliação de inteligência em meu filho(a).

Declaro que os detalhes desse teste foram devidamente esclarecidos e minhas dúvidas respondidas satisfatoriamente.

_____

(Nome e assinatura do paciente/responsável legal)

Declaro que expliquei pessoalmente este termo de consentimento livre e esclarecido, informando, respondendo e esclarecendo as dúvidas apresentadas.

_____

Assinatura do responsável pelo estudo

_____

Assinatura da psicóloga

São Paulo, __/__/__

## Anexo II

### Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIFESP
PAULISTA

Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

São Paulo, 21 de março de 2003
CEP Nº **1103/02**

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a): CONCEIÇÃO CAMPANARIO DA SILVA PEREIRA
Disciplina/Departamento: Neuromuscular/Neurologia e Neurocirurgia
Ref.: Projeto de Pesquisa
Distrofia muscular Duchenne: Imunoexpressão da alfa-distroglicana em musculatura esquelética e associação com performance cognitiva

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto acima.

Conforme resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde são deveres do pesquisador:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.
4. Apresentar primeiro relatório parcial em **17/09/03**

Atenciosamente,

**Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana**
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

## Anexo III

### TABELA DE FORÇA MUSCULAR

| **Pacientes** | |
|---|---|
| **Pescoço** | |
| Flexores | |
| Extensores | |
| **Ombros** | |
| Abdutores | |
| Adutores | |
| Flexores | |
| Extensores | |
| **Cotovelos** | |
| Flexores | |
| Extensores | |
| **Tronco** | |
| Flexores | |
| Extensores | |
| **Quadril** | |
| Flexores | |
| Extensores | |
| Abdutores | |
| Adutores | |
| **Joelho** | |
| Flexores | |
| Extensores | |
| **Tornozelo** | |
| Flexores | |
| Extensores | |
| | **D** **E** |

%MRC= Soma dos Scores (0-5)x 100 (até o máximo de 100%)
Número de músculos examinados(32)x 5
MRC= *Medical Research Council* método utilizado para a testagem de músculos do pescoço, tronco, membros superiores e inferiores (SCOTT et al, 1982)

## Anexo IV

### TABELA DE HABILIDADE MOTORA

| Pacientes | |
|---|---|
| | |
| Levanta a cabeça | |
| Supina para prona pela direita | |
| Supina para prona pela esquerda | |
| Prona para supina pela direita | |
| Prona para supina pela esquerda | |
| Consegue sentar | |
| Senta | |
| Consegue ficar em pé | |
| Fica em pé | |
| Fica em pé sobre os calcanhares | |
| Fica em pé sobre ponta dos pés | |
| Fica em pé sobre a perna direita | |
| Fica em pé sobre a perna esquerda. | |
| Pula sobre a perna direita | |
| Pula sobre a perna esquerda | |
| Sai da cadeira | |
| Pula degrau pela perna direita | |
| Desce degrau pela perna direita | |
| Pula degrau pela perna esquerda | |
| Desce degrau pela perna esquerda | |

Score HM= Score de Habilidade Motora (até um máximo de 40)
SCOTT et al, 1982
2 PARA TODO MOVIMENTO COMPLETO
1 PARA TODO MOVIMENTO COM AJUDA
0 SE INCAPAZ DE ADQUIRIR MOVIMENTO

# *7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

Abbs S, Bobrow M. Analysis of quantitative PCR for the diagnosis of deletion and duplication carriers in the dystrophin gene. J Med Genet 1992;29(3): 191-6.

Anastasi A, Urbina S. Testagem psicológica. 7ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 2000.

Anderson JL, Head SI, Rae C, Morley JW. Brain function in Duchenne muscular dystrophy. Brain 2002;125(1):4-13.

Arahata K, Ishiura S, Ishiguro T. Immunostaining of skeletal and cardiac muscle surface membrane with antibody against Duchenne muscular dystrophy peptide. Nature. 1988;333(6176): 861-3.

Bakker E, Hofker MH, Goor N, Mandel JL, Wrogemann K, Davies KE et al. Prenatal diagnosis and carrier detection of Duchenne muscular dystrophy with closely linked RFLPs. Lancet. 1985;(8430): 655-8.

Bardoni A, Felisari G, Sironi M, Comi G, Lai M, Robotti M, Bresolin N. Loss of Dp140 regulatory sequences is associated with cognitive impairment in dystrophinopathies. Neuromuscul Disord. 2000;10(3):194-9.

Beggs AH, Koenig M, Boyce FM, Kunkel LM. Detection of 98% of DMD/BMD gene deletions by polymerase chain reaction. Hum Genet. 1990;86(1):45-8

Billard C, Gillet P, Barthez M, Hommet C, Bertrand P. Reading ability and processing in Duchenne muscular dystrophy and Spinal muscular atrophy. Dev Med Child Neurol. 1998;40(1):12-20.

Blake DJ, Hawkes R, Benson MA, Beesley PW. Different dystrophin-like Complexes are expressed in neurons and glia. J Cell Biol. 1999;147(3):645-58.

Blake DJ, Kroger S. The Neurobiology of Duchenne muscular dystrophy: learning lessons from muscle? Trends in neuroscience. Trends Neur 2000;23(3):92-9.

Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE, Nguyen PN, Caskey CT. Deletion screening of the Duchenne muscular Dystrophy locus via multiplex DNA amplification. Nucleic Acids Res 1988;16(23):11141-56.

Cohn RD, Henry MD, Michele DE, Barresi R, Saito F, Moore SA et al. Disruption of Dag 1 in differentiated skeletal muscle reveals a role for dystroglycan in muscle regeneration. Cell 2002;110(5):639-48.

Cotton S, Voudoouris NJ, Greenwood KM. Intelligence and Duchenne muscular dystrophy: Full-scale, verbal, and Performance intelligence quotients. Dev Med Child Neurol 2001;43(7):497-501.

Cullen MJ, Walsh J, Roberds SL, Campbell KP. Ultrastructural localization of adhalin, alpha-dystroglycan and merosin in normal and dystrophic muscle. Neuropathol Appl Neurobiol 1996;22(1):30-7.

Culligan K, Glover L, Dowling P, Ohlendieck K. Brain dystrophin-glycoprotein complex: Persistent expression of beta-dystroglycan, impaired oligomerization of Dp71 and up-regulation of utrophins in animal models of muscular dystrophy. BMC Cell Biol 2001;2(1):2.

Cunha JA, Freitas NK, Raimundo MGB. Psicodiagnóstico-R. Porto Alegre: Artes Médicas; 1993.

Cunha JA. Psicodiagnóstico. 5ª ed. Rev Ampl. Porto Alegre:Artes Médicas Sul; 2000.

D'Angelo MG, Bresolin N. Report of the 95th European Neuromuscular Centre(ENMC) sponsored International Workshop Cognitive Impairment in Neuromuscular Disorders, Naarden, The Netherlands, 13-15 July 2001. Neuromuscul Disord 2003;13(1):72-9.

Davies KE, Pearson PL, Harper PS, Murray JM, O'Brien T, Sarfarazi M et al. Linkage analysis of two cloned DNA sequences flanking the Duchenne muscular dystrophy locus on the short arm of the human X chromosome. Nucleic Acids Res 1983;11(8):2303-12.

Den Dunnen JT, Grootscholten PM, Bakker E, Blonden AJ, Ginjaar HB, Wapenaar MC et al. Topography of the Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) gene: FIGE and cDNA analysis of 194 cases reveals 115 deletions and 13 duplications. Am J Hum Genet 1989;45(6):835-47.

Dinçer P, Balci B, Yuva Y, Talem B, Brockington, Dinçel D et al. A novel form of recessive limb girdle muscular dystrophy with mental retardation and abnormal expression of alpha-distroglycan. Neuromuscul Disord 2003;13(10):771-8.

Dorman C, Hurley AD, D'AVignon J. Language and Learning Disorder of Older Boys with Duchenne Muscular Dystrophy. Dev Med Child Neurol 1988;30(3):316-27.

Dubowitz V. Muscle disorders in childhood. 2nd ed. London: Saunders; 1995.

Eckert MA, Leonard CM, Richards TL, Aylward EH, Thomson J, Berninger VW. Anatomical correlates of dyslexia:frontal and cerebellar findings. Brain 2003;126(2):482-94.

Ervasti JM, Campbell KP. Membrane organization of the dystrophin-glycoprotein complex. Cell 1991;66(6):1121-31.

Ervasti JM, Ohlendieck K, Kahl SD, Gaver MG, Campbell KP. Deficiency of a glycoprotein componente of the dystrophin complex in dystrophic muscle. Nature. 1990;345(6273):315-9.

Ervasti JM, Campbell KP. A role for the Dystrophin-Glycoprotein Complex as a Transmembrane linker between Laminin and Actin. J Cell Biol 1993;122(4):809-23.

Felisari G, Boneschi FM, Bardoni A, Sironi M, Comi GP Robotti M et al. Loss of Dp140 dystrophin isoform and intellectual impairment in Duchenne dystrophy. Neurol 2000;55(4):559-64.

Figueiredo VLM. Uma Adaptação Brasileira do Teste de Inteligência WISC-III

[Tese]. Brasília: Universidade Brasília, Instituto de Psicologia; 2001.

Figueiredo VLM.WISC-III: Escala de Inteligência Wechsler para Crianças: Manual/David Wechsler, 3ªed. Adaptação e Padronização Brasileira. 1ªed.: Vera Lúcia Marques de Figueiredo. São Paulo: Casa do Psicólogo; 2002.

Finn D, Culligan K, Ohlendieck K. Reduction of brain beta-dystroglycan in Duchenne muscular dystrophy but not the mdx animal model. Biochem Biophys Res Commun 1998;249(1):231-5.

Francke U, Ochs HD, DE Martinville B, Giacalone J, Lindgren V, Distéche et al.Minor Xp21 chromosome deletion in a male associated with expression of Duchenne muscular dystrophy, chronic granulomatous disease, retinitis pigmentosa and Mcleod syndrome. Am J Hum Genet 1985;37(2):250-67.

Gee SH, Montanaro F, Lindenbaum MH, Carbonetto S. Dystrolycan-alpha, a Dystrophin-Associated Glycoprotein, is a functional Agrin receptor. Cell 1994;77(5):675-86.

Goodfellow PN, Davies KE, Ropers HH. Report of the committee on the genetic constitution of the X and Y chromosomes. Human Gene Mapping 8. Cytogenet Cell Genet 1985;40(1-4):296-352. Greenstein RM, Reardon MP, Chan TS. An X-autosome translocation in a girl with Duchenne muscular dystrophy (DMD), evidence for DMD gene localization. Pediatr Res 1977;11(4):457-457.

Groth-Marnat G. Handbook of psychological assessment. 3rd. New York: Wiley&Sons; 1999.

Hemler ME. Dystroglycan Versatility. Cell 1999;97(5):543-6.

Hinton VJ, De Vivo DC, Nereo NE, Goldstein E, Stern Y. Poor verbal working memory across intellectual level in boys with Duchenne dystrophy. Neurol 2000;54(11):2127-32.

Hinton VJ, De Vivo DC, Nereo NE, Goldstein E, Stern Y. Selective déficits in verbal working memory associated with a known genetic etiology: The neuropsychological profile of Duchenne muscular dystrophy. J Int Neuropsychol Soc 2001;7(1):45-54.

Hoffmann EP, Brown RH, Kunkel LM. Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. Cell 1987;51(6):919-28.

Hoffman EP, Fishbeck KH, Brown RH. Characterization of dystrophin in muscle-biopsy specimens from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy. N Engl J Med 1988;318(21):1363-8.

Huizing M, Rakocevic G, Sparks SE, Mamali I, Shatunov A, Goldfarb L et al. Hypoglycosylation of a-dystroglycan in patients with hereditary IBM due to GNE mutations. Mol Genet Metab 2004;81(3):196-202.

Ibraghimov-beskrovnaya O, Ervasti JM, Leveille CJ, Slaughter CA, Sernett SW, Campbell KP. Primary structure of dystrophin-associated glycoprotein linking dystrophin to the extracellular matrix. Nature 1992;355(6362):696-702.

Jagadha V, Becker LE. Brain morphology in Duchenne muscular dystrophy: a Golgi study. Pediatr Neurol 1988;4(2):87-92.

Jayasinha V, Hoyte K, Xia B, Martin PT. Overexpression of the CT GalNAc transferase inhibits muscular dystrophy in a cleavage-resistant dystroglycan mutant mouse. Biochem Biophys Res Commun 2003;302(4):831-6.

Karagan NJ, Zellweger HU. Early verbal disability in Children with Duchenne muscular dystrophy. Dev Med Child Neurol 1978;20(4):435-41.

Kano H, Kobayashi K, Herrmann R, Tachikawa M, Manya H, Nishino I et al. Deficiency of a-dystroglycan in Muscle-Eye-Brain Disease. Biochem Biophys Res Commun 2002;291(5):1283-6.

Koenig M, Hoffman EP, Bertelson CK. Complete cloning do the Duchenne muscular dystrophy(DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in mouse and affected individuals. Cell. 1987;50(3):509-17.

Kunkel LM, Monaco AP, Middlesworth W. Specific cloning of DNA fragments absent from the DNA of a male patient with an X-chromosome deletion. Proc Natl Acad Sci USA 1985;82(14):4778-82.

Leiner HC, Leiner AL, Dow RS. The human cerebro-cerebellar system: its computing cognitive, and language skills. Behav Brain Res 1991;44(2):113-28

Leschziner A, Moukhles H, Lindenbaum M, Gee SH, Butterworth, Campbell KP et al. Neural regulation of alpha-dystroglycan biosynthesis and glycosylation in Skeletal muscle. J Neurochem 2000;74(1):70-80.

Lévi S, Grady RM, Henry MD, Campbell KP, Sanes JR, Craig AM. Dystroglycan is selectively associated with inhibitory GABAergic synapses but is dispensable for their differentiation. J Neurosci 2002;22(11):4274-85.

Lidov HGW, Byers TJ, Wathkins SC, Kunkel LM. Localization of dystrophin to postsynaptic regions of central nervous system cortical neurons. Nature 1990;348(6303):725-8.

Lieberman P. On the Nature and Evolution of the Neural Bases of Human Language. Am J Phys Anthropol 2002;35:36-62.

Matarazzo, JD. Wechsler: Medida e avaliação da inteligência do Adulto. São Paulo:Manole; 1976.

Matsumura K, Chica A, Yamada H, Fukuta-ohi H, Fujita S, Endo T et al. A role of Dystroglycan in Schwannoma Cell Adhesion to Laminin. J Biol Chem 1997;272(21):13904-10.

Mehler MF.Brain dystrophin, neurogenetics and mental retardation. Brain Res Brain Res Rev 2000;32(1):277-307.

Melacini P, Vianello A, Villanova C, Fanin M, Miorin M, Angelini C et al. Cardiac and respiratory involvement in advanced stage Duchenne muscular Dystrophy. Neuromuscul Dis 1996;6(5):367-76.

Michele DE, Barresi R, Kanagawa M, Saito F, Cohn RD, Satz JS et al. Post-translational disruption of dystroglycan-ligand interactions in congenital muscular dystrophies. Nature 2002;418(6896):417-22.

Moizard MP, Billard C, Toutain A, Berret F, Marmin N, Morraine C. Are Dp71 and Dp140 brain dystrophin isoforms related to cognitive impairment in Duchenne muscular dystrophy? J Med Genet. 1998;80(1):32-41.

Montanaro R, Carbonetto S. Targeting Dystroglycan in the Brain. Neuron 2003;37(2):193-6.

Moore SA, Saito F, Chen J, Michele DE, Henry MD, Messing A et al. Deletion of brain dystroglycan recapitulates aspects of congenital muscular dystrophy. Nature 2002;418(6896):422-5.

Moukhles H, Carbonetto S. Dystroglyucan contributes to the formation of multiple dystrophin-like complexes in brain. J Neurochem 2001;78(4):824-34.

Muntoni F, Torelli S, Ferlini A. Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes. Lancet Neurol 2003;2(12):731-40.

Muntoni F, Brockington M, Blake DJ, Torelli S, Brown SC. Defective glycosylation in muscular dystrophy. Lancet 2002 2;360(9343):1419-21.

Nicholson LVB, Johnson MA, Gardner-Medwin D et al. Heterogeneity of dystrophin expression in patients with Duchenne and Becker muscular dystrophy. Acta Neuropathol 1990;80(3):239-50.

Ohlendieck K, Campbell KP. Dystrophin-associated proteins are greatly reduced in skeletal muscle from mdx mice. J Cell Biol 1991;115(6):1685-94.

Ohlendieck K, Matsumura K, Ionasescu VV, Towbin JA, Bosch EP, Weinstein SL et al. Duchenne muscular dystrophy: deficiency of dystrophin-associated proteins in sarcolemma. Neurology 1993;43(4):795-800.

Prosser EJ, Murphy EG, Thompson MW. Intelligence and the gene for Duchenne muscular dystrophy. Arch Dis Child 1969;44(234):221-30.

Rae C, Scott RB, Thompson CH, Dixon RM, Dumughn I, Kemp GJ et al. Brain biochemistry in Duchenne muscular dystrophy: A H magnetic resonance and neuropsychological study. J Neurol Sci 1998;160(2):148-57.

Rando TA. The dystrophin-glycoprotein complex, cellular signaling, and the regulation of muscle cell survival in the muscular dystrophies. Muscle Nerve. 2001;24(12):1575-94.

Roberts RG, Gardner R, Bobrow M. Searching for the 1 in 2, 400, 000: A review of dystrophin gene point mutations. Hum Mutat. 1994;4(1):1-11.

Schmidt B, Gabbai AA, Oliveira ASB, Braga Jr MB, Castelo Filho A, Laredo Filho J. Biopsia muscular, nova metodologia: a dança dos “farabeufs”. Rev. Bras Orthop 1988;23:21-6.

Scott OM, Hyde SA, Goddard C, Dubowitz V. Quantitation of muscle function in children: a prospective study in Duchenne muscular dystrophy. Muscle Nerve 1982;5(4):291-301.

Smalheiser NR, Collins BJ. Coordinate enrichment of cranin (dystroglycan) subunits in synaptic membranes of sheep brain. Brain Res 2000;887(2):469-71.

Terman LM, Merrill MA. Stanford-Binet Intelligence Scale-Manual for the Revision Form L-M. Cambridge: University Press; 1968.

Tian M, Jacobson C, Gee SH, Campbell KP, Carbonetto S, Jucker M. Dystroglycan in the cerebellum is a laminin alpha 2-chain binding protein at the glial-vascular interface and is expressed in Purkinje cells. Eur J Neurosci 1996;8(12):2739-47.

Topaloglu H, Brockington M, Yuva Y, Talim B, Haliloglu G, Blake D et al. FKRP gene mutations cause congenital muscular dystrophy, mental retardation, and cerebellar cysts. Neurology 2003;60(6):988-92.

Uchino M, Teramoto H, Naoe H, Yoshioka K, Miike T, Ando M. Localization and characterisation of dystrophin in the central nervous system of controls and patients with Duchenne muscular dystrophy. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1994;57(4):426-9.

Verellen-Dumoulin C, Freund M, De Meyer R, Laterre C, Frederic J, Thompson MW et al. Expression of an X-linked muscular dystrophy in a female due to translocation involving Xp21 and non-random X-inactivation. Hum Genet 1984;67(1):115-9.

Whelan TB. Neuropscychological performance of children with Duchenne muscular dystrophy and spinal mucle atrophy. Dev Med Child Neurol 1987;29(2):212-20.

Wicksell RK, Kihlgren M, Melin L, Eeg-Ologsson O. Specific cognitive deficits are common in children with Duchenne muscular dystrophy. Dev Med Child Neurol 2004;46(3):154-9.

Worden DK, Vignos PJ. Intellectual function in childhood progressive muscular dystrophy. ediatrics. 1962;29:968-77.

Yoshioka M, Okuno T, Honda Y, Nakano Y. Central Nervous system involvement in progressive muscular dystrophy. Arch Dis Child 1980;55(8):589-94.

Zaccaria ML, Tommaso FD, Brancaccio A, Paggi P, Petrucci TC. Dystroglycan distribution in adult mouse brain: a light and lectron microscopy study. Neuroscience 2001(a);104(2):311-24.

Zaccaria ML, Perrone-capano C, Meluci-vigo G, Gaeta L, Petrucci TC, Paggi P. Differential Regulation of Transcripts for Dystrophin isoforms, dystroglycan, and alpha3AchR subunit in mouse sympathetic ganglia following postganglionic Nerve crush. Neurobiol Dis 2001(b);8(3):513-24.

Zaccaria ML, Stefano ED, Gotti C, Petrucci TC, Paggi P.Selective reduction in the nicotinic acetylcholine receptor and dystroglycan at the postsynaptic apparatus of mdx mouse superior cervical ganglion. J Neuropathol Exp Neurol 2000;59(2):103-12.

Zaccaria ML, Stefano ED, Properzi F, Gotti C, Petrucci TC, Paggi P. Disassembly of the cholinergic postsynaptic apparatus induced by axotomy in mouse sympathetic neurons: the loss of dystrophin and beta-dystroglycan immunoreactivity precedes tha of the acetylcholine receptor. Neuropathol Exp Neurol 1998;57(8):768-79.

Zatz M, Vianna-morgante AM, Campos P, Diament AJ. Translocation(X;6) in a female with Duchenne muscular dystrophy, implications for the localization of the DMD locus. J Med Genet 1981;18(6):442-7.

Zellweger H, Hanson JW. Psychometric studies in muscular dystrophy type IIIa(Duchenne). Dev Med Child Neurol 1967;9(5):576-81.

Zubrzycka-gaarn EE, Bulman DE, Karpati G. The Duchenne muscular dystrophy gene product is localized in the sarcolemma of human skeletal muscle. Nature 1988 2;333(6172):466-9.

**Abstract**

The Duchenne muscular Dystrophy (DMD) is a muscular dystrophy with cognitive impairment present in 20-30% of the cases. Despite of the fact that theses children's brain looks like normal, it has already been bound a great variety of abnormalities, however not explaining the cognitive impairment. The dystrophin gene is very large and encodes several dystrophin isoforms. Deletions and duplications in linking sites to distal isoforms like Dp140, Dp71 favor mental retardation incidence. The dystrophin connects to a proteic complex (CDG), among these proteins, the dystroglicans. Within the dystroglycan complex, the α-dystroglycan, have been known as important in several mechanisms, not only at skeletal muscle stabilization at muscular contraction, but also at synaptogenesis, neuronal migration, neuronal plasticity. Its different roles, at skeletal muscle and Central Nervous System (CNS), bring us to think about the mechanisms involved when it is deficient, as well, as the dystrophin, at cognitive impairment physiopathology in DMD patients. Nineteen DMD patients were assessed, and a high proportion (42%) performed the intelligence quotient (IQ) below the average. The patients aged at the time of the muscle biopsy, between 4 and ten years, and, at the assessment time, between 6 and 12 years old. Among the 19 patients, 2 were assessed by the Stanford-Binet. Among the 17 assessed by WISC-III, 52.9% performed a verbal IQ below the average, and 29.4% below 70. The proportion of patients who performed an average verbal IQ, was 47%. In our muscle biopsies samples of DMD patients, 89.5% presented α-dystroglycan immunostaining between 0 and 25%. However, one patient presented a α-dystroglycan immunostaining of 70.4%, and the other 43.2% and who performed an average IQ, finding not mentioned in literature. There was no significant statistic relationship among total IQ, verbal IQ and execution IQ and α-dystroglycan immunostaining at these patients muscle samples. The presence of α-dystroglycan in the brain, as well as, the dystrophin, suggest their role on the pathophysiology of cognitive impairment in DMD children. The mechanisms involved in intelligence are complex. We can atribute genetic factor, structural ones, but also consider the environment and psychosocials ones, in the case of our patients, worthy if we consider the lack of stimulus and learning opportunities.

# Livros Grátis

( http://www.livrosgratis.com.br )

Milhares de Livros para Download:


Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo