

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

LEONARDO HALLEY CARVALHO PIMENTEL

DISTROFIAS MUSCULARES PROGRESSIVAS DE CINTURAS  
TIPO 2: PERFIL EPIDEMIOLÓGICO NO ESTADO DO CEARÁ

FORTALEZA – CE  
2008

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

P699d Pimentel, Leonardo Halley Carvalho  
Distrofias musculares progressivas de cinturas tipo  
2 : perfil epidemiológico no estado do Ceará / Leonardo  
Halley Carvalho Pimentel. –Fortaleza, 2008.  
102 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Maurício de Castro  
Costa  
Dissertação  
(Mestrado) – Universidade Federal do Ceará.  
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia,  
Fortaleza-Ce, 2008.

1. Distrofias Musculares – Brasil, Nordeste. 2.  
Sarcoglicanas – Brasil, Nordeste. I. Costa, Carlos  
Maurício de Castro (Orient.). II. Título.

CDD 616.8

LEONARDO HALLEY CARVALHO PIMENTEL

DISTROFIAS MUSCULARES PROGRESSIVAS DE CINTURAS TIPO 2:  
PERFIL EPIDEMIOLÓGICO NO ESTADO DO CEARÁ

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Farmacologia

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Carlos Maurício de Castro Costa (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Francisco de Assis Aquino Gondim  
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Otoni Cardoso do Vale  
Universidade Federal do Ceará – UFC

À Trícia, por tornar tudo possível.

Aos meus pais, pelo exemplo de vida e incentivo contínuo.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Maurício de Castro Costa, pelo apoio, disponibilidade e paciência para realização deste objetivo.

Ao Prof. Dr. Francisco de Assis Aquino Gondim, pelas idéias, dedicação, amizade e exemplo de excelência profissional.

A todos os amigos da equipe de Neurologia do Hospital Universitário Walter Cantídio, pelo acolhimento generoso em todos os momentos.

Ao Dr. Cleto Dantas Nogueira, patologista do Hospital Sarah, pela valiosa colaboração na análise imunohistoquímica dos pacientes deste estudo.

Ao Dr. Benjamim Pessoa Vale, pelo exemplo na vida e na medicina.

Aos Drs. José Tupinambá Vasconcelos, Jayro Paiva (in memoriam), Cristiana Borges Pereira, Ozir Scarante, Sônia Maria Azevedo e Roberta Arb Saba, pelo modelo de profissionalismo.

Aos amigos Marcelo Luiz Martins, Gisele Ramos, Marcinda Araújo, Conceição de Maria Nunes e Cristiane Guedes, pelos bons momentos.

Aos professores e amigos da pós-graduação, pela contribuição na minha formação científica.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC que contribuíram de alguma forma para a realização deste projeto.

E especialmente a Deus, que sempre guia meus passos.

## LISTA DE FIGURAS

| <b>FIGURA</b>    |   | <b>PÁGINA</b> |
|------------------|---|---------------|
| <b>Figura 1</b>  | Representação esquemática de proteínas do sarcolema, sarcômero, citosol e núcleo envolvidas na degeneração muscular de vários subtipos de distrofia muscular progressiva de cinturas. | 17            |
| <b>Figura 2</b>  | Distribuição predominante da fraqueza muscular em diferentes tipos de distrofias.   | 24            |
| <b>Figura 3</b>  | Fluxograma para análise imunohistoquímica e investigação genética de paciente com suspeita de distrofia muscular progressiva de cinturas.   | 44            |
| <b>Figura 4</b>  | Distribuição dos pacientes com distrofia muscular progressiva de cinturas atendidos no ambulatório de Neurologia do Hospital Universitário Walter Cantídio quanto ao gênero.          | 58            |
| <b>Figura 5</b>  | Presença de consangüinidade entre as 32 famílias com distrofias musculares progressivas de cinturas atendidas no ambulatório de Neurologia do Hospital Universitário Walter Cantídio. | 59            |
| <b>Figura 6</b>  | Distribuição dos 41 pacientes com diagnóstico clínico de distrofia muscular progressiva de cinturas em relação ao resultado da análise imunohistoquímica da biópsia muscular.         | 60            |
| <b>Figura 7</b>  | Símbolos utilizados nos heredogramas da figura 7.   | 64            |
| <b>Figura 8</b>  | Heredogramas das famílias com distrofia muscular progressiva de cinturas com dois ou mais membros afetados.   | 65            |
| <b>Figura 9</b>  | Sinal do “diamante no quadríceps” no paciente 21.   | 66            |
| <b>Figura 10</b> | Distribuição geográfica das famílias com distrofias musculares progressivas de cinturas entre as microrregiões do Estado do Ceará, Brasil.  | 68            |

|                  |   |    |
|------------------|---|----|
| <b>Figura 11</b> | Distribuição da presença de consanguinidade em amostra aleatória de 156 casais na zona rural do município de Quixeramobim, Ceará, Brasil. | 69 |
| <b>Figura 12</b> | Escápulas aladas em paciente com disferlinopatia.   | 70 |
| <b>Figura 13</b> | Escápulas aladas em paciente com sarcoglicanopatia.   | 71 |
| <b>Figura 14</b> | Hipertrofia de panturrilhas em paciente com sarcoglicanopatia.  | 72 |
| <b>Figura 15</b> | Atrofia de cintura escapular em paciente com disferlinopatia.   | 73 |



## LISTA DE TABELAS

| <b>TABELA</b>   |   | <b>PÁGINA</b> |
|-----------------|---|---------------|
| <b>Tabela 1</b> | Miopatias agudas e subagudas de predomínio proximal.  | 20            |
| <b>Tabela 2</b> | Miopatias crônicas com predomínio proximal.   | 21            |
| <b>Tabela 3</b> | Miopatias com predomínio distal.  | 22            |
| <b>Tabela 4</b> | Subtipos de distrofias musculares progressivas de cinturas com respectivas alterações protéicas.  | 31            |
| <b>Tabela 5</b> | Comparação entre principais subtipos recessivos de distrofia muscular progressiva de cinturas.  | 41            |
| <b>Tabela 6</b> | Achados clínicos nos pacientes com distrofia muscular progressiva de cinturas atendidos no ambulatório de Neurologia do Hospital Universitário Walter Cantídio / Universidade Federal do Ceará. | 61            |
| <b>Tabela 7</b> | Comparação entre achados clínicos de sarcoglicanopatias e disferlinopatias no Estado do Ceará, Brasil.  | 63            |
| <b>Tabela 8</b> | Achados histológicos nas biópsias musculares de pacientes com distrofia muscular progressiva de cinturas.   | 67            |

## LISTA DE ABREVIATURAS

DMPC: distrofia muscular progressiva de cinturas

CPK: creatinoquinase total

ALT: alanina aminotransferase

AST: aspartato aminotransferase

DHL: desidrogenase láctica

DNA: ácido desoxirribonucléico

H&E: hematoxilina-eosina

PAS: ácido periódico de Schiff

ORO: oil red O

ATP: adenosina trifosfato

NADH: nicotinamida adenina dinucleotídeo

CAV3: gene caveolin-3

CAPN3: gene calpaína-3

DYSF: gene disferlina

TRIM32: tripartite-motif-containing gene 32

DYS: anticorpo monoclonal de rato

SGP: sarcoglicanopatia

DFP: disferlinopatia

HUWC: hospital universitário Walter Cantídio

UFC: Universidade Federal do Ceará

CD8: *cluster of differentiation 8*

MHC: complexo de histocompatibilidade principal

CVF: capacidade vital forçada

## RESUMO

Objetivo: Caracterização clínica e de achados da biópsia muscular de formas recessivas de distrofias musculares de cinturas (DMPC tipo 2) no Estado do Ceará, Nordeste do Brasil. Desenho: Série de casos. Local: Hospital universitário; atendimento terciário. Pacientes e métodos: Foram estudados 41 pacientes de 32 famílias com fraqueza crônica progressiva em distribuição de cinturas atendidos em hospital terciário. Todos os pacientes nasceram no Estado do Ceará. Pacientes com padrão de herança autossômico dominante ou com fraqueza facial foram excluídos. Os espécimes das biópsias musculares foram imunomarcados para distrofina, sarcoglicano, disferlina, miotilina, merosina e emerina em todos os casos. Resultados: Foi encontrado um padrão específico de deficiência protéica em 24 pacientes (58,5%) de 20 famílias. Entre estes pacientes 11 (45,8%) tinham sarcoglicanopatia e 13 (54,2%) tinham disferlinopatia e o padrão de herança foi recessivo ou esporádico. Alterações eletrocardiográficas foram observadas em 6 (54,5%) pacientes com sarcoglicanopatia. Conclusão: Sarcoglicanopatias e disferlinopatias representam mais de 60% dos casos de famílias com DMPC tipo 2 nesta série do Nordeste brasileiro. Imunohistoquímica ainda é uma ferramenta muito importante para classificação das DMPCs se o teste genético não está disponível ou é limitado. Estudos futuros são necessários para caracterizar o perfil genético de diferentes famílias com DMPC, bem como caracterizar outros subtipos de DMPC tipo 2 no Brasil.

Palavras-chave: Distrofia Muscular Progressiva de Cinturas, Disferlinopatias, Sarcoglicanopatias, Nordeste Brasileiro.

## ABSTRACT

Objective: To report the clinical and muscle biopsy findings from the recessive forms of limb girdle muscular dystrophies (LGMD type 2) seen in the state of Ceará, Northeast of Brazil. Design: Case series. Setting: Tertiary care clinic, University hospital. Patients and Methods: We studied 41 patients from 32 families with chronic progressive weakness in a limb-girdle distribution seen at a tertiary care hospital. All patients were born in the State of Ceará. Patients with autosomal dominant pattern or facial involvement were excluded. Muscle biopsies specimens were immunostained for dystrophin, sarcoglycan, dysferlin, myotilin, merosin and emerin on all cases. Results: We found a specific protein deficiency in 24 patients (58.5%) from 20 families. Among these patients 11 (45.8%) had sarcoglycanopathy and 13 (54.2%) had dysferlinopathy and the pattern of inheritance was autosomal recessive or sporadic. Eletrocardiographic changes were seen in 6 (54.5%) patients with sarcoglycanopathy. Conclusion: Sarcoglycanopathies and dysferlinopathies represent more than 60% of the cases of families with LGMD type 2 in this series from Northeast Brazil. Immunohistochemistry is still a very important tool for classification of LGMDs if genetic testing is not available or limited. Further studies are necessary to characterize the genetic background of the different LGMD families and to further characterize the other subtypes of LGMD type 2 in Brazil.

Keywords: Limb-girdle Muscular Dystrophies; Dysferlinopathies; Sarcoglycanopathies; Northeast of Brazil.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| <b>1.</b> | <b>INTRODUÇÃO</b>   | 14 |
| 1.1.      | Conceitos em doenças musculares                           | 15 |
| 1.2.      | Diagnóstico diferencial das miopatias                     | 18 |
| 1.3.      | Avaliando sintomas musculares                             | 25 |
| 1.3.1.    | <i>História</i>   | 25 |
| 1.3.2.    | <i>Exame físico</i>                                       | 26 |
| 1.3.3.    | <i>Exames complementares</i>                              | 26 |
| 1.4.      | Papel da biópsia muscular na<br>investigação de miopatias | 27 |
| 1.5.      | DMPC – primeiros casos                                    | 29 |
| 1.6.      | Classificação das DMPCs                                   | 30 |
| 1.7.      | Proteínas do músculo                                      | 32 |
| 1.8.      | DMPCs tipo 1  | 34 |
| 1.9.      | DMPCs tipo 2  | 35 |
| 1.10.     | Genética e DMPCs  | 42 |
| <b>2.</b> | <b>OBJETIVOS</b>  | 45 |
| <b>3.</b> | <b>PACIENTES E MÉTODOS</b>                                | 47 |
| 3.1.      | Pacientes   | 48 |
| 3.2.      | Ética   | 49 |
| 3.3.      | Critérios de inclusão                                     | 49 |
| 3.4.      | Critérios de exclusão                                     | 49 |
| 3.5.      | Avaliação clínica dos pacientes                           | 50 |
| 3.6.      | Classificação da severidade da doença                     | 52 |
| 3.7.      | Determinação do padrão de herança                         | 52 |
| 3.8.      | Exames complementares                                     | 52 |
| 3.9.      | Protocolo de consangüinidade                              | 53 |

|           |                    |            |
|-----------|--------------------|------------|
| <b>4.</b> | <b>RESULTADOS</b>  | <b>55</b>  |
| <b>5.</b> | <b>DISCUSSÃO</b>   | <b>74</b>  |
| <b>6.</b> | <b>CONCLUSÕES</b>  | <b>90</b>  |
| <b>7.</b> | <b>REFERÊNCIAS</b> | <b>92</b>  |
| <b>8.</b> | <b>ANEXOS</b>      | <b>102</b> |

## **1. INTRODUÇÃO**

As doenças neuromusculares e neurodegenerativas são relativamente comuns e têm um grande impacto na prática clínica neurológica, pois, além do seu caráter progressivo, muitas são letais ou levam à incapacidade motora precoce. Dentre elas, as distrofias musculares abrangem um grupo diverso de doenças hereditárias, caracterizadas por fraqueza muscular progressiva e nas quais o defeito primário está no músculo esquelético. Apesar da importância, no Brasil, em particular no Nordeste brasileiro, estas doenças ainda são pouco estudadas.

Para classificar as diferentes formas de distrofias musculares têm sido usados o modo de herança, idade de início, envolvimento de grupos musculares específicos e forma de progressão. No entanto, a marcante heterogeneidade fenotípica intra-familiar em muitos pacientes com distrofia muscular torna muito difícil uma classificação definitiva destas doenças. Nas últimas duas décadas, a classificação vem se tornando possível em virtude dos avanços no campo da neurogenética, com identificação de genes responsáveis pelas diferentes formas de distrofias musculares. Dentre estas, as distrofias musculares progressivas de cinturas formam um subgrupo com pelo menos 20 diferentes tipos já identificados, cada um dos quais com grande variabilidade fenotípica. Como os estudos genéticos estão restritos a poucos centros de saúde especializados em nosso país, o diagnóstico dessas doenças depende muitas vezes da biópsia muscular com análise imunohistoquímica.

### **1.1. CONCEITOS EM DOENÇAS MUSCULARES**



As desordens do músculo esquelético incluem muitas doenças que causam fraqueza, dor e fadiga em combinações diversas. Miopatia é o termo usado para descrever uma anormalidade do músculo, sem outra conotação. Distrofias musculares são miopatias genéticas, um grupo heterogêneo de disfunções herdadas, geralmente causadas por distúrbio de uma proteína estrutural do músculo. Miosite implica em alteração inflamatória, e o termo é habitualmente reservado para desordens em que preparações histológicas do músculo mostram resposta inflamatória. Miotonias são doenças em que a contração muscular normal é distorcida pela ocorrência de atividade muscular persistente e involuntária acompanhada por descargas elétricas anormais e repetitivas, que podem acontecer após percussão ou contração voluntária. Miopatias metabólicas referem-se a doenças onde há falha na bioquímica muscular com impedimento da produção de energia para contração; o termo em geral é empregado como sinônimo de miopatia endócrina. Miopatias congênitas são um grupo de desordens genéticas com alterações estruturais da fibra muscular, geralmente presentes ao nascimento ou na primeira infância; muitas delas são relativamente não-progressivas. Algumas miopatias com achados estruturais similares podem ter início mais tardio, até mesmo na idade adulta e ter um curso progressivo. Anormalidades nos canais iônicos da membrana celular envolvidos na excitação muscular são chamadas canalopatias e podem causar muitas formas de miotonia e paralisia periódica. O complexo de proteínas, que inclui a distrofina, proteínas do sarcoglicano, disferlina, laminina constituem estruturas essenciais para ligação das proteínas de contração com estruturas de suporte extracelular. Defeitos nessas proteínas

são encontradas em algumas formas de distrofias, incluindo as DMPCs (Amato et al, 2004; Kissel et al, 2000).

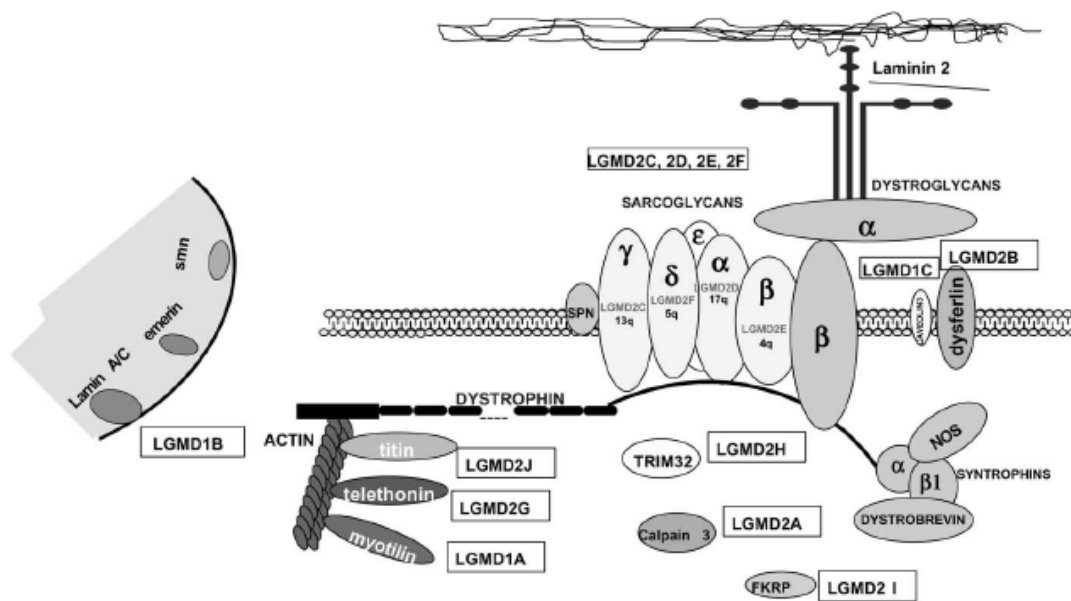


Figura 1 – Representação esquemática de proteínas do sarcolema, sarcômero, citosol e núcleo envolvidas na degeneração muscular de vários subtipos de DMPC. Adaptado de Zatz et al, The 10 autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. *Neuromuscul Disord* 2003, 13:532-544.

## 1.2. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DAS MIOPATIAS

A apresentação típica das miopatias consiste em sinais e sintomas simétricos e estáticos de fraqueza da musculatura esquelética, que acomete a parte proximal dos membros e a musculatura para-espinhal. As miopatias também podem causar fraqueza assimétrica, distal ou generalizada, ou ainda fraqueza de distribuição regional. Mais raramente há acometimento das musculaturas respiratória e cardíaca. Outro quadro possível é dor ou rigidez muscular induzida por exercício e paralisia periódica. A assimetria acentuada e as miopatias focais são raras (Griggs et al, 1995).

De modo geral, as miopatias são colocadas no mesmo diagnóstico diferencial que os distúrbios da transmissão neuromuscular, as doenças do neurônio motor e até algumas polineuropatias. Os reflexos profundos são comumente poupados e a sensibilidade é raramente afetada. Certos achados reduzem o diagnóstico diferencial em pacientes com suspeita de miopatia. Alguns exemplos são determinadas distribuições de fraqueza (por exemplo, presença de ptose palpebral, oftalmoparesia, fraqueza da musculatura respiratória, elevação da escápula). Outros achados predominam em algumas miopatias (por exemplo, contraturas, dismorfias esqueléticas, hipertrofia de panturrilhas, miotonia, envolvimento cardíaco). É importante ainda avaliar o perfil temporal (início e progressão aguda, subaguda, crônica ou recorrente) e se os sintomas surgem com o exercício. Deve-se também pesquisar fatores de risco como predisposição genética, exposição a medicamentos ou substâncias tóxicas e envolvimento de outros órgãos. Vale enfatizar a história familiar: não basta perguntar se há outros parentes com a mesma doença. Deve-se fazer

sempre uma avaliação detalhada das histórias clínicas dos parentes de primeiro grau, perguntando sobre deformidades ou problemas ortopédicos, deficiências, cataratas precoces e morte súbita. A possibilidade de examinar os familiares que possam ter a doença deve ser cogitada (Hussell et al, 2005).

Tabela 1 – Miopatias agudas e subagudas de predomínio proximal.

|   |
|---|
| <b>Adquiridas</b>   |
| <i>Miopatias inflamatórias e imunológicas</i>   |
| Polimiosite<br>Dermatomiosite<br>Miosite granulomatosa<br>Miopatia sarcóide<br>Miosite eosinofílica   |
| <i>Endócrinas</i>   |
| Supra-renal: síndrome ou doença de Cushing, doença de Addison<br>Tireóide: hipo e hipertireoidismo<br>Paratireóide: hiperparatireoidismo  |
| <i>Metabólicas</i>  |
| Hipocalcemia<br>Osteomalácia  |
| <i>Doença sistêmica</i>   |
| Miopatia do paciente crítico<br>Paraneoplásica  |
| <i>Infeciosas</i>   |
| Viral – influenza, Coxsackie, HIV<br>Bacteriana – piomiosite, <i>Staphylococcus</i> , <i>Legionella</i> , tifoide, <i>Clostridia</i> ,<br><i>Aeromonas</i> , <i>Vibrio</i><br>Parasitária – triquinose, toxoplasmose, cisticercose  |
| <i>Tóxica</i>   |
| Álcool<br>Ácido aminocapróico<br>Amiodarona<br>Cloroquina e hidroxicloroquina<br>Estatinas<br>Cimetidina<br>Colchicina<br>Corticóides<br>Ciclosporina<br>Drogas ilícitas (injeção intramuscular)<br>Labetalol<br>Lítio<br>Bloqueadores neuromusculares<br>Omeprazol<br>Penicilamina<br>Propofol<br>Rifampicina<br>Tacrolimus<br>L-triptofano<br>Vincristina<br>Vitamina E<br>Zidovudina |
| <b>Hereditárias</b>   |
| <i>Canalopatias</i>   |
| <i>Paralisia periódica</i>  |

Tabela 2- Miopatias crônicas com predomínio proximal.

|  |
|--|
| <b>Adquiridas</b>  |
| <i>Miopatias inflamatórias idiopáticas</i>   |
| <i>Miosite com corpos de inclusão</i>  |
| <i>Sarcoidose</i>  |
| <i>Infeciosas</i>  |
| HIV; HTLV  |
| <i>Metabólica</i>  |
| Osteomalácia   |
| <i>Amiloidose</i>  |
| <b>Hereditárias</b>  |
| <i>Distrófica</i>  |
| Deficiência de distrofina (formas de Duchenne e Becker)<br><b><i>Distrofia muscular tipo cinturas</i></b><br>Distrofia muscular facioescapuloumeral<br>Distrofia muscular miotônica tipos I e II<br>Distrofia muscular orofaríngea<br>Distrofia muscular congênita<br>Distrofia muscular de Emery-Dreifuss<br>Miopatia de Ulrich/Bethlem |
| <i>Congênita</i>   |
| Miopatia nemalínica<br>Miopatia centronuclear ou miotubular<br>Miopatia do core central<br>Miopatia miofibrilar (da desmina)   |
| <i>Doenças de depósito do glicogênio e de lipídeos</i>   |
| <i>Deficiência da maltase ácida</i>  |
| <i>Miopatia primária por carnitina</i>   |
| <i>Deficiências de acil coenzima A desidrogenases</i>  |
| <i>Canalopatias</i>  |
| Miotonia congênita<br>Paralisia periódica (hipo ou hipercalêmica)  |
| <i>Mitocondriopatias</i>   |

Tabela 3 – Miopatias com predomínio distal.

|  |
|--|
| <b>Adquiridas</b>  |
| <i>Miopatias inflamatórias e idiopáticas</i>   |
| <i>Miosite com corpos de inclusão</i>  |
| <b>Hereditárias</b>  |
| <i>Distrófica</i>  |
| Tardia do tipo I (Welander)<br>Tardia do tipo II (Markesbery-Griggs-Udd)<br>Precoce do tipo I (Nonaka)<br>Precoce do tipo II (Miyoshi)<br>Precoce do tipo III (Laing)<br>Distrofia muscular miotônica<br>Distrofia muscular facioescapuloumeral<br>Distrofia muscular de Emery-Dreifuss<br>Miopatia hereditária com corpos de inclusão |
| <i>Congênita</i>   |
| Miopatia miofibrilar (desmina)<br>Miopatia nemalínica<br>Miopatia do core central<br>Miopatia centronuclear<br>Desproporção congênita dos tipos de fibras  |
| <i>Doenças do armazenamento de glicogênio e lipídeos</i>   |
| Deficiência de maltase ácida<br>Deficiência da enzima de desramificação<br>Deficiência de fosforilase b quinase  |

O diagnóstico diferencial das miopatias é bastante extenso. O estabelecimento do diagnóstico correto através de dados da anamnese, exame físico e exames complementares é essencial para condução adequada dos casos. A suspeita clínica continua sendo fundamental, pois algumas vezes a análise histológica através de biópsia muscular mostram alterações distróficas inespecíficas que não ajudam a determinar qual o tipo exato de miopatia. Outras vezes até confunde o diagnóstico, como por exemplo quando o histopatológico do músculo sugere inflamação (o que pode acontecer nas distrofias musculares tipo cinturas) e inicia-se tratamento com corticosteróides pensando em polimiosite, sem melhora clínica significativa. Alguns padrões de distribuição da fraqueza e atrofia musculares são classicamente descritos no estudo das distrofias.



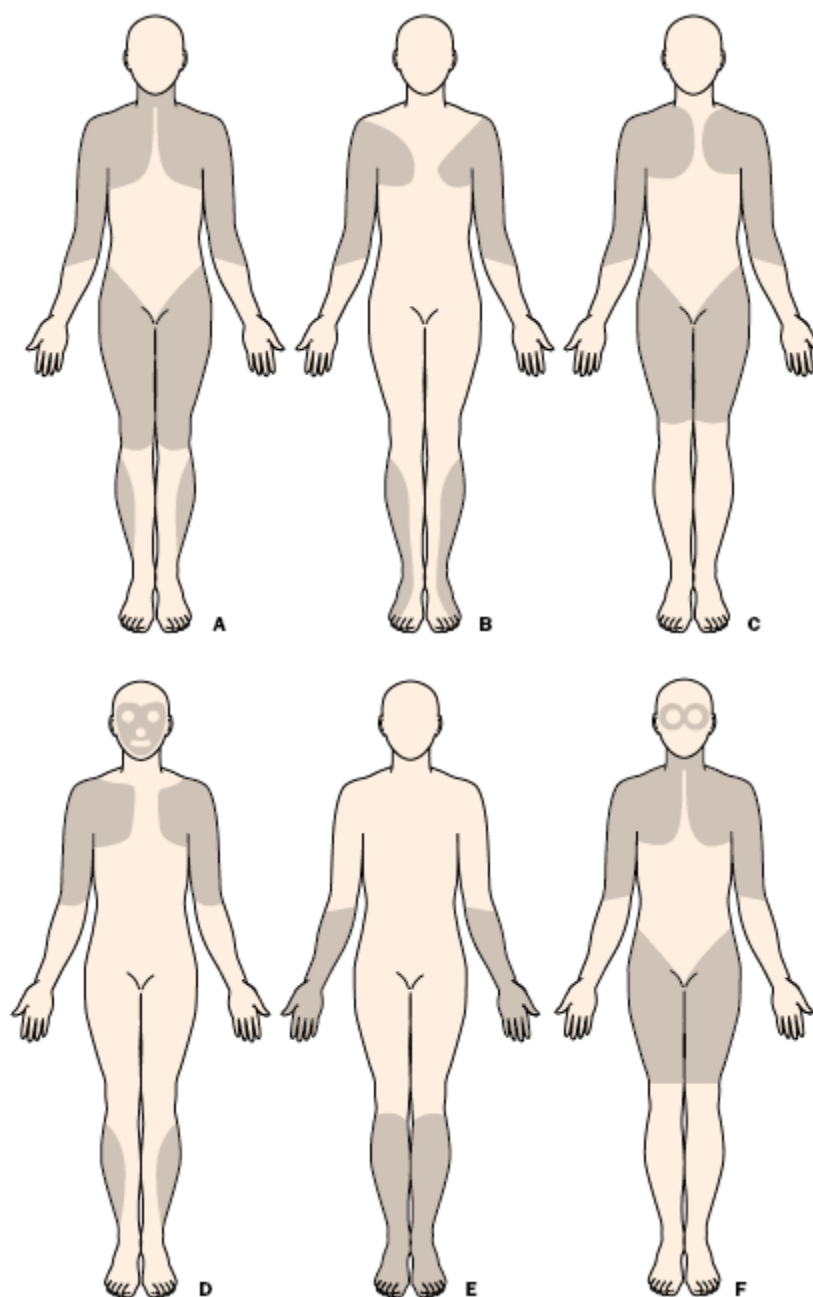


Figura 2 – Distribuição predominante da fraqueza muscular em diferentes tipos de distrofias. (A) Distrofia muscular de Duchenne / Becker; (B) Emery-Dreifuss; (C) Distrofia muscular progressiva de cinturas; (D) fascioescapuloumeral; (E) distal; (F) oculofaríngea. Adaptado de Emery AEH, The muscular dystrophies, Lancet 2002, 359: 687-95.

### **1.3. AVALIANDO SINTOMAS MUSCULARES**

#### **1.3.1. História**

A avaliação de um paciente com sintomas musculares pode ser difícil, principalmente no início do quadro quando queixas inespecíficas de fraqueza e fadiga podem não ser valorizadas. O período na evolução da doenças em que o paciente começa a perceber sintomas de fraqueza muscular dependem mais do estilo de vida de cada indivíduo do que da severidade da fraqueza. Um trabalhador braçal ou um atleta vão perceber os sintomas de forma mais precoce que indivíduos sedentários. É importante definir o padrão de fraqueza e procurar por simetria. Observações importantes no exame de pacientes com fraqueza de membros inferiores consistem em avaliar capacidade de levantar de uma cadeira e descer (fraqueza de quadríceps) ou subir (extensores do quadril) degraus. A fraqueza de cintura escapular pode afetar a capacidade de pentear os cabelos ou remover objetos pesados de prateleiras altas. A fraqueza distal de membros superiores pode afetar a capacidade de costurar ou colocar uma chave na fechadura, ou ainda abrir e fechar um zíper, por exemplo. É essencial que o próprio paciente descreva as suas perdas de habilidades ao longo do tempo, o que deve ser valorizado no seguimento de cada um. Queixas de dor também são comuns em pacientes com miopatia, especialmente nos casos mais avançados em decorrência das alterações de postura e sobrecarga das articulações (Darras, 2006).

A avaliação da história familiar também é essencial incluindo mortes precoces neonatais e abortos. Sempre que possível a causa da morte deve ser investigada. O exame dos parentes com queixas motoras, mesmo que leves,

também é importante. A pesquisa de consangüinidade e o padrão de herança na família devem ser avaliados.

### **1.3.2. Exame físico**

O exame físico dos pacientes com suspeita de miopatia deve ser extenso e já tentar afastar diagnósticos diferenciais. Deve incluir avaliação da fásccies, postura, marcha, pesquisa de espasticidade e sinais extrapiramidais, oftalmoparesia, pseudo-hipertrofia de panturrilhas, escápula alada, pesquisa de contraturas, fenômenos miotônicos e fraqueza de musculatura facial. O padrão de distribuição da fraqueza muscular deve ser considerado.

### **1.3.3. Exames complementares**

Em relação à investigação laboratorial é fundamental a dosagem sérica de enzimas musculares, que incluem: creatinoquinase total (CPK), aldolase, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e desidrogenase láctica (DHL). A mais importante é a creatinoquinase que é uma enzima sarcoplasmática liberada do músculo após lesão. Muitos indivíduos normais podem ter níveis séricos dessa enzima entre 2-300UI. O exercício em indivíduos sedentários pode produzir valores acima de 1000UI, que se mantém por até 48 horas. A repetição seriada do exame nestes casos é fundamental. Valores persistentemente elevados (acima de 1000UI) de CPK sugerem miopatia primária (Petty, 2003).

A eletromiografia é um exame importante para confirmar a suspeita de um padrão miopático. Embora na maior parte dos casos não se consiga

definir etiologia com base em achados eletromiográficos, a distribuição do padrão de fraqueza e verificação da presença de fenômenos associados (como miotonias por exemplo) pode contribuir muito para elucidação diagnóstica.

#### **1.4. PAPEL DA BIÓPSIA MUSCULAR NA INVESTIGAÇÃO DE MIOPATIAS**

A realização da biópsia muscular em pacientes com queixas de mialgia e/ou fraqueza muscular é importante para definir se a condição é uma miopatia primária ou uma desordem neuropática. Também pode determinar o diagnóstico específico em algumas situações como distrofia muscular, miopatias metabólicas ou de depósito e miopatias inflamatórias. Frequentemente mostra achados que diferenciam doença em atividade de inativa, doenças agudas de crônicas. Informações adicionais podem ser obtidas a partir de alterações ultra-estruturais vistas na microscopia eletrônica. Vários estudos bioquímicos e genéticos podem ser realizados em amostras a fresco ou congeladas de tecido muscular para medir níveis de enzimas (imunohistoquímica) e realizar estudos de DNA. A biópsia deve ser realizada em um músculo afetado, mas não severamente fraco ou atrofico. A eletromiografia pode ajudar na seleção muscular, mas o músculo que vai sofrer a biópsia não deve receber injúrias (agulha) por pelo menos três meses antes do procedimento. Para avaliação histológica é preferível obter cortes a fresco do músculo, porque os cortes com parafina não permitem avaliação completa por todos os métodos. As colorações de rotina já permitem a detecção da maior parte das alterações e incluem: H&E, tricômio, PAS (para glicogênio), ORO, fosfatase ácida (para atividade lisossomial), e vermelho-congo e cresil-

violeta (para amilóide). ATPase miosina é útil para diferenciação dos tipos de fibras. Marcadores oxidativos como o NADH, succinato desidrogenase e citocromo C oxidase são melhores para determinar deficiências enzimáticas, bem como a miofosforilase e mioadenilato deaminase. A análise histológica começa com a observação do padrão das fibras musculares, a distribuição inicial e variabilidade nos seus diâmetros. Em um músculo normal, as fibras musculares têm aparência poligonal, o núcleo está localizado na periferia e o diâmetro das fibras não varia mais do que de duas a duas vezes e meia. Menos de 3% das fibras têm núcleos internos. Existe uma estreita conexão entre os fascículos (perimísio) e entre as próprias fibras (endomísio).

Um bom marcador histológico de doença em um grande leque de condições é a excessiva variabilidade no tamanho das fibras, que podem aumentar em até dez vezes de tamanho. Um processo miopático ou neuropático crônicos aumentam as chances do núcleo migrar para o centro das fibras. Outra alteração é o *splitting* de fibras, quando uma pequena divisão na membrana ocorre e a fibra se parte em duas, geralmente porções desiguais. A necrose da fibra muscular indica atividade.

Uma variedade de marcadores imunohistoquímicos são úteis no diagnóstico de DMPC e estão disponíveis para sarcoglicanos, distroglicanos, disferlina, calpaína, merosina e caveolina. Quando os pacientes estão sob suspeita diagnóstica de DMPC, na maior parte dos centros rotineiramente se faz a pesquisa para distrofina e alfa-sarcoglicano. Se ambos forem normais, a pesquisa para outros marcadores é realizada. Se o alfa-sarcoglicano estiver muito reduzido, então o teste de DNA é necessário para diferenciar os tipos de

sarcoglicanopatia, porque neste caso a marcação para outros sarcoglicanos também costuma estar reduzida (Jaradeh, 2004).

### **1.5. DMPC – PRIMEIROS CASOS**

A distrofia muscular progressiva de cinturas (DMPC) foi descrita pela primeira vez por Erb em 1884, mas o termo DMPC foi introduzido por Walton e Natrass em 1954, quando a doença foi definida como uma variante da distrofia muscular fascioescapuloumeral sem envolvimento facial. Na época a condição foi caracterizada como: (a) idade de início geralmente tardia da primeira à terceira década de vida, mas às vezes na meia-idade; (b) início da fraqueza muscular nas cinturas pélvica ou escapular; (c) transmissão usualmente por um gene autossômico recessivo; (d) curso relativamente lento, mas que leva à incapacidade severa com morte antes da idade normal. Esta série de casos consistia em 18 pacientes de diferentes famílias não-relacionadas com sintomas, formas de apresentação e duração da doença variáveis. Os autores descreveram a DMPC como mais variável fenotipicamente do que qualquer outra forma de miopatia até então relatada.

Desde esta época a distrofia muscular de cinturas desperta interesse crescente da comunidade científica, principalmente após a introdução de métodos imunohistoquímicos para complementação da análise histológica muscular e na última década com o advento de testes genéticos e sua precisão diagnóstica.

## 1.6. CLASSIFICAÇÃO DAS DMPCs

Um dos avanços recentes mais importantes no estudo das miopatias foi o melhor conhecimento sobre a genética das DMPCs. Antes do advento das modernas técnicas de diagnóstico neuromuscular, muitos casos eram considerados como “atrofia muscular espinhal pseudo-miopática de início juvenil ou no adulto”. A classificação precisa do grupo de doenças que forma as DMPCs só se tornou possível com a disponibilidade dos testes genéticos moleculares.

As DMPCs são uma coleção numerosa de distrofias musculares com grande variabilidade de fenótipos e genótipos. Embora existam exceções, a doença geralmente afeta as cinturas pélvica e escapular e a musculatura da região proximal dos membros. Musculatura bulbar, ocular e craniana habitualmente são poupadas. A herança é autossômica, tanto dominante (tipo 1) quanto recessiva (tipo 2). Subclassificação com uma letra do alfabeto conforme a ordem de descoberta do gene caracteriza formas genéticas distintas de DMPC 1 e DMPC 2. A idade de início é variável, desde a infância até a idade adulta.

Até o presente momento, foram descritos pelo menos 20 subtipos de DMPCs (Tabela 4).

Tabela 4 – Subtipos de distrofias musculares progressivas de cinturas com respectivas alterações protéicas. (WU Neuromuscular Disease Center <http://neuromuscular.wustl.edu/musdist/lg.html>).

| <b>Subtipos</b>   | <b>Proteína alterada</b> | <b>Lócus</b> |
|-------------------|--------------------------|--------------|
| <b>Dominantes</b> |                          |              |
| 1 <sup>a</sup>    | Miotilina                | 5q31         |
| 1B                | Laminina A/C             | 1q21         |
| 1C                | Caveolina-3              | 3p25         |
| 1D                | ?                        | 7q           |
| 1E                | ?                        | 6q23         |
| 1F                | ?                        | 7q32         |
| 1G                | ?                        | 4q21         |
| <b>Recessivos</b> |                          |              |
| 2 <sup>a</sup>    | Calpaína-3               | 15q15        |
| 2B                | Disferlina               | 2p13.1       |
| 2C                | Gama-sarcoglicano        | 13q12        |
| 2D                | Alfa-sarcoglicano        | 17q21        |
| 2E                | Beta-sarcoglicano        | 4q12         |
| 2F                | Delta-sarcoglicano       | 5q33         |
| 2G                | Telotonina               | 17q11-12     |
| 2H                | TRIM32                   | 9q31-33      |
| 2I                | FKRP                     | 19q13.3      |
| 2J                | Titin                    | 2q24         |
| 2K                | POMT1                    | 9q34         |
| 2L                | ?                        | 11p13        |
| 2M                | Fukutina                 | 9q31         |



## 1.7. PROTEÍNAS DO MÚSCULO

As proteínas da contração muscular são conectadas com o lado externo da célula por um complexo de proteínas que em última instância se liga à lâmina basal. O primeiro elo dessa conexão é a proteína distrofina, que está localizada na face citoplasmática da membrana da fibra muscular. É uma proteína grande (427kD), codificada por um gene no braço curto do cromossomo X. A distrofina está relacionada à espectrina e outras proteínas estruturais e constitui-se em duas terminações separadas por uma haste longa e flexível. A extremidade amino-terminal se liga à molécula de actina, e a extremidade carboxi-terminal, que é rica em cisteína, liga a distrofina a um complexo de glicoproteínas do sarcolema. Os distroglicanos, que fazem parte desse complexo, fazem uma ligação direta da distrofina e parte da molécula de laminina, que está na superfície extracelular da membrana. O  $\alpha$ -distroglicano é uma proteína de 156kD localizada no lado externo da membrana e ligada à cadeia de laminina  $\alpha$ 2, e que também se conecta com o  $\beta$ -distroglicano que é um componente transmembrana de 43kD do complexo e também ligado à distrofina. As outras glicoproteínas são os sarcoglicanos; seis foram identificados e destes, quatro até o momento estão associados com doença muscular:  $\alpha$ -sarcoglicano (50kD),  $\beta$ -sarcoglicano (43kD),  $\gamma$ -sarcoglicano (35kD) e  $\delta$ -sarcoglicano (35kD). Eles cruzam a membrana do sarcolema, mas sua relação com os distroglicanos e sua função precisa ainda é incerta. Os sarcoglicanos são codificados por cromossomos autossômicos diferentes, nenhum está no cromossomo X. A cadeia  $\alpha$ 2 da laminina (merosina) forma uma âncora para matriz extracelular porque é através do domínio globular da

molécula que o  $\alpha$ -dístroglicano ataca a laminina. Merosina também se liga à  $\alpha\beta$ 1D integrina, um complexo protéico localizado na membrana do sarcolema. Dístrofina, sarcoglicanos, dístroglicanos e merosina parecem funcionar como uma unidade estabilizando a membrana da fibra muscular. Juntas, estas proteínas são conhecidas por complexo dístrofina-glicoproteína. Este complexo pode servir para propagar a força de contração de dentro para fora da fibra muscular e prevenir a ruptura da membrana.

Outras proteínas sarcolemas não diretamente ligadas ao complexo dístrofina-glicoproteína também podem ser afetadas em algumas formas de dístrofia muscular de cinturas (em geral díserlina e caveolina). Da mesma forma, proteínas sarcoméricas (em geral miotilina, titina e telotonina), importantes para estabilizar o aparato contráctil, sofrem mutações em certas dístrofias. Mutações no gene da protease cálcio-dependente músculo-específica (calpaína-3) também podem provocar um tipo de DMPC. Além disso, enzimas auxiliares (como O-manose- $\beta$ -1,2-N-acetilglicosaminil transferase, fukutina e proteína relacionada à fukutina), que provavelmente têm um papel na glicosilação do  $\alpha$ -dístroglicano e outras proteínas, são responsáveis por algumas formas de miopatias. Mutações em genes que codificam proteínas do envelope nuclear como emerina e laminina A/C são causas de dístrofia muscular de Emery-Dreifuss ligada ao X e autossômica dominante, respectivamente.

As proteínas associadas às dístrofias musculares podem ser classificadas conforme sua localização e função subcelular (Cohn et al, 2000), assim por exemplo existem dístrofias associadas com mutações na membrana

nuclear (distrofia muscular de Emery-Dreifuss e proteína emerina), associadas com mutações em proteínas citosólicas (DMPC 2A e proteína calpaína-3; distrofia muscular congênita de Fukuyama e proteína fukutina), associadas com alterações nas proteínas sarcoméricas (DMPC 2G e proteína telotonina), associadas com alterações no sarcolema (DMPC 1C e proteína caveolina-3; miopatia congênita e proteína alfa7-integrina; DMPC 2B, miopatia de Miyoshi e proteína disferlina) e associadas com mutações na matriz extracelular (distrofia muscular congênita e proteína laminina alfa2; miopatia de Bethlem e colágeno VI).

### **1.8. DMPCs TIPO 1**

As DMPCs autossômicas dominantes correspondem a cerca de 10% de todas as DMPCs (Bushby, 1999) e foram descritas em poucas famílias.

**DMPC 1A.** Uma grande família norte-americana descendente de alemães foi descrita com início dos sintomas na idade adulta, fraqueza proximal e disartria, este último como um sintoma atípico. CPK estava elevada em mais de nove vezes. A herança era autossômica dominante com penetrância incompleta e foi sugerido fenômeno de antecipação (Speer et al, 1998). Acredita-se que a doença ocorra em virtude de uma mutação missense no gene da miotilina no cromossomo 5q31 (Hauser et al, 2000; Speer et al, 1992). Miotilina é uma proteína sarcomérica que se liga à  $\alpha$ -actina na linha Z (Hauser et al, 2000; Salmikangas et al, 1999).

**DMPC 1B.** A doença é alélica com a distrofia muscular de Emery-Dreifuss, ambas causadas por mutações no gene *LMNA*). Na DMPC 1B, fraqueza muscular proximal, especialmente nas pernas surge no final da

infância sendo lentamente progressiva. CPK sérica é normal a levemente aumentada (van der Kooi et al, 1997). O envolvimento cardíaco é alarmante com distúrbio de condução atrioventricular necessitando da implantação de marcapasso. Mutações no gene *LMNA* no cromossomo 1q21 resulta em anormalidades das lamininas A e C, duas proteínas do envelope nuclear que são derivadas do mesmo gene por *splicing* alternado do transcrito (Muchir et al, 2000).

**DMPC 1C.** Início na infância, fraqueza muscular proximal, hipertrofia de panturrilhas e câimbras. Ligada ao cromossomo 3p25 em duas famílias (Minette et al, 1998). O gene responsável é o *CAV3*, que codifica a proteína muscular específica caveolina-3, principal componente de pequenas invaginações do sarcolema. A caveolina está associada à distrofina e à óxido nítrico sintase neuronal (McNally et al, 1998).

## 1.9. DMPCs TIPO 2

A maiorias das DMPCs tem modo de herança recessivo. São frequentemente classificadas em sarcoglicanopatias (DMPC2C-2F) e não-sarcoglicanopatias.

**DMPC 2A.** É a mais comum das DMPCs e foi a primeira que teve a análise do seu *linkage* cromossômico completa com sucesso (Beckmann et al, 1991). O padrão clássico envolve fraqueza escapular e de musculatura proximal dos membros e tronco. Uma postura característica com lordose, quadris abduzidos, joelhos hiperextendidos e apoio nas bordas laterais dos pés é típica (Pollitt et al, 2001). Início com fraqueza leve e contraturas dos

tornozelos e dedos foi descrita (Pollitt et al, 2001). Fraqueza dos músculos da face é rara. A época de início é variável, mas geralmente é no final da infância ou adolescência com evolução lenta. A CPK sérica usualmente está acima de 1000U/L (Chou et al, 1999). Não há alterações cognitivas ou cardíacas associadas.

A doença ocorre devido a mutações no *CAPN3*, o gene da calpaína-3 músculo-específica, localizado no cromossomo 15q15.1-q21.1 (Richard et al, 1999). A calpaína-3 é uma protease cálcio-sensível, não-lisossômica que se associa com a titina nas miofibrilas. Aproximadamente 100 mutações distintas foram relatadas no *CAPN3*, incluindo deleções, *nonsense*, *missense* e *splicing*, sem *hot spots* de mutações freqüentes (Richard et al, 1999). Isto torna a análise de mutações no *CAPN3*, que cobre uma região genômica de aproximadamente 40kb, impraticável para uso clínico rotineiro. Infelizmente, os anticorpos contra a proteína também não são úteis na imunohistoquímica e o diagnóstico molecular geralmente depende da realização do Western blotting disponível em apenas alguns poucos laboratórios de pesquisa.

**DMPC 2B.** Pacientes apresentam predomínio de fraqueza proximal de membros. Em contraste com as calpainopatias, a presença de escápula alada e contraturas são raras (Bushby, 1999). A CPK sérica geralmente está muito elevada (50 a 100 vezes o valor normal). O início é no final da adolescência ou começo da idade adulta, com progressão lenta. Não é relatada associação com desordens cognitivas ou cardíacas.

A doença ocorre por mutações no gene *DYSF* no cromossomo 2p13 que codifica como produto a proteína disferlina (Bachir et al, 1994; Bachir et al,

1998). Disferlina é uma proteína sarcolemal grande (230kD) que parece interagir com a caveolina-3. Devido ao grande número de mutações, a pesquisa de ausência ou redução da disferlina por imunoblot ou imunohistoquímica são os principais métodos de diagnóstico molecular. Um segundo fenótipo pode ser causado por mutações no gene DYSF e se distingue do padrão de cinturas da DMPC 2B. A miopatia de Miyoshi, caracterizada por atrofia distal predominante do compartimento posterior das pernas ocorre por mutações do gene da disferlina. Esta marcante diversidade clínica é relatada em algumas famílias.

**DMPC 2C** (gama-sarcoglicanopatia). Antigamente conhecida como distrofia muscular autossômica recessiva severa da infância, esta doença tem um fenótipo de acentuada fraqueza muscular, embora variações devido a fatores epigênicos possam ocorrer (McNally et al, 1996). Os pacientes têm início de fraqueza na infância precoce e por volta dos 10 a 15 anos de idade estão dependentes de cadeira de rodas e podem desenvolver cifoescoliose e insuficiência respiratória (Angelini et al, 1999). Envolvimento cardíaco é relatado (Calvo et al, 2000). A doença ocorre por várias mutações no gene da proteína gama-sarcoglicano (35kD) no cromossomo 13q13 (Nogauchi et al, 1995). A imunohistoquímica do espécime da biópsia muscular mostra perda completa da proteína no sarcolema com imunomarcção variável para outros sarcoglicanos.

**DMPC 2D** (alfa-sarcoglicanopatia). É a mais comum das sarcoglicanopatias. Início usualmente na infância com fraqueza precoce em membros inferiores e escápulas aladas. Hipertrofia de panturrilhas é comum. A

CPK está geralmente muito elevada. A progressão pode levar rapidamente à insuficiência respiratória (Angelini et al, 1999). Coração e cérebro são habitualmente poupados, embora haja relato de alguns pacientes com cardiomiopatia dilatada. A doença ocorre por mutações no gene do alfa-sarcoglicano, também conhecido como adalina, ligado ao cromossomo 17q21 (Roberds et al, 1994). Muitas mutações recorrentes têm sido descritas, cerca de 50% associadas a uma mutação missense isolada, C229T, na região que codifica o domínio citoplasmático da proteína. A biópsia muscular mostra redução severa do alfa-sarcoglicano com redução variável das outras proteínas do complexo (Pogue et al, 2001). Também já foi descrito um fenótipo mais leve, de início mais tardio, com progressão lenta e preservação da capacidade de deambular, que pode estar associado com uma expressão residual do alfa-sarcoglicano (Angelini et al, 1999).

**DMPC 2E** (beta-sarcoglicanopatia). Variabilidade fenotípica inter e intra-familiar foram relatadas em pacientes com mutações no gene da proteína beta-sarcoglicano no cromossomo 4q12 (Bushby et al, 1999). Um fenótipo severo inicia-se na infância com perda da deambulação na adolescência. Fraqueza de cinturas pélvica e escapular é associada com hipertrofia de panturrilhas. A CPK está muito elevada. Famílias com fenótipo mais leve também já foram descritas, com início dos sintomas na idade adulta e perda de marcha após a meia-idade (Duclos et al, 1998). A imunohistoquímica do músculo geralmente mostra redução severa em todos os componentes do complexo sarcoglicano.

**DMPC 2F** (delta-sarcoglicanopatia). Mutações no gene delta-sarcoglicano no cromossomo 5q33 são raras. O fenótipo é geralmente muito severo e parecido com a distrofia muscular de Duchenne com início na infância precoce, perda da capacidade de deambular na adolescência e óbito antes da terceira década de vida (Nigro et al, 1996). Pode acontecer cardiomiopatia por deficiência de delta-sarcoglicano, como demonstrado em modelos animais (Nigro et al, 1997; Sakamoto et al, 1997).

**DMPC 2G.** Em duas famílias brasileiras, fraqueza muscular proximal e queda do pé estão ligadas ao cromossomo 17q12. Início ocorre no final da infância ou começo da adolescência com rápida progressão para perda da capacidade de deambular. A mutação está no gene para telotonina (Moreira et al, 2000), que é uma proteína sarcomérica localizada na linha Z e funciona como substrato para a titina quinase, uma grande proteína sarcomérica importante para a construção do sarcômero (Valle et al, 1997).

**DMPC 2H.** A doença tem sintomas relativamente leves, de progressão lenta e foi descrita em algumas famílias norte-americanas (Weiler et al, 1998). A mutação responsável por esta patologia foi proposta no gene *TRIM32* (*tripartite-motif-containing gene 32*), que codifica a E3-ubiquitina-ligase (Frosk et al, 2002).

**DMPC 2I.** A doença é mapeada no cromossomo 19q13.3 e foi descrita originalmente em uma família da Tunísia (Driss et al, 2000). Nesta família, uma forma leve de fraqueza muscular de cinturas, principalmente pélvica, com variabilidade de início e progressão da doença, mas com a maioria dos pacientes ainda deambulando na terceira década de vida. Outros



casos de DMPC 2I foram descritos, com início dos sintomas variando da infância à idade adulta, CPK de 10 a 50 vezes o valor normal, fraqueza predominante de musculatura pélvica, hipertrofia de panturrilhas e ocasionalmente cardiomiopatia (Brockington et al, 2001).

A Tabela 5 ilustra os principais subtipos recessivos de DMPC.

Tabela 5 – Comparação entre principais subtipos recessivos de distrofia muscular progressiva de cinturas.

| <b>Subtipo DMPC</b> | <b>Quadro clínico</b>                            | <b>Diagnóstico diferencial</b> | <b>Masculino/ Feminino</b> | <b>Envolvimento cardíaco</b> | <b>CPK</b>                  |
|---------------------|--|--------------------------------|----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| <b>2A</b>           | Fraqueza escapular; cintura pélvica e tronco     | DFEU; DMPC 2I                  | 1:1                        | Não                          | Normal a elevada 80 vezes   |
| <b>2B</b>           | Início no final da adolescência ou adulto jovem  | Miyoshi                        | 1:2                        | Não                          | Elevada 10 a 72 vezes       |
| <b>2C</b>           | Severidade leve a Duchenne-like                  | Duchenne                       | 2:1                        | Ocasional                    | Elevada 10 a 60 vezes       |
| <b>2D</b>           | Início na infância; severidade variável          | Duchenne                       | 2:1                        | Raro                         | Maior que 20 vezes o normal |
| <b>2E</b>           | Fenótipo em geral severo; início na infância     | Duchenne                       | 1:1                        | Ocasional                    | Maior que 20 vezes o normal |
| <b>2F</b>           | Fraqueza proximal, simétrica; início na infância | Duchenne                       | 1:1                        | Raro                         | Elevada 10 a 50 vezes       |

DFEU: distrofia muscular fascioescapuloumeral; DMPC: distrofia muscular progressiva de cinturas; CPK: creatinofosfoquinase total

### 1.10. GENÉTICA E DMPCs

Desde a clonagem da distrofina no final da década de 80, vem se acumulando rapidamente conhecimento sobre os mecanismos moleculares do músculo normal e patológico. A base genética da maior parte das doenças musculares hereditárias é bem estabelecida e o conhecimento das interações protéicas no músculo abre portas para pesquisa nessa área. Os testes genéticos melhoraram a capacidade de diagnóstico, mas o conhecimento da heterogeneidade genotípica e fenotípica das distrofias musculares e outras miopatias hereditárias confundiu a fronteira entre alguns subtipos. Por exemplo, mutações no gene da disferlina podem produzir tanto fenótipo de distrofia muscular progressiva de cinturas tipo 2B com fraqueza proximal como fenótipo de miopatia de Miyoshi com fraqueza inicial distal na mesma família.

As DMPC são uma coleção numerosa de distrofias musculares com grande variabilidade de fenótipos e genótipos. Embora existam exceções, a doença geralmente afeta as cinturas pélvica e escapular e a musculatura da região proximal dos membros. Musculatura bulbar, ocular e craniana habitualmente são poupadas. A herança é autossômica, tanto recessiva quanto dominante. O diagnóstico genético das DMPC ainda é complexo. Exceto pela DMPC 2D existem poucas mutações recorrentes para que seja feito um *screening* efetivo. O diagnóstico molecular é usualmente realizado pela análise protéica, pelo Western blot ou imunohistoquímica nos espécimes da biópsia muscular. No entanto, este processo não está isento de erro. Por exemplo, mutações missense da miotilina (DMPC 1A) podem não levar à redução ou ausência desta proteína. A ausência da proteína pode ser secundária à

mutações no gene de uma proteína associada, como nas sarcoglicanopatias (DMPC 2C-F) (Wagner, 2002). Ainda assim, a análise imunohistoquímica do músculo ainda é o melhor método diagnóstico disponível na maior parte dos centros de saúde dos países em desenvolvimento, onde o acesso a testes genéticos é restrito a poucos serviços. Sempre que possível, a associação entre os dois métodos com investigação seqüenciada (imunohistoquímica e estudo genético) aumenta a precisão diagnóstica. Um algoritmo útil para análise foi proposto por Pogue et al em 2001, como representa a Figura 3.

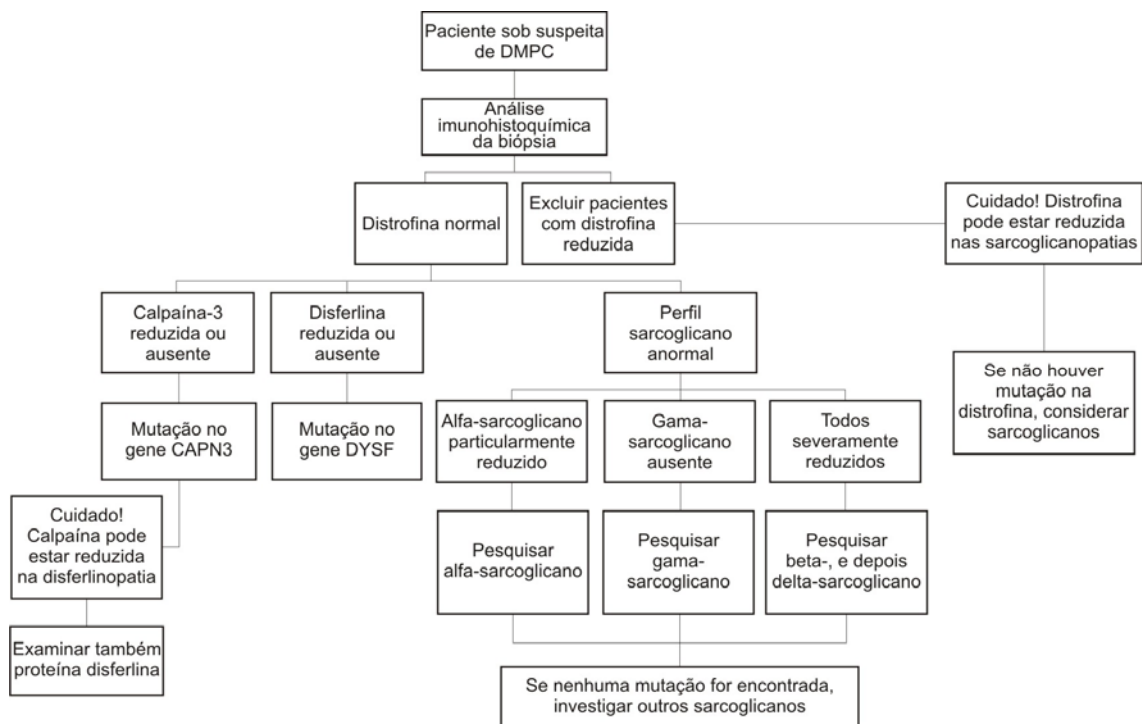


Figura 3 – Fluxograma para análise imunohistoquímica e investigação genética de paciente com suspeita de distrofia muscular progressiva de cinturas.

## **2. OBJETIVOS**

Diante da escassez de estudos sobre a caracterização clínica das distrofias musculares de cinturas no Brasil e, principalmente, no Nordeste brasileiro, este trabalho, de caráter epidemiológico, tem por objetivos:

Gerais:

1) Caracterizar clinicamente os pacientes com fenótipo de distrofia muscular de cinturas recessivas no Estado do Ceará, através de amostra atendida em serviço de Neurologia de referência.

Específicos:

2) Classificar os tipos mais comuns de DMPCs recessivas no Estado do Ceará, através da análise do resultado da imunohistoquímica nas biópsias musculares.

3) Avaliar a história familiar de cada paciente com DMPC através da construção de heredogramas e definição do padrão de herança.

4) Caracterizar a distribuição geográfica das famílias afetadas no Estado do Ceará.

5) Selecionar pacientes com DMPCs para possíveis estudos genéticos futuros e pesquisa de novas mutações associadas à doença.

### **3. PACIENTES E MÉTODOS**



### 3.1. PACIENTES

Foram analisados dados clínicos, laboratoriais e de biópsia muscular de pacientes atendidos no ambulatório de Neurologia do Hospital Universitário Walter Cantídio – Universidade Federal do Ceará com diagnóstico de distrofia muscular progressiva de cinturas. Todos os pacientes possuíam extensa investigação com resultados de dosagem sérica de enzimas musculares (CPK, aldolase), eletroneuromiografia e biópsia muscular com estudo imunohistoquímico.

Foi oferecido para todos os pacientes com DMPCs vistos no referido ambulatório a possibilidade da participação no projeto. A participação foi voluntária e sem compensação monetária. Cada participante só foi incluído após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Os participantes foram informados que poderiam abandonar o estudo a qualquer momento durante o seguimento, sem nenhum prejuízo sobre o seu tratamento médico ambulatorial/hospitalar e que teriam livre acesso aos formulários de coleta de dados e todos os eventuais achados da pesquisa.

Os possíveis riscos para a participação no estudo foram minimizados pela participação voluntária e confirmada por consentimento de cada participante. O manejo clínico ambulatorial continua sendo feito seguindo as normas de cada ambulatório, independente da participação ou não no estudo.

### **3.2. ÉTICA**

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Walter Cantídio / Universidade Federal do Ceará. Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, autorizando o uso de informações do prontuário e de exames complementares, bem como de fotografias para fins científicos.

### **3.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO**

Todos os pacientes apresentavam fraqueza muscular progressiva de predomínio em cinturas pélvica e/ou escapular sem envolvimento de musculatura facial; biópsia muscular com padrão miopático ou distrófico e imunohistoquímica positiva para distrofina. Apenas os pacientes naturais do estado do Ceará foram incluídos.

### **3.4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO**

Foram excluídos do estudo os pacientes com fraqueza de musculatura facial, fenômenos miotônicos, imunohistoquímica do músculo negativa para distrofina; ou quaisquer outros achados clínicos, laboratoriais ou de biópsia muscular sugestivos de outros tipos de distrofias musculares, como Duchenne/Becker, facioescapuloumeral ou miotônica. Também foram excluídos os pacientes com história familiar sugerindo padrão de herança autossômico dominante.

### **3.5. AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS PACIENTES**

A avaliação dos pacientes incluiu: idade, gênero, duração da doença, história familiar e presença ou não de consangüinidade, padrão de envolvimento muscular (fraqueza muscular proximal, distal ou ambos; comprometimento de membros superiores, inferiores ou ambos), capacidade de deambulação (dependência ou não de cadeira de rodas), níveis séricos de CPK e aldolase, presença ou não de distúrbios eletrocardiográficos. A distribuição geográfica no Estado do Ceará por municípios e microrregiões também foi avaliada. A seguinte ficha de avaliação foi utilizada:

**DISTROFIA MUSCULAR PROGRESSIVA DE CINTURAS TIPO 2: PERFIL  
EPIDEMIOLÓGICO NO ESTADO DO CEARÁ  
FICHA DE AVALIAÇÃO**

**Nome:**

**Idade:**

**Naturalidade:**

**Procedência:**

**Gênero: M / F**

**Imunohistoquímica:** alterada / normal / inconclusiva

**DMPC tipo:**

**Fraqueza muscular:** proximal / distal / ambos

MMSS / MMII / 4 membros

escápulas aladas / pseudo-hipertrofia de panturrilhas

**Dependente de cadeira de rodas:** sim / não

**História familiar:**

**Consangüinidade:** sim / não

**CPK:**

**Alterações ECG:**

**Severidade da doença:** benigna / moderada / intermediária / severa

**Herança:** recessiva / dominante / esporádica

### **3.6. CLASSIFICAÇÃO DA SEVERIDADE DA DOENÇA**

Para classificação da severidade do acometimento muscular foram adotados critérios propostos por Dinçer et al, 2000, que são: severa (início na infância e incapacidade similar à distrofia muscular de Duchenne), intermediária (início na infância e incapacidade similar à distrofia muscular de Becker), moderada (início na idade adulta e o paciente apresenta incapacidade de qualquer grau) e benigna (início na idade adulta e o paciente não apresenta incapacidade). Nesta última forma, o paciente apresenta apenas uma fraqueza leve e mantém a capacidade de realizar todas as atividades de vida diária de modo independente.

### **3.7. DETERMINAÇÃO DO PADRÃO DE HERANÇA**

Quanto ao padrão de herança, foi considerada herança autossômica recessiva quando o paciente tinha pelo menos um irmão afetado e os pais não eram afetados ou quando houve história de casamentos consanguíneos na família. Padrão de herança autossômico dominante foi considerado quando o paciente tinha pelo menos um parente afetado em cada geração da família. Foi definido padrão esporádico quando o paciente era o único membro afetado da família e não havia história de consanguinidade. Foram incluídos no estudo apenas os casos de herança autossômica recessiva e esporádica.

### **3.8. EXAMES COMPLEMENTARES**

Todos os pacientes realizaram estudos de condução nervosa e eletromiografia. Pacientes com estudo de condução nervosa alterado ou com

achados eletromiográficos sugestivos de fenômenos miotônicos foram excluídos. A biópsia muscular foi realizada em todos os casos pelo médico patologista Cleto Dantas Nogueira, que também foi o responsável pela análise imunohistoquímica. A técnica utilizada foi biópsia aberta padrão sob anestesia local. Análise histológica e imunohistoquímica foram realizadas em todos os casos. Os espécimes de músculo foram imunomarcados para distrofina usando anticorpo monoclonal de rato IgG1 (NCL-DYS1, DYS2 e DYS3) que reage contra as porções carboxi e amino-terminal da distrofina. O anticorpo alfa-sarcoglicano é um anticorpo monoclonal murino de IgG1 (NCL-a-SARC) contra adalina e pertence a um clone de Ad1/20A6. Anticorpos beta, gama e delta-sarcoglicanos também são anticorpos monoclonais do grupo IgG1. Se no estudo imunohistoquímico os achados até este ponto fossem normais, os espécimes de músculo eram em seguida imunomarcados para disferlina, emerina, merosina e miotilina.

### **3.9. PROTOCOLO DE CONSANGUINIDADE**

Como a prevalência de doenças genéticas autossômicas recessivas, incluindo as DMPCs, é grande no Estado do Ceará, acredita-se na influência do comum hábito em nosso meio de casamentos consangüíneos para justificar tal achado. Para avaliar a prevalência de consangüinidade em uma comunidade do interior do Estado foi realizado um inquérito na população-alvo. O pesquisador principal viajou para uma cidade interiorana (Quixeramobim-CE, centro geográfico do Estado) e foi realizado um levantamento porta-a-porta em um total de 156 residências de forma aleatória. A seguinte pergunta foi feita em

todas as residências: Existe algum grau parentesco entre o casal proprietário desta ou responsável por esta casa? Se existe, qual o grau de parentesco? Desta forma, a amostra populacional foi dividida em dois grupos: (1) presença de consaguinidade; (2) ausência de consangüinidade. O primeiro grupo foi subdividido em: (a) primos de primeiro grau; (b) primos de segundo grau. Entre os casamentos consangüíneos foi considerada ainda a idade dos cônjuges. O casal foi considerado jovem quando pelo menos um dos membros tinha idade menor ou igual a 40 anos; e foi considerado não-jovem quando ambos os membros tinham mais de 40 anos de idade.

## **4. RESULTADOS**



Foram encontrados 41 pacientes (25 mulheres e 16 homens) nascidos no Estado do Ceará de 32 famílias não-relacionadas com raízes ancestrais no Nordeste brasileiro (Figura 4). A média de idade foi  $35,8 \pm 2,7$  anos (variando de 10 a 75 anos). O tempo médio de duração da doença foi  $18,9 \pm 1,8$  anos (variando de 3 a 45 anos).

Vinte famílias (62,5%) apresentaram história de casamentos consangüíneos e doze famílias (37,5%) negaram consangüinidade (Figura 5). O padrão de herança foi autossômico recessivo em vinte e cinco famílias e esporádico em sete pacientes. Depois do estudo imunohistoquímico, os subtipos de DMPC foram classificados da seguinte forma: onze pacientes (de onze famílias não-relacionadas) apresentaram sarcoglicanopatia (SGP); treze pacientes (de nove famílias não-relacionadas) apresentaram disferlinopatia (DFP); dez pacientes (de oito famílias não-relacionadas) não mostraram deficiências específicas entre as proteínas pesquisadas e em sete pacientes (de quatro famílias não-relacionadas) a imunohistoquímica foi inconclusiva por causa do grave comprometimento muscular (Figura 6). Entre os pacientes com SGP, dois apresentavam gama-SGP; nos outros não foi possível identificar o subtipo. A Tabela 6 ilustra os achados clínicos nos pacientes com DMPCs. Diferenças clínicas entre pacientes com SGP e DFP estão representadas na Tabela 7.

Dezessete famílias apresentaram dois ou mais membros afetados e quinze delas tinham história de outros membros afetados além dos pacientes deste estudo. Os heredogramas destas famílias estão representados na Figura 8.

O sinal do “diamante no quadríceps” foi observado em um paciente com deficiência de disferlina (Figura 9).

Alterações eletrocardiográficas foram encontradas em 10 pacientes, dos quais seis apresentavam SGP. Os distúrbios eletrocardiográficos mais comuns foram hipertrofia ventricular esquerda e bloqueio de ramo direito (encontrados em quatro pacientes com SGP).

Os achados histológicos estão representados na Tabela 8. Fibras arredondadas e anguladas com variação acentuada no diâmetro, predomínio de fibras atroficas, *splitting* discreto de fibras, necrose ausente a discreta e aumento do tecido conectivo foram os achados mais comuns. Alterações inflamatórias foram observadas em alguns casos.

A prevalência da doença nas diferentes microrregiões do Ceará é relativamente uniforme no interior do Estado, embora haja prevalência um pouco aumentada na região metropolitana de Fortaleza. A Figura 10 ilustra a distribuição geográfica das famílias com DMPC no Estado do Ceará.

Em relação à pesquisa de consangüinidade em uma amostra populacional aleatória em cidade do interior do Estado, foi realizado o inquérito em 156 residências / casais. Destes, em 23 casos (14,7%) houve relato de consangüinidade (Figura 11), sendo 7 casais primos de primeiro grau e 16 casais primos de segundo grau. Do total de casais consangüíneos, nove (39%) foram considerados jovens e 14 (61%) foram considerados não-jovens.

As Figuras 12 a 15 ilustram achados clínicos comuns nas formas recessivas de DMPC encontradas no estudo.

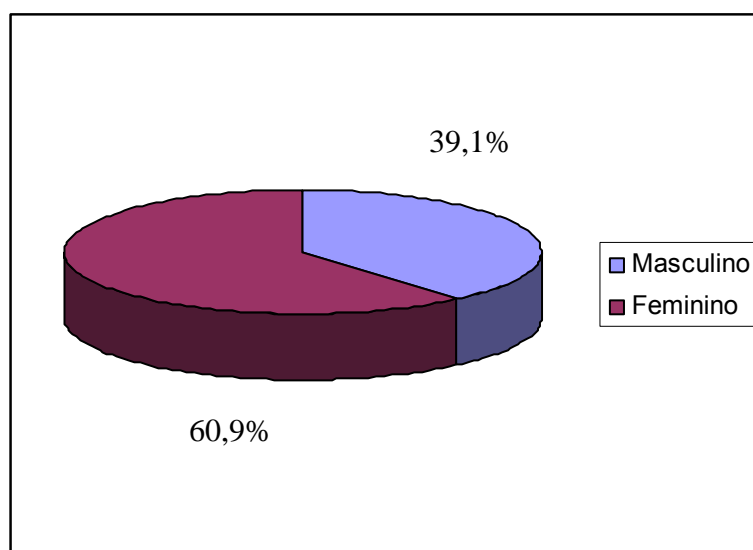


Figura 4 – Distribuição dos pacientes com distrofia muscular progressiva de cinturas atendidos no ambulatório de Neurologia do Hospital Universitário Walter Cantídio quanto ao gênero.

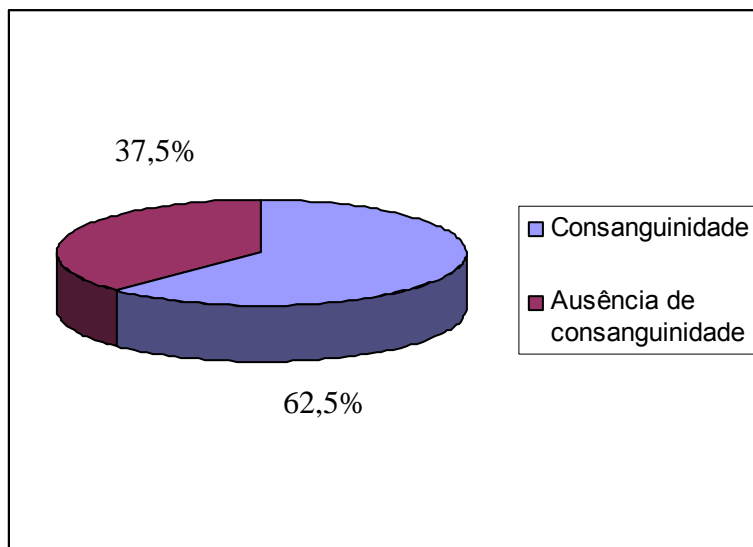


Figura 5 – Presença de consanguinidade entre as 32 famílias com distrofias musculares progressivas de cinturas atendidas no ambulatório de Neurologia do Hospital Universitário Walter Cantídio.

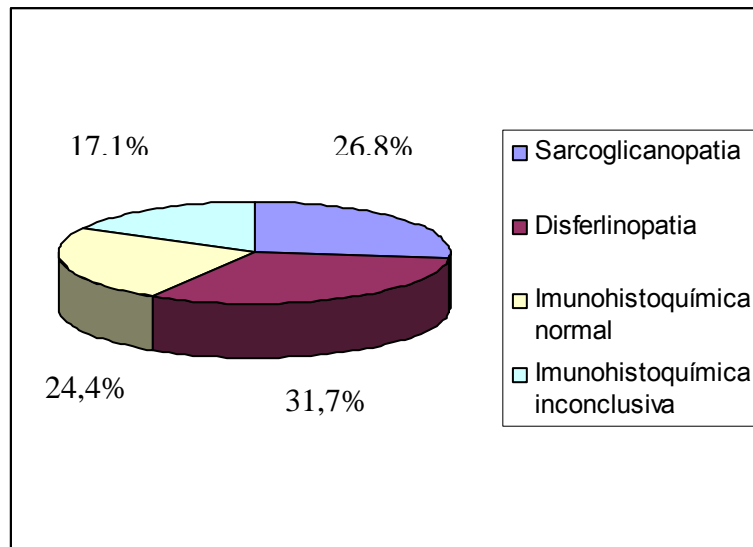


Figura 6 – Distribuição dos 41 pacientes com diagnóstico clínico de distrofia muscular progressiva de cinturas em relação ao resultado da análise imunohistoquímica da biópsia muscular.

Tabela 6 - Achados clínicos nos pacientes com distrofia muscular progressiva de cinturas atendidos no ambulatório de Neurologia do Hospital Universitário Walter Cantídio / Universidade Federal do Ceará.

| Famílias | Pacientes | Proteína muscular deficiente | Sexo | Idade (anos) | Duração da doença (anos) | História familiar | Pais consangüíneos | Escápulas aladas | Hipertrofia de panturrilhas | Dependência de cadeira de rodas | Evolução / Severidade | Herança |
|----------|-----------|------------------------------|------|--------------|--------------------------|-------------------|--------------------|------------------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------|---------|
| 1        | 1         | sarcoglicano                 | F    | 13           | 10                       | N                 | S                  | S                | S                           | N                               | intermediária         | AR      |
| 2        | 2         | sarcoglicano                 | M    | 10           | 8                        | N                 | N                  | S                | N                           | S                               | severa                | E       |
| 3        | 3         | sarcoglicano                 | F    | 22           | 15                       | N                 | S                  | S                | N                           | S                               | severa                | AR      |
| 4        | 4         | sarcoglicano                 | F    | 11           | 4                        | S                 | S                  | N                | N                           | N                               | intermediária         | AR      |
| 5        | 5         | sarcoglicano                 | M    | 11           | 5                        | N                 | S                  | S                | N                           | S                               | severa                | AR      |
| 6        | 6         | sarcoglicano                 | M    | 18           | 17                       | N                 | N                  | S                | S                           | S                               | severa                | E       |
| 7        | 7         | sarcoglicano                 | F    | 38           | 29                       | N                 | N                  | S                | N                           | S                               | Intermediária         | E       |
| 8        | 8         | sarcoglicano                 | F    | 14           | 8                        | N                 | N                  | S                | S                           | S                               | severa                | E       |
| 9        | 9         | sarcoglicano                 | F    | 10           | 8                        | S                 | S                  | N                | S                           | N                               | severa                | AR      |
| 10       | 10        | sarcoglicano                 | M    | 42           | 10                       | N                 | S                  | S                | S                           | S                               | moderada              | AR      |
| 11       | 11        | sarcoglicano                 | F    | 23           | 17                       | S                 | N                  | S                | N                           | S                               | severa                | AR      |
| 12       | 12        | disferlina                   | M    | 37           | 15                       | S                 | N                  | S                | N                           | N                               | moderada              | AR      |
| 13       | 13        | disferlina                   | F    | 59           | 11                       | S                 | S                  | S                | N                           | N                               | moderada              | AR      |
|          | 14        | disferlina                   | M    | 45           | 20                       | S                 | S                  | S                | N                           | N                               | moderada              | AR      |
| 14       | 15        | disferlina                   | F    | 70           | 35                       | S                 | S                  | S                | N                           | S                               | moderada              | AR      |
| 15       | 16        | disferlina                   | F    | 61           | 26                       | N                 | N                  | S                | N                           | S                               | moderada              | E       |
| 16       | 17        | disferlina                   | M    | 49           | 37                       | S                 | S                  | S                | N                           | S                               | intermediária         | AR      |
| 17       | 18        | disferlina                   | F    | 40           | 29                       | S                 | S                  | S                | N                           | S                               | intermediária         | AR      |
|          | 19        | disferlina                   | M    | 33           | 20                       | S                 | S                  | S                | N                           | S                               | intermediária         | AR      |
| 18       | 20        | disferlina                   | F    | 33           | 11                       | S                 | S                  | N                | N                           | N                               | moderada              | AR      |
|          | 21        | disferlina                   | M    | 25           | 3                        | S                 | S                  | N                | N                           | N                               | moderada              | AR      |
| 19       | 22        | disferlina                   | F    | 23           | 15                       | N                 | S                  | S                | N                           | S                               | intermediária         | AR      |
| 20       | 23        | disferlina                   | F    | 24           | 6                        | S                 | N                  | N                | N                           | N                               | benigna               | AR      |
|          | 24        | disferlina                   | F    | 40           | 8                        | S                 | N                  | N                | N                           | N                               | moderada              | AR      |

|    |    |              |   |    |    |   |   |   |   |   |               |    |
|----|----|--------------|---|----|----|---|---|---|---|---|---------------|----|
| 21 | 25 | nenhuma      | F | 28 | 14 | S | S | N | N | N | moderada      | AR |
|    | 26 | nenhuma      | F | 43 | 16 | S | S | N | N | N | moderada      | AR |
| 22 | 27 | nenhuma      | F | 50 | 37 | N | S | N | N | N | intermediária | E  |
| 23 | 28 | inconclusivo | M | 40 | 22 | S | S | S | N | S | moderada      | AR |
|    | 29 | inconclusivo | F | 38 | 6  | S | S | N | N | N | benigna       | AR |
| 24 | 30 | nenhuma      | M | 39 | 22 | S | N | S | N | N | benigna       | AR |
|    | 31 | nenhuma      | M | 24 | 10 | S | N | S | N | N | benigna       | AR |
| 25 | 32 | nenhuma      | M | 56 | 36 | N | S | S | N | S | moderada      | AR |
| 26 | 33 | nenhuma      | F | 58 | 40 | S | S | N | N | N | moderada      | AR |
| 27 | 34 | nenhuma      | F | 37 | 8  | N | S | N | S | N | moderada      | AR |
| 28 | 35 | nenhuma      | M | 50 | 18 | N | S | S | N | S | moderada      | AR |
| 29 | 36 | inconclusivo | M | 20 | 11 | S | S | S | S | N | intermediária | AR |
| 30 | 37 | inconclusivo | F | 67 | 37 | S | S | N | N | S | moderada      | AR |
|    | 38 | inconclusivo | F | 75 | 45 | S | S | N | N | S | moderada      | AR |
| 31 | 39 | inconclusivo | F | 26 | 20 | S | N | S | N | S | severa        | AR |
|    | 40 | inconclusivo | M | 27 | 22 | S | N | S | N | S | severa        | AR |
| 32 | 41 | nenhuma      | F | 40 | 11 | N | N | S | S | S | moderada      | E  |

S: sim; N: não; AR: autossômica recessiva; E: esporádica; F: feminino; M: masculino.

Tabela 7. Comparação entre achados clínicos de sarcoglicanopatias e disferlinopatias no Estado do Ceará, Brasil.

|                          | SGP (N=11)       | DFP (N=13)       |
|--------------------------|------------------|------------------|
| Idade (anos)             | 19,3±5,8         | 41,5±4,1         |
| Duração da doença (anos) | 11,9±2,2         | 18,1±3,0         |
| Consanguinidade (%)      | 54,5             | 69,2             |
| Aldolase (U/L)           | 19,5±5,1         | 12,0±2,8         |
| Creatino quinase (U/L)   | 4684,9±1193,5    | 1735,8±500,2     |
| Perda de marcha (%)      | 72,7             | 46,1             |
| Alterações no ECG (%)    | 54,5             | 7,7              |
| Herança (%)              | AR:63,6 ; E:36,4 | AR:84,6 ; E:15,4 |

AR: autossômica recessiva; E: esporádica; ECG: eletrocardiograma



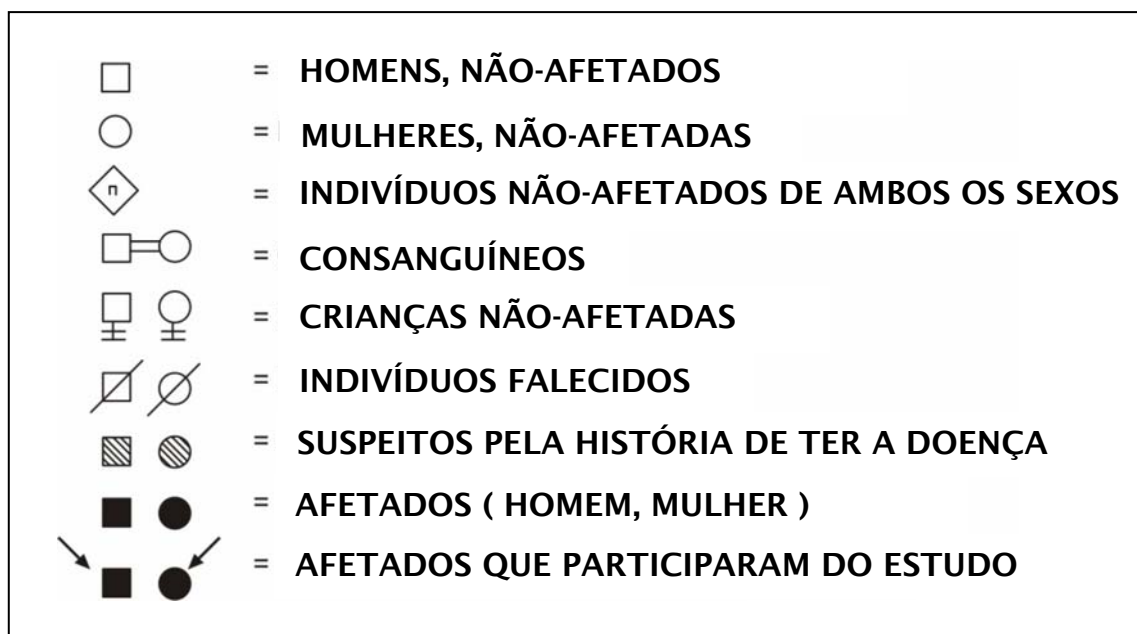


Figura 7 – Símbolos utilizados nos heredogramas da figura 8.

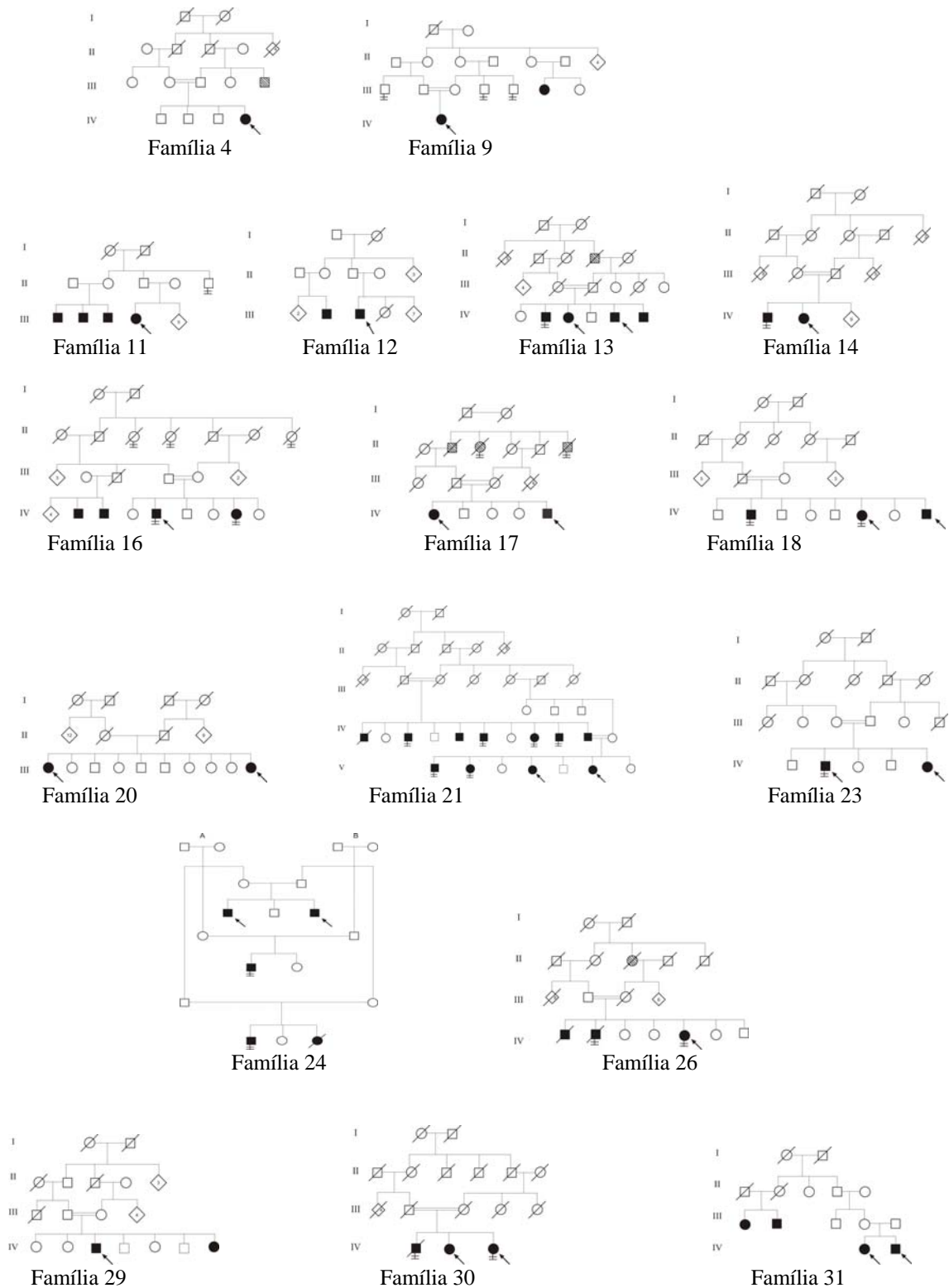


Figura 8 – Heredogramas das famílias com distrofia muscular progressiva de cinturas com dois ou mais membros afetados.



Figura 9 – Sinal do “diamante no quadríceps” no paciente 21.

Tabela 8. Achados histológicos nas biópsias musculares de pacientes com distrofia muscular progressiva de cinturas.

| Achados histológicos            | Padrão de envolvimento das fibras (N=41) |            |                |            |
|---------------------------------|--|------------|----------------|------------|
|                                 | acentuado/difuso                         | moderada   | discreta/focal | Ausente    |
| Varição no diâmetro das fibras  | 38 (92.7%)                               | 3 (7.3%)   | 0              | 0          |
| Fibras atróficas                | 20 (48.8%)                               | 16 (39.0%) | 5 (12.2%)      | 0          |
| Fibras hipertróficas            | 2 (4.9%)                                 | 11 (26.8%) | 22 (53.7%)     | 6 (14.6%)  |
| <i>Splitting</i> de fibras      | 0  | 10 (24.4%) | 20 (48.8%)     | 11 (26.8%) |
| Fibras arredondadas e anguladas | 39 (95.1%)                               | 0          | 2 (4.9%)       | 0          |
| Necrose                         | 5 (12.2%)                                | 3 (7.3%)   | 16 (39.0%)     | 17 (41.5%) |
| Núcleo central                  | 0  | 4 (9.8%)   | 23 (56.1%)     | 14 (34.1%) |
| Alterações inflamatórias        | 0  | 4 (9.8%)   | 9 (21.9%)      | 28 (68.3%) |
| Aumento de tecido conectivo     | 19 (46.4%)                               | 13 (31.7%) | 9 (21.9%)      | 0          |

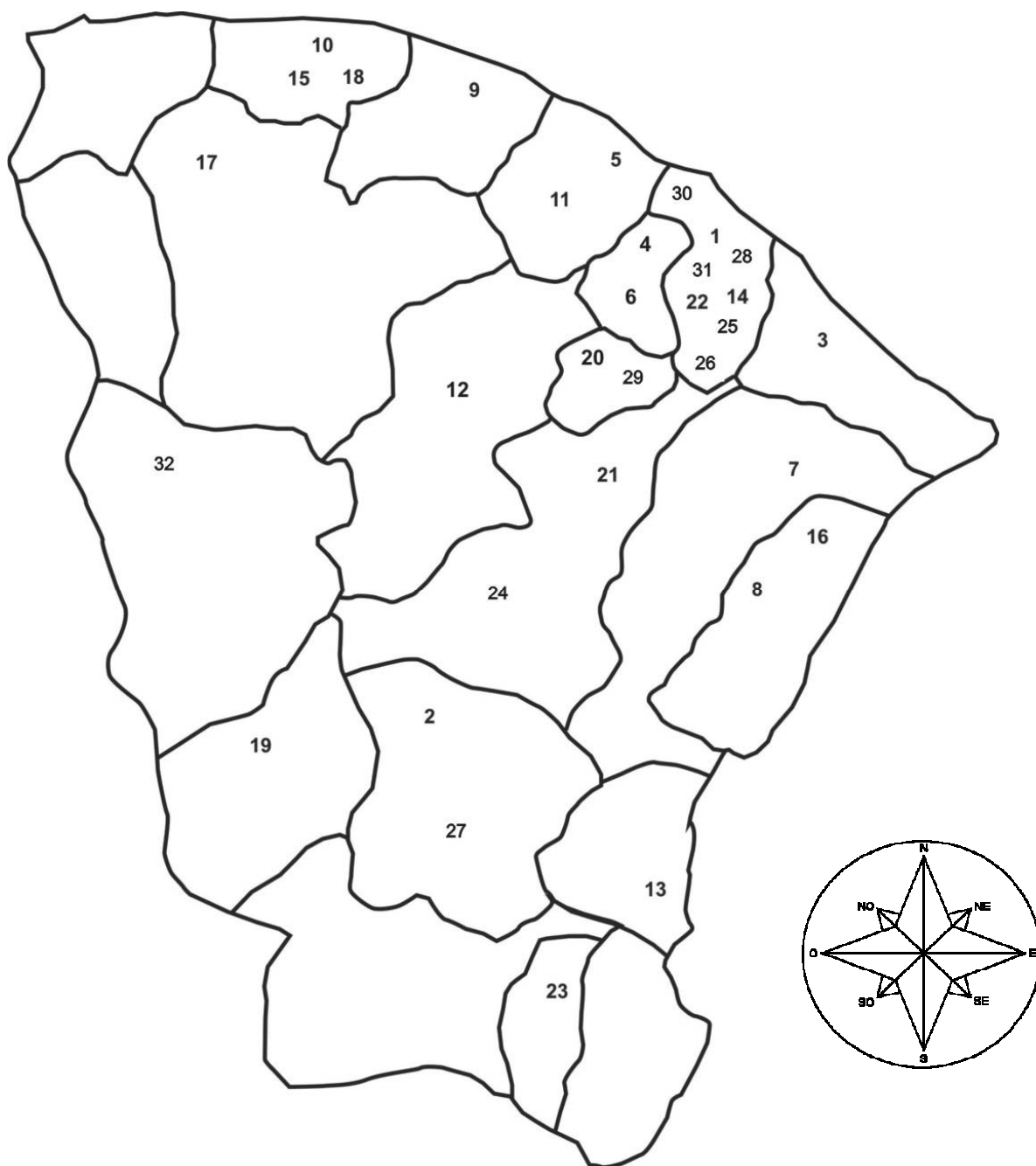


Figura 10. Distribuição geográfica das famílias com distrofias musculares progressivas de cinturas entre as microrregiões do Estado do Ceará, Brasil.

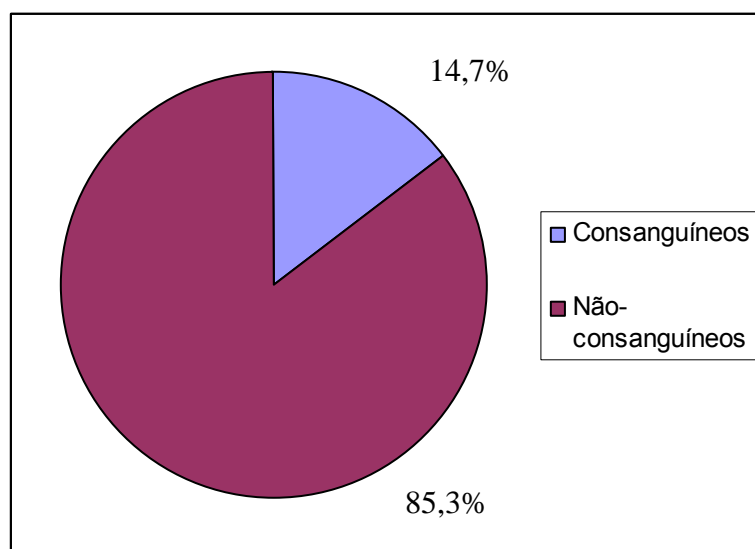


Figura 11 – Distribuição da presença de consanguinidade em amostra aleatória de 156 casais na zona rural do município de Quixeramobim, Ceará, Brasil.



Figura 12 – Escápulas aladas em paciente com disferlinopatia.



Figura 13 – Escápulas aladas em paciente com sarcoglicanopatia.





Figura 14 – Hipertrofia de panturrilhas em paciente com sarcoglicanopatia.



Figura 15 – Atrofia de cintura escapular em paciente com disferlinopatia.

## **5. DISCUSSÃO**

As distrofias musculares são um grupo heterogêneo de desordens do músculo, a maioria devido à ausência ou função alterada de um componente da fibra muscular. Alterações miopáticas são caracterizadas pela presença de necrose, degeneração e regeneração, fibrose e infiltração gordurosa (Wagner et al, 2002). As DMPCs são um grupo variado de doenças associadas com fadiga e fraqueza da musculatura das cinturas pélvica e escapular (Beckmann et al, 1998). Várias proteínas fazem parte da estrutura normal do músculo esquelético, como a distrofina, cuja deficiência pode levar à distrofia muscular de Duchenne / Becker. A deficiência específica de outras destas proteínas como complexo sarcoglicano, disferlina, calpaína, miotilina, emerina pode causar os diferentes subtipos respectivos de DMPC. Estas proteínas são constituintes do arcabouço normal da fibra muscular esquelética e muitas delas ainda não têm suas funções completamente elucidadas.

Por muitas décadas, DMPC foi um termo de definição diagnóstica que parecia impreciso, vago, e trazia pouca informação tanto para o médico como para o paciente. Desde suas primeiras descrições, DMPC estava relacionado à heterogeneidade e o conceito da doença admitia diferentes possibilidades: herança autossômica recessiva ou dominante; início da doença nos músculos da cintura pélvica ou nos da cintura escapular; evolução rápida ou lenta (Bushby et al, 1999). Após a década de 90, testes genéticos ajudaram a esclarecer o diagnóstico e até o prognóstico em alguns subtipos específicos. Entretanto, estes testes não estão disponíveis na maior parte dos centros terciários de saúde brasileiros.

O padrão de herança mais comum das DMPCs é autossômico recessivo (Meena et al, 2007; Kooi 1996; Urtasun et al, 1998). Contudo, a

identificação de subtipos de DMPCs com herança autossômica recessiva é em geral difícil de ser estabelecida e alguns casos devem ser considerados esporádicos, principalmente por causa da falta de dados convincentes da história familiar. Em nosso estudo, estes casos foram mais comuns no grupo SGP. A idade de início dos sintomas e a duração da doença foram variáveis entre nossos pacientes, mas naqueles com disferlinopatia a doença teve início mais tardio, corroborando com dados da literatura (Passos-Bueno et al, 1999). Talvez por causa disso, no grupo DFP nós não tivemos casos com evolução severa, enquanto no grupo SGP nós não tivemos casos com curso benigno. Mulheres foram mais afetadas que homens em ambos os grupos. SGP foi a principal causa de DMPC severa, o que está de acordo com estudos prévios (Vainzof et al, 1999).

Em nosso estudo, entre famílias com padrão de herança autossômico recessivo, nós encontramos uma com curiosa combinação de casamentos. A família 25 é subdividida em famílias A e B aparentemente não-relacionadas como mostra a Figura 7. Três irmãos saudáveis da família A casaram respectivamente com três irmãos saudáveis da família B. Todos os casais tiveram filhos afetados. Provavelmente ambas as famílias A e B carregavam mutações para DMPC.

Entre os pacientes do grupo SGP, dois apresentavam gama-SGP. Nos outros casos não foi possível diferenciar o subtipo de deficiência de sarcoglicano. O complexo sarcoglicano original tem quatro subunidades - alfa, beta, gama e delta (associadas respectivamente com DMPC 2D, 2E, 2C e 2F) - e engloba um subcomplexo formado por distrofina/complexo protéico associado à distrofina (Ozawa et al, 2005). Eles protegem o sarcolema contra injúria

induzida pela contração e servem como um mecanismo de ligação entre a matriz extracelular e o citoesqueleto de actina. Sarcoglicanos epsilon e zeta também já foram descritos, mas não estão associados à doença do músculo até o momento (Ozawa et al, 2005). O epsilon-sarcoglicano é expresso em homologia com o alfa-sarcoglicano e acredita-se que a expressão do primeiro possa compensar de alguma forma as alterações patológicas na função do último, com base em estudos em ratos (Imamura et al, 2005). Assim a super-expressão do epsilon-sarcoglicano poderia vir a ser uma estratégia terapêutica futura para DMPC 2D. Quando ocorre mutação em uma das subunidades do complexo sarcoglicano, a marcação imunohistoquímica para todas as subunidades pode diminuir ou se tornar negativa. Padrões imunohistoquímicos específicos para cada subunidade do complexo estão em desenvolvimento, principalmente para gama-SGP (Bönnemann et al, 2002), mas testes genéticos ainda são necessários para conhecer o subtipo de SGP nesses casos.

As SGP foram o tipo mais prevalente de DMPC 2 em nossa série, no que se refere ao número de famílias acometidas. Este achado é semelhante ao de outra série brasileira (Vainzof et al, 1999), onde as SGP corresponderam a 68% das DMPC 2; os autores sugeriram que esta alta prevalência na população brasileira pode decorrer do grande número de pacientes afro-brasileiros com a mesma mutação (principalmente DMPC 2C e 2F), talvez por um efeito fundador.

Nas sarcoglicanopatias a hipertrofia de panturrilhas é um achado relativamente comum, mas os músculos envolvidos parecem ser diferentes daqueles envolvidos na DMD/DMB. Um estudo britânico (Lodi et al, 1997) para avaliar o grau de comprometimento muscular em sete pacientes com SGP

usando ressonância magnética com espectroscopia mostrou grau elevado de substituição gordurosa nos músculos sóleos, tibiais anteriores e peroneais enquanto os músculos gastrocnêmios e tibiais posteriores são menos afetados. Já na DMD/DMB os músculos sóleos e tibiais anteriores são menos afetados em relação aos gastrocnêmios, mas são mais comprometidos que os músculos profundos posteriores. O mecanismo patogênico da hipertrofia de panturrilhas permanece desconhecido. Um modelo experimental mostrou que ratos com deficiência de gama-sarcoglicano desenvolvem hipertrofia muscular progressiva e fraqueza com a idade. Nestes animais encontrou-se número aumentado de fibras musculares, que não estava associado com o padrão pseudo-hipertrófico por substituição gordurosa e fibrose (Sasaoka et al, 2003).

A deficiência de disferlina está associada com DMPC 2B, assim como com a miopatia de Miyoshi e com padrão misto, este último atípico (Nguyen et al, 2007). A localização imunohistoquímica da disferlina é na periferia da fibra muscular, mas não está relacionada ao complexo distrofina/glicoproteína (Selcen et al, 2001). O mecanismo através do qual a deficiência dessa proteína causa injúria da fibra muscular não é completamente esclarecido. Estudos em ratos sugerem até que a deficiência de disferlina pode ser uma consequência natural do envelhecimento fisiológico (Nemoto et al, 2007). A disferlina também foi descrita como um componente dos depósitos de amilóide e a DMPC 2B é a primeira distrofia muscular associada com amiloidose (Spuler et al, 2008). Este achado pode influenciar projetos futuros de terapia molecular.

Especula-se uma associação entre disferlina e calpaína-3. Existem relatos de redução secundária da calpaína em pacientes com defeito primário

de disferlina e quadro clínico de DMPC 2B e miopatia de Miyoshi (Anderson et al, 2000). A interação exata entre estas proteínas não está esclarecida até o momento. Da mesma forma, em uma série de quatro pacientes com mutações no gene *DYSF*, ausência de disferlina no músculo e fenótipo de DMPC 2B ou miopatia de Miyoshi observou-se redução secundária da caveolina-3, sugerindo interação entre estas duas proteínas (Walter et al, 2003). Mas ainda não se sabe até que ponto esta relação entre proteínas diferentes contribui para a patogênese das distrofias musculares.

Em nossos pacientes a fraqueza começou tanto em musculatura proximal das pernas como simultaneamente em membros superiores e inferiores, que são os fenótipos mais comuns (Kooi 1996). Todos os pacientes apresentaram envolvimento da cintura pélvica. Nós estudamos apenas pacientes com padrão de herança recessivo ou esporádico. O quadro clínico nestes pacientes geralmente é mais severo do que nos pacientes com DMPCs autossômicas dominantes (Bushby 1994, Kooi 1996). Em nosso estudo, 12 famílias tiveram imunohistoquímica normal ou inconclusiva. A deficiência de calpaína no músculo é a causa mais comum de DMPC recessiva (Zatz et al, 2005) e a pesquisa dessa proteína não foi realizada em nossos pacientes. A DMPC 2A por deficiência de calpaína tem diagnóstico complexo em virtude da variabilidade fenotípica, falta de precisão da análise protéica nas biópsias musculares e ausência de “hot spots” mutacionais no gene *CAPN3*. Em uma série britânica os achados clínicos mais comuns nos pacientes com DMPC 2A foram: presença de escápulas aladas, contraturas e função respiratória normal (Groen et al, 2007). A interpretação da expressão protéica obtida por Western blot é difícil e envolve a análise do número de bandas detectadas por dois



anticorpos para calpaína-3. Perda de todas as bandas para calpaína-3 é 100% específica para DMPC 2A, mas este padrão foi encontrado em apenas 23% dos pacientes dessa série (Groen et al, 2007). Calpaínas tecido-específicas estão associadas com outras doenças além da DMPC 2A, que incluem: diabetes melito, catarata, esclerose múltipla, câncer, distrofia muscular de Duchenne e doença de Alzheimer (Zatz et al, 2005).

Um padrão predominantemente distal de atrofia muscular sugestivo de miopatia de Miyoshi não foi observado em nenhum paciente. A miopatia de Miyoshi é doença rara, caracterizada por atrofia e fraqueza muscular acometendo inicialmente e às vezes exclusivamente a musculatura do compartimento posterior das pernas, com poucos casos descritos no Brasil (Soares et al, 2003). Heterogeneidade genética é relatada (Linssen et al, 1998). Talvez por causa da evolução prolongada da fraqueza muscular na maior parte dos pacientes, aqueles que apresentavam fraqueza distal também já tinham envolvimento de musculatura proximal. O sinal “calf-head”, um sinal clínico de miopatia de Miyoshi, não foi encontrado em nossos pacientes (Pradhan 2006). O sinal do diamante no quadríceps, uma protuberância anormal na face anterolateral das coxas quando os músculos quadríceps estão em contração moderada, recentemente descrito como um sinal das disferlinopatias (Pradhan 2006) foi documentado em um de nossos pacientes.

Em um estudo prévio com 40 pacientes com mutações no gene da disferlina foram relatados fenótipos atípicos em 50% dos casos. Estes incluíam: fenótipo misto (início combinado proximal e distal), miopatia pseudometabólica e hiperCKemia assintomática (Nguyen et al 2007). Entre nossos pacientes com DFP, dois relataram início simultâneo proximal e distal da fraqueza

muscular; não houve casos de outros fenótipos atípicos. Além disso, a maior parte dos pacientes incluídos em nosso estudo tinham um tempo prolongado de duração da doença, e na admissão já apresentavam atrofia muscular proximal e distal.

É relatada na literatura a associação de deficiência de disferlina com doenças auto-imunes como sarcoidose e doença de Addison (O`Callaghan et al, 2006). Em nossa série não foi observada associação de disferlinopatia com auto-imunidade, mas análise laboratorial completa para doenças imunológicas não foi realizada em todos os pacientes.

O diagnóstico de heterozigose isolada para DMPCs recessivas é difícil pela falta de ensaios bioquímicos disponíveis e a análise molecular não é viável na prática clínica por causa da heterogeneidade genética. No entanto, em alguns casos o *status* de portador pode provocar um defeito parcial de determinada proteína no músculo e ser detectada no estudo imunohistoquímico da biópsia. A análise protéica deve ser considerada com parte do *screening* de pacientes assintomáticos que se submetem à biópsia muscular para investigação de hiperCKenemia isolada, pois pacientes heterozigotos para DMPC 2B podem apresentar-se com esse quadro (Fanin et al, 2006).

No grupo DFP, dois pacientes relataram ter recebido corticosteróides via oral por tempo prolongado no passado, após análise histológica de uma primeira biópsia muscular, que foi sugestiva de inflamação e ambos os casos foram diagnosticados inicialmente como polimiosite (Dalakas et al 2003). Um dos pacientes chegou a usar prednisona por nove anos (Pimentel et al, 2008). O tratamento não modificou os sintomas em nenhum dos casos. Os esteróides foram suspensos quando uma nova biópsia muscular com estudo

imunohistoquímico revelou deficiência de disferlina. Uso mal-sucedido de esteróides em pacientes com DFP de início distal já foi descrito (Argov et al 2000). Na polimiosite, os achados histológicos envolvem um infiltrado linfocítico multifocal na fibra muscular previamente saudável formando complexos CD8/MHC-I. Nos estágios crônicos o tecido conectivo aumenta e a reação para fosfatase alcalina torna-se positiva. O diagnóstico diferencial com DMPCs (particularmente com disferlinopatias) pode se tornar difícil através apenas da análise histológica. Na polimiosite a inflamação primária deve ser demonstrada, mas muitas vezes uma nova biópsia se faz necessária (Dalakas et al, 2003). Fatores genéticos também vem sendo cada vez mais associados à predisposição para desenvolvimento de polimiosite, mas sua relação ainda não está completamente esclarecida (Karnikowski et al, 2002).

Alternativas terapêuticas específicas para DMPCs são escassas. Vertentes visando à terapia molecular e ao transplante de células são as que mais se destacam nesse sentido e, embora promissoras, ainda estão distantes da prática clínica. O transplante de mioblastos normais parece estimular a expressão da disferlina *in vivo*, como mostrou um estudo com ratos SCID e SJL, nos quais o número de fibras musculares disferlina-positivas aumentou em 40-50% e 20-30% respectivamente (Leriche-Guérin et al, 2002).

O comprometimento cardíaco é comum em alguns subtipos de DMPC, especialmente nas SGP. A frequência difere entre os quatro subtipos de SGP. A severidade da doença cardíaca é maior na beta e delta-SGP (Goodwin et al 2005). Existe uma predileção por envolvimento pósterobasal com progressão para insuficiência cardíaca (Melacini 1999). Em uma série mista de SGPs (Politano et al 2001), quase 45% dos pacientes apresentavam

cardiomiopatia subclínica e envolvimento sintomático se manifestou em quase 20%. Em nossa série, 54,5% dos pacientes com SGP apresentaram alteração eletrocardiográfica (sobrecarga ventricular esquerda e/ou bloqueio de ramo direito), mas nenhum paciente apresentava sinais ou sintomas cardíacos.

Embora até o momento não existam estudos específicos sobre a prevalência de doenças genéticas no Estado do Ceará, é uma observação clínica comum que essas doenças são bastante freqüentes em nosso meio. A alta prevalência de casamentos consangüíneos justifica o surgimento de doenças com padrão de herança autossômico recessivo. O inquérito populacional realizado na zona rural de Quixeramobim, cidade do interior do Estado do Ceará, de caráter apenas epidemiológico, mostrou alta prevalência de consangüinidade naquela população, inclusive entre casais mais jovens. Doenças com padrão dominante como ataxia espinocerebelar tipo VII (Linhares et al 2006), e esporádico como variantes de doença do neurônio motor (Castro Costa et al 2000) também foram descritas no Ceará. A dificuldade em conseguir testes genéticos em nosso Estado restringe o estudo destas doenças. Esforços para uma caracterização clínica e patológica inicial dessas patologias são necessários para que os testes genéticos se tornem disponíveis no futuro. Apesar disso, nos casos de DMPC, o estudo imunohistoquímico ainda é uma ferramenta muito útil, especialmente em nosso meio.

Não foi possível a realização de espirometria em nossos pacientes, mas o envolvimento de musculatura respiratória é descrito principalmente em alguns subtipos de DMPC 2, como as sarcoglicanopatias. Nenhum de nossos pacientes referiu queixas respiratórias, mas há relato de que mais de 70% das sarcoglicanopatias têm comprometimento de músculos respiratórios com

redução de CVF. Alfa e gama-SGP podem cursar com insuficiência respiratória severa com o avançar da doença com diminuição da CVF para menos de 40% do valor basal (Politano et al, 2001; Shahrizaila et al, 2006).

Já foram descritos subtipos de DMPCs como parte do grupo de distrofias musculares associado à glicosilação reduzida do alfa-distroglicano (distroglicanopatias) que envolve várias doenças autossômicas recessivas com extenso espectro de severidade. As DMPCs desse grupo podem ser associadas com retardo mental - similar à DMPC 2K - ou sem retardo mental - similar às DMPCs 2I e 2L (Godfrey et al, 2007).

Sobre a distribuição geográfica das DMPCs no Ceará, nós encontramos famílias afetadas em 17 das 21 microrregiões do Estado. A microrregião com mais casos foi a região metropolitana de Fortaleza, capital do Ceará, onde a densidade demográfica é maior (quase metade da população do Estado). Apesar disso, existem famílias com DMPC na maioria das microrregiões com distribuição relativamente uniforme, especialmente no interior do Estado onde os casamentos consangüíneos são muito comuns.

Em nosso estudo, entre pacientes da mesma família os achados fenotípicos foram similares em todos os casos. Apresentação clínica uniforme dentro de uma mesma família também foi relatada em uma família palestina com 10 membros afetados por DMPC 2B (Mahjneh et al, 2001). Entretanto, variações fenotípicas entre pacientes de famílias diferentes mas com a mesma mutação gênica e até mesmo variação de fenótipos entre irmãos afetados têm sido descritas (Zatz et al 2000) e permanecem um desafio. Em um relato de uma família japonesa com casos de disferlinopatia, foi observado um paciente com miopatia de compartimento anterior com contraturas precoces, uma irmã e

um primo de primeiro grau apresentavam fenótipo de miopatia de Miyoshi e primos de segundo grau apresentavam fenótipo de DMPC 2B. Todos os afetados nesta família possuíam a mesma mutação no gene da disferlina (Saito et al, 2007). Em outro caso similar, uma família russa com membros afetados pela mesma mutação no gene da disferlina apresentava casos de DMPC 2B e miopatia de Miyoshi na mesma geração (Illarioshkin et al, 2000). O progresso recente na genética molecular melhorou muito a compreensão das bases moleculares de muitas doenças genéticas. A posição cromossômica de um grande número de genes, que quando mutados causam doenças neurológicas, já é conhecida (Gasser et al, 2001). No entanto a heterogeneidade genética de muitas doenças, entre as quais as DMPCs, ainda deixa margem para evolução também no que se refere ao diagnóstico molecular.

Em 62,5% das famílias com fenótipo de DMPC no Estado do Ceará nós fomos capazes de identificar a deficiência protéica através de biópsia muscular com imunohistoquímica. Perda ou redução de uma das proteínas sarcolemais resulta em fragilidade aumentada do sarcolema (Ozawa et al 2001), o que pode levar à necrose da fibra muscular, apoptose e subsequente fibrose (Tews 2005). Nossas biópsias com imunomarcagem anormal foram divididas em dois grupos de sarcolemopatias: SGP e DFP, que representam respectivamente 34,4% e 28,1% das nossas famílias com DMPC. Em uma série norte-americana, as causas mais comuns de DMPC foram: disferlinopatia (18%), sarcoglicanopatia (15%) e calpainopatia (12%) entre as formas recessivas (Moore 2006). Em outras duas séries brasileiras observa-se distribuição dos subtipos de DMPC com maior prevalência de sarcoglicanopatias, seguidas por disferlinopatias e depois calpainopatias

(Passos-Bueno et al 1999, Comerlato et al 2005). Entretanto em um estudo dinamarquês, entre 103 pacientes que preenchiam critérios clínicos para DMPC tipo 2, 38 apresentaram DMPC 2I, 23 tinham sarcoglicanopatia, 12 calpainopatia e apenas dois tinham disferlinopatia (Sveen et al, 2006). Em outro estudo, este espanhol, entre 62 pacientes com possível DMPC, 38 pacientes (28 famílias) tinham mutações no gene da calpaína-3 e um paciente (uma família) apresentava mutação no gene do alfa-sarcoglicano (Urtasun et al, 1998). Em uma série da Holanda, entre 61 pacientes (34 famílias) com DMPC, 23 pacientes (14 famílias) apresentavam calpainopatia, cinco pacientes (cinco famílias) tinham DMPC 2I, quatro pacientes (três famílias) apresentavam sarcoglicanopatia e apenas um paciente com origem no Suriname apresentava disferlinopatia (van der Kooi et al, 2007). Uma observação curiosa desses estudos é a maior prevalência de disferlinopatias no continente americano quando comparado com países europeus nos quais as séries mostram poucos casos dessa patologia.

Em uma grande série brasileira de DMPCs autossômicas recessivas com mais de 300 pacientes e 10 subtipos de DMPCs (Zatz et al, 2003) foram realizadas algumas observações: a hipertrofia de panturrilhas foi rara entre pacientes com DMPC 2B; o envolvimento cardíaco foi mais proeminente nas sarcoglicanopatias e raro nas disferlinopatias; os níveis séricos de CPK tiveram os maiores valores nos pacientes com sarcoglicanopatias e disferlinopatias quando comparado com outros subtipos de DMPC 2; foi observada variação fenotípica entre conforme o gênero (curso mais severo em homens) nas calpainopatias, mas esta diferença não ocorreu nas sarcoglicanopatias e disferlinopatias.

A biópsia muscular com imunohistoquímica ainda é mandatória no estudo das DMPC e pode definir o diagnóstico, mas a realização em seqüência do estudo molecular para investigação da mutação que causa a doença vem se tornando cada vez mais importante.

As doenças neuromusculares de uma forma geral, e as DMPCs em particular, têm como consequência uma redução da atividade física pelas limitações motoras impostas, com impacto negativo sobre a qualidade de vida e marcadores de saúde. A redução da massa muscular funcional é comum a todas as doenças neuromusculares e resulta tanto de atrofia do desuso secundária a um estilo de vida sedentário como da degeneração muscular secundária à própria doença. Existe uma interrelação entre a fisiopatologia da doença, prejuízo motor, limitação funcional, incapacidade e limitação social. Ainda há escassez de pesquisas sobre a atividade física na doença neuromuscular, ainda se necessita do desenvolvimento de recomendações baseadas em evidências sobre o nível ideal de exercícios para este grupo de patologias (McDonald, 2002). Durante o acompanhamento dos pacientes do estudo, observamos que muitos necessitavam de uma avaliação interdisciplinar. Em relação ao papel da fisioterapia nas distrofias musculares seus principais objetivos são: manter e/ou melhorar a força muscular através do exercício, maximizar a capacidade funcional através do exercício e do uso de órteses e minimizar o desenvolvimento de contraturas através de alongamento e posicionamento com órteses (Eagle, 2002). A aferição de índices de qualidade de vida em pacientes com doenças neuromusculares resulta em baixos scores e reflete principalmente desconforto nas esferas emocional e afetiva. Aspectos psicossociais e econômicos também afetam a



qualidade de vida destes pacientes (Piccininni et al, 2004), principalmente em uma região com sérios problemas sócio-econômicos como o Nordeste do Brasil. A capacidade cognitiva dos pacientes com DMPC é em geral normal, mas a cronicidade e progressão da doença geram sentimentos de tristeza, quadro depressivo, além de culpabilidade (Miladi et al, 1999), o que pode atrapalhar o acompanhamento médico-hospitalar desses pacientes e prejudicar sua qualidade de vida. Poucos estudos se voltam para as DMPC sob este ponto de vista.

Embora menos comuns, as DMPCs de herança autossômica dominante também estão presentes em nossa população e estudos futuros direcionados para estes casos também são necessários. Há diferenças clínicas e genéticas significativas em alguns casos de herança dominante versus recessiva, e a comparação entre fenótipo/genótipo dos dois tipos em nossa região seria interessante. Assim como em outras patologias de herança dominante, o fenômeno de antecipação também é descrito para DMPCs com essa forma de herança (Gamez et al, 2001).

As opções terapêuticas para DMPCs atualmente disponíveis ainda não conseguem modificar o curso da doença e muitas vezes não suprem as expectativas dos pacientes. Mas é importante o acompanhamento fisioterápico e ortopédico periódicos dos pacientes, bem como avaliação cardiológica e da função respiratória, alívio da dor, orientação nutricional e tratamento da depressão, quando presente (Bushby et al, 2005). Terapias moleculares estão em pesquisa e são promissoras, como estratégias de substituição gênica com o uso de vetores virais e modificação do *splicing* do mRNA da distrofina com o

uso de oligômeros antissense (Muntoni et al, 2007), mas ainda estão longe da realidade clínica.

DMPC não precisa mais ser um diagnóstico vago, mas deve ser o ponto de partida para identificação do defeito molecular exato ou, pelo menos, para identificação da deficiência protéica através da análise imunohistoquímica do músculo. Novos estudos são necessários no Nordeste brasileiro para caracterizar o perfil genético das DMPCs, tendo em vista que essa região é de risco aumentado para doenças genéticas principalmente por causa do hábito comum de casamentos consangüíneos.

Em relação à consangüinidade, o inquérito populacional realizado em Quixeramobim-CE, embora sujeito a vício de seleção, pode constatar uma prevalência elevada de casamentos consangüíneos na amostra analisada, principalmente nos casais de maior faixa etária, tendo em vista que o hábito de casar dentro da mesma família vem se reduzindo nas últimas décadas.

Um estudo genético mais amplo sobre o perfil das doenças hereditárias no Estado do Ceará, NEUROGENCE, está sendo desenvolvido na Universidade Federal do Ceará. Em virtude do elevado custo de estudos genéticos, políticas de saúde destinadas a produzir verbas para este tipo de pesquisa são fundamentais para inclusão de nossa região na linha de frente da neurogenética no Brasil. No Nordeste brasileiro, o material humano a ser estudado é vasto e novas mutações podem ser descobertas.

## **6. CONCLUSÕES**

Após análise clínica e imunohistoquímica dos pacientes com DMPC recessiva atendidos no ambulatório de Neurologia do HUWC/UFC, pode-se concluir que:

1) Sarcoglicanopatias e disferlinopatias são os subtipos de DMPCs mais comuns na amostra analisada, com base no perfil imunohistoquímico disponível, correspondendo juntos a mais de 60% das famílias estudadas.

2) Não foi encontrada grande variabilidade fenotípica dentro de uma mesma família, nas diferentes famílias com mais de um membro afetado, na amostra estudada.

3) As famílias com casos de DMPC se distribuem de forma relativamente uniforme entre as diferentes microrregiões do interior do Estado do Ceará. Foi encontrado número maior de casos na região metropolitana de Fortaleza, justificável pelo fato de ser a microrregião com maior densidade demográfica.

4) As alterações eletrocardiográficas foram mais comuns nos pacientes com sarcoglicanopatias na amostra analisada.

5) Estudos genéticos futuros para caracterização de novas mutações para DMPC em nossos pacientes são necessários.

## **7. REFERÊNCIAS**

AMATO A.A., BROOKE M.H. Disorders of Skeletal Muscle. In: Neurology in Clinical Practice. Philadelphia: Elsevier, 2004.

ANDERSON L.V.B., HARRISON R.M., POGUE R., et al. Secondary reduction in calpain 3 expression in patients with limb girdle muscular dystrophy type 2B and Miyoshi myopathy (primary dysferlinopathies). **Neuromuscul Disord**, vol. 10, p. 553-559, 2000.

ANGELINI C., FANIN M., FREDA M.P., et al. The clinical spectrum of sarcoglycanopathies. **Neurology**, vol. 52, p. 176-179, 1999.

ARGOV Z., SADEH M., MAZOR K., et al. Muscular dystrophy due to dysferlin deficiency in Libian Jews: clinical and genetic features. **Brain**, vol. 123, p. 1229-1237, 2000.

BASHIR R., BRITTON S., STRACHAN T., et al. A gene related to *Caenorhabditis elegans* spermatogenesis factor fer-1 is mutated in limb-girdle muscular dystrophy type 2B. **Nat Genet**, vol. 20, p. 37-42, 1998.

BASHIR R., STRACHAN T., KEERS S., et al. A gene for autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy maps to chromosome 2p. **Human Mol Genet**, vol. 3, p. 455-457, 1994.

BECKMANN J.S., FARDEAU M. Limb-girdle muscular dystrophies. In: Emery AE, editor. Neuromuscular disorders: clinical and molecular genetics. Chichester: J. Wiley, p. 123-156, 1998.

BECKMANN J.S., RICHARD I., HILLAIRE D., et al. A gene for limb-girdle muscular dystrophy maps to chromosome 15 by linkage. **C R Acad Sci III**, vol. 312, p. 141-8, 1991.

BÖNNEMANN C.G., WONG J., JONES K.J., et al. Primary gamma-sarcoglycanopathy (LGMD 2C): broadening of the mutational spectrum guided by the immunohistochemical profile. **Neuromuscul Disord**, vol. 12, p. 273-280, 2002.

BROCKINGTON M., BLAKE D.J., PRANDINI P., et al. Mutations in the fukutin-related protein gene (FKRP) cause a form of congenital muscular dystrophy with secondary laminin alpha2 deficiency and abnormal glycosylation of alpha-dystroglycan. **Am J Hum Genet**, vol. 69, p. 1198-1209, 2001.

BUSHBY K.M.D. Limb girdle muscular dystrophy. In: Emery AEH, editor. Diagnostic criteria for neuromuscular disorders. Baarn: De Fontein bv, p. 5-31, 1994.

BUSHBY K.M.D. Making sense of the limb-girdle muscular dystrophies. **Brain**, vol. 122, p. 1403-1420, 1999.

BUSHBY K.M.D. The limb-girdle muscular dystrophies—multiple genes, multiple mechanisms. **Hum Mol Genet**, vol. 8, p. 1875-82, 1999.

BUSHBY K., STRAUB V. Nonmolecular treatment for muscular dystrophies. **Curr Opin Neurol**, vol. 18, p. 511-518, 2005.

CALVO F., TEIJEIRA S., FERNANDEZ J.M., et al. Evaluation of heart involvement in gamma-sarcoglycanopathy (LGMD2C). A study of ten patients. **Neuromuscul Disord**, vol. 10, p. 560-566, 2000.

CASTRO COSTA C.M., ORIÁ R.B., VALE O.C., et al. Motor neuron diseases in the university hospital of Fortaleza (northeastern Brazil). **Arq Neuropsiquiatr**, vol. 58, n. 4, p. 986-989, 2000.

COHN R.D., CAMPBELL K.P. Molecular basis of muscular dystrophies. **Muscle Nerve**, vol. 23, p. 1456-1471, 2000.

COMERLATO E.A., SCOLA R.H., WERNECK L.C. Limb-girdle muscular dystrophy: an immunohistochemical diagnostic approach. **Arq Neuropsiquiatr**, vol. 63(2-A), p. 235-245, 2005.

DALAKAS M.C., HOHLFELD R. Polymyositis and dermatomyositis. **Lancet**, vol. 362, p. 971-982, 2003.

DARRAS B.T. Muscular dystrophies. **Continuum: Lifelong Learning in Neurology**, vol. 12, n.3, p. 33-75, 2006.

DINÇER P., AKÇÖREN Z, DEMIR E, et al. A cross section of autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies in 38 families. **J Med Genet**, vol. 37, p. 361-367, 2000.

DRISS A., AMOURI R., BEN HAMIDA C., et al. A new locus for autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy in a large consanguineous Tunisian family maps to chromosome 19q13.3. **Neuromuscul Disord**, vol. 10, p. 240-246, 2000.

DUCLOS F., BROUX O., BOURG N., et al. Beta-sarcoglycan: genomic analysis and identification of a novel missense mutation in the LGMD2E Amish isolate. **Neuromuscul Disord**, vol. 8, p. 30-38, 1998.

EAGLE M. Report on the Muscular Dystrophy Campaign workshop: exercise in neuromuscular diseases. **Neuromuscul Disord**, vol. 12, p. 975-983, 2002.

EMERY A.E.H. The muscular dystrophies, **Lancet**, vol. 359, p. 687-95, 2002.

ENGEL A.G., FRANZINI-ARMSTRONG C, eds. Myology. New York: McGraw-Hill, 1994.

EPSTEIN F.H. Mechanisms of muscle wasting: the role of the ubiquitin-proteasome pathway. **N Eng J Med**, vol. 335, n. 25, p. 1897-1905, 1996.

ERB W. Ueber die juvenile form der progressiven Muskelatrophie und ihre Beziehungen zur sogenannten Pseudohypertrophie der Muskeln. **Deutsches Archiv Klin Med**, vol. 34, p. 467-519, 1884.

FANIN M., NASCIMBENI A.C., ANGELINI C. Muscle protein analysis in the detection of heterozygotes for recessive limb girdle muscular dystrophy type 2B and 2E. **Neuromuscul Disord**, vol. 16, p. 792-799, 2006.

FROSK P., WEILER T., NYLEN E., et al. Limb-girdle muscular dystrophy type 2H associated with mutation in TRIM32, a putative E3-ubiquitin-ligase gene. **Am J Hum Genet**, vol. 70, p. 663-672, 2002.

GAMEZ J., NAVARRO C., ANDREU A.L., et al. Autosomal dominant limb-girdle muscular dystrophy: a large kindred with evidence for anticipation. **Neurology**, vol. 56, p. 450-454, 2001.

GASSER T., DICHGANS M., FINSTERER J., et al. EFNS task force on molecular diagnosis of neurologic disorders. Guidelines for the molecular diagnosis of inherited neurologic diseases. First of two parts. **Eur J Neurol**, vol. 8, p. 299-314, 2001.

GODFREY C., CLEMENT E., MEIN R., et al. Refining genotype-phenotype correlations in muscular dystrophies with defective glycosylation of dystroglycan. **Brain**, vol. 130, p. 2725-2735, 2007.

GOODWIN F.C., MUNTONI F. Cardiac involvement in muscular dystrophies: molecular mechanisms. **Muscle Nerve**, vol. 32, p. 577-588, 2005.

GRIGGS R.C., MENDELL J.R., MILLER R.G. Evaluation and treatment of myopathy. Philadelphia, PA. FA Davis Co, 1995.

GROEN E.J., CHARLTON R., BARRESI R., et al. Analysis of the UK diagnostic strategy for limb girdle muscular dystrophy 2A. **Brain**, vol. 130, p. 3237-3249, 2007.

HAUSER M.A., HERRIGAN S.K., SALMIKANGAS P., et al. Myotilin is mutated in limb girdle muscular dystrophy 1A. **Hum Mol Genet**, vol. 9, p. 2141-7, 2000.

HUSSELL J.A., JONES Jr R. Aspectos gerais das doenças musculares. In: Neurologia. Philadelphia, PA. Elsevier Saunders, 2005.

HUXLEY A.F., SIMMONS R.M. Proposed mechanism of force generation in striated muscle. **Nature**, vol. 233, p. 533-538, 1971.

HUXLEY H.E. The mechanism of muscular contraction. **Science**, vol. 164, p. 1356-1366, 1969.

ILLARIOSHKIN S.N., IVANOVA-SMOLENSKAYA I.A., GREENBERG C.R., et al. Identical dysferlin mutation in limb-girdle muscular dystrophy type 2B and distal myopathy. **Neurology**, vol. 55, p. 1931-1933, 2000.



IMAMURA M., MOCHIZUKI Y., ENGVALL E., et al. Epsilon-sarcoglycan compensates for lack of alpha-sarcoglycan in a mouse model of limb-girdle muscular dystrophy. **Hum Mol Genet**, vol. 14, n. 6, p. 775-783, 2005.

JARADEH S.S., HO H. Muscle, nerve and skin biopsy. **Neurol Clin**, vol. 22, p. 539-561, 2004.

KANDEL E.R., SCHWARTZ J.H., JESSELL T.M. Principles of Neural Science. New York: McGraw-Hill, 2000.

KARNIKOWSKI M.G.O., COSTA B.R.V, OSELLA O.F.S., et al. Polymyositis: clinical investigation in two sisters. **Arq Neuropsiquiatr**, vol. 60(3-A), p. 624-627, 2002.

KISSEL J.T., AMATO A.A., BAROHN R.J., et al. Muscle disease. In : American Academy of Neurology. Continuum. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, vol. 6, n.2, 2000.

LERICHE-GUÉRIN K., ANDERSON L.V.B., WROGEMANN K., et al. Dysferlin expression after normal myoblast transplantation in SCID and in SJL mice. **Neuromuscul Disord**, vol. 12, p. 167-173, 2002.

LINHARES S.C., HORTA W.G., MARQUES JÚNIOR W. Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7). **Arq Neuropsiquiatr**, vol. 64(2-A), p. 222-227, 2006.

LINSSEN W.H.J.P., VISSER M., NOTERMANS N.C., et al. Genetic heterogeneity in Miyoshi-type distal muscular dystrophy. **Neuromuscul Disord**, vol. 8, n. 317-320, 1998.

LIU J., AOKI M., ILLA I., et al. Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb-girdle muscular dystrophy. **Nat Genet**, vol. 20, p. 31-36, 1998.

LO H.P., COOPER S.T., EVESSON F.J., et al. Limb-girdle muscular dystrophy: diagnostic evaluation, frequency and clues to pathogenesis. **Neuromuscul Disord**, vol. 18, n. 1, p. 34-44, 2008.

LODI R., MUNTONI F., TAYLOR J, et al. Correlative MR imaging and 31P-MR spectroscopy study in sarcoglycan deficient limb girdle muscular dystrophy. **Neuromuscul Disord**, vol. 7, p. 505-511, 1997.

MAHJNEH I., MARCONI G., BUSHBY K., et al. Dysferlinopathy (LGMD2B) : a 23-year follow-up study of 10 patients homozygous for the same frameshifting dysferlin mutations. **Neuromuscul Disord**, vol. 11, p. 20-26, 2001.

MCCOMAS AJ. Skeletal muscle: form and function. Champaign, IL: Human Kinetics, 1996.

MCDONALD C.M. Physical activity, health impairments and disability in neuromuscular disease. **Am J Phys Med Rehabil**, vol. 81:S108-S120, 2002.

MCNALLY E.M., DE SA MOREIRA E., DUGGAN D.J., et al. Caveolin-3 in muscular dystrophy. **Hum Mol Genet**, vol. 7, p. 871–7, 1998.

MCNALLY E.M., PASSOS-BUENO M.R., BONNEMANN C.G., et al. Mild and severe muscular dystrophy caused by a single gamma-sarcoglycan mutation. **Am J Hum Genet**, vol. 59, p. 1040-1047, 1996.

MEENA A.K., SREENIVAS D., RAJASEKHAR R., et al. **Neurology India**, vol. 55, n. 2, p. 117-121, 2007.

MELACINI P., FANIN M., DUGGAN D.J., et al. Heart involvement in muscular dystrophies due to sarcoglycan gene mutations. **Muscle Nerve**, vol. 22, p. 473-479, 1999.

MILADI N., BOURGUIGNON J.P., HENTATI F. Cognitive and psychological profile of a Tunisian population of limb girdle muscular dystrophy. **Neuromuscul Disord**, vol. 9, p. 352-354, 1999.

MINETTI C., SOTGIA F., BRUNO C., et al. Mutations in the caveolin-3 gene cause autosomal dominant limb-girdle muscular dystrophy. **Nat Genet**, vol. 18, p. 365–8, 1998.

MOORE S.A., SHILLING C.J., WESTRA S., et al. Limb-girdle muscular dystrophy in the United States. **J Neuropathol Exp Neurol**, vol. 65, n. 10, p. 995-1003, 2006.

MOREIRA E.S., WILSHIRE T.J., FAULKNER G, et al. Limb-girdle muscular dystrophy type 2G is caused by mutations in the gene encoding the sarcomeric protein telethonin. **Nat Genet**, vol. 24, p. 163-166, 2000.

MORRIS G.E. Nuclear proteins and cell death in inherited neuromuscular disease. **Neuromuscul Disord**, vol. 10, p. 217-227, 2000.

MUCHIR A., BONNE G., van der KOOI A.J., et al. Identification of mutations in the gene encoding lamins A/C in autosomal dominant limb-girdle muscular dystrophy with atrioventricular conduction disturbances (LGMD1B). **Hum Mol Genet**, vol. 9, p. 1453–9, 2000.

MUNTONI F., WELLS D. Genetic treatments in muscular dystrophies. **Curr Opin Neurol**, vol. 20, p. 590-594, 2007.

NEMOTO H., KONNO S., NAKAZORA H., et al. Histological and immunohistological changes of the skeletal muscles in older SJL/J mice. **Eur Neurol**, vol. 57, p. 19-25, 2007.

NGUYEN K., BASSEZ G., KRAHN M., et al. Phenotypic study in 40 patients with dysferlin gene mutations : high frequency of atypical phenotypes. **Arch Neurol**, vol. 64, n. 8, p. 1176-1182, 2007.

NIGRO V., DE SÁ MOREIRA E., PILUSO G., et al. Autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy, LGMD2F is caused by a mutation in the delta-sarcoglycan gene. **Nat Genet**, vol. 14, p. 195-198, 1996.

NIGRO V., OKAZAKI Y., BELSITO A., et al. Identification of the Syrian hamster cardiomyopathy gene. **Hum Mol Genet**, vol. 6, p. 601-607, 1997.

NOGAUCHI S., McNALLY E.M., BEN OTHMANE K., et al. Mutations in the dystrophin-associated protein gamma-sarcoglycan in the chromosome 13 muscular dystrophy. **Science**, vol. 270, p. 819-822, 1995.

NORWOOD F., VISSER M., EYMARD B., et al. EFNS guidelines on diagnosis and management of limb girdle muscular dystrophies. **Eur J Neurol**, vol. 14, p. 1305-1312, 2007.

O'CALLAGHAN A.S., LABRADOR-HORRILLO M., GALLARDO E., et al. Muscle inflammation, autoimmune Addison's disease and sarcoidosis in a patient with dysferlin deficiency. **Neuromuscul Disord**, vol. 16, p. 208-209, 2006.

OZAWA E., MIZUNO Y., HAGIWARA Y., et al. Molecular and cell biology of the sarcoglycan complex. **Muscle Nerve**, vol. 32, p. 563-576, 2005.

OZAWA E., NISHINO I., NONAKA I. Sarcolemmopathy: muscular dystrophies with cell membrane defects. **Brain Pathol**, vol. 11, p. 218-230, 2001.

PASSOS-BUENO M.R., VAINZOF M., MOREIRA E.S., et al. Seven autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies in the Brazilian population: from LGMD2A to LGMD2G. **Am J Med Genet**, vol. 82, p. 392-398, 1999.

PETTY R. Evaluating muscle symptoms. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, vol. 74, p. 38-42, 2003.

PICCININNI M., FALSINI C., PIZZI A. Quality of life in hereditary neuromuscular diseases. **Acta Neurol Scand**, vol. 109, p. 113-119, 2004.

PIMENTEL L.H.C., CASTRO-COSTA C.M., GONDIM F.A.A., et al. Limb-girdle muscular dystrophy type 2B mimicking polymyositis. **Arq Neuropsiquiatr**, vol. 66, n. 1, p. 80-82, 2008.

POGUE R., ANDERSON L.V.B., PYLE A., et al. Strategy formulation analysis in the autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. **Neuromuscul Disord**, vol. 11, p. 80-87, 2001.

POLITANO L., NIGRO V., PASSAMANO L., et al. Evaluation of cardiac and respiratory involvement in sarcoglycanopathies. **Neuromuscul Disord**, vol. 11, p. 178-185, 2001.

POLLITT C., ANDERSON L.V.B., POGUE R., et al. The phenotype of calpainopathy: diagnosis based on a multidisciplinary approach. **Neuromuscul Disord** 2001;11:287–96.

PRADHAN S. Calf-head sign in Miyoshi myopathy. **Arch Neurol**, vol. 63, p. 1414-1417, 2006.

PRADHAN S. Diamond on quadriceps: a frequent sign in dysferlinopathy. **Neurology**, vol. 70, n. 4, p. 322, 2008.

RICHARD I., ROUDAUT C., SAENZ A., et al. Calpainopathy—A survey of mutations and polymorphisms. **Am J Hum Genet**, vol. 64, p. 1524–40, 1999.

ROBERDS S.L., LETUREQ F., ALLAMAND V., et al. Missense mutations in the adhalin gene linked to autosomal recessive muscular dystrophy. **Cell**, vol. 78, 1994.

SAITO H., SUZUKI N., ISHIGURO H., et al. Distal anterior compartment myopathy with early ankle contractures. **Muscle Nerve**, vol. 36, p. 525-527, 2007.

SALMIKANGAS P., MYKKANEN O.M., GRONHOLM M., et al. Myotilin, a novel sarcomeric protein with two Ig-like domains, is encoded by a candidate gene for limb-girdle muscular dystrophy. **Hum Mol Genet**, vol. 8, p. 1329–36, 1999.

SAKAMOTO A., ONO K, ABE M., et al. Both hypertrophic and dilated cardiomyopathies are caused by mutation of the same gene, delta-sarcoglycan, in hamster: na animal modelo f disrupted dystrophin-associated glycoprotein complex. **Proc Natl Acad Sci USA**, vol. 94, p. 1373-1378, 1997.

SASAOKA T., IMAMURA M., ARAISHI K., et al. Pathological analysis of muscle hypertrophy and degeneration in muscular dystrophy in gamma-sarcoglycan-deficient mice. **Neuromuscul Disord**, vol. 13, p. 193-206, 2003.

SELGEN D., STILLING G., ENGEL A.G. The earliest pathologic alterations in dysferlinopathy. **Neurology**, vol. 56, p. 1472-1481, 2001.

SHAHRIZAILA N., KINNEAR W.J.M., WILLS A.J. Respiratory involvement in inherited primary muscle conditions. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, vol. 77, p. 1108-1115, 2006.

SOARES N.C., FREITAS M.R.G., NASCIMENTO O.J.M., et al. Myopathy of distal lower limbs: the clinical variant of Miyoshi. **Arq Neuropsiquiatr**, vol. 61, n. 4, p. 946-949, 2003.

SPEER M.C., GILSHRIST J.M., STAJICH J.M., et al. Evidence for anticipation in autosomal dominant limb-girdle muscular dystrophy. **J Med Genet**, vol. 35, p. 305–8, 1998.

SPEER M.C., YAMAOKA L.H., GILCHRIST J.M., et al. Confirmation of genetic heterogeneity in limb-girdle muscular dystrophy: linkage of an autosomal dominant form to chromosome 5q. **Am J Hum Genet**, vol. 50, p. 1211–7, 1992.

SPULER S., CARL M., ZABOJSZCZA J., et al. Dysferlin-deficient muscular dystrophy features amyloidosis. **Ann Neurol**, vol. 63, n. 3, p. 323-328, 2008.

SVEEN M.L., SCHWARTZ M., VISING J. High prevalence and phenotype-genotype correlations of limb girdle muscular dystrophy type 2I in Denmark. **Ann Neurol**, vol. 59, p. 808-815, 2006.

TAWA N.E., GOLDBERG A.L. Protein and amino acid metabolism in muscle. In: Engle A.G., Franzini-Armstrong C. eds. **Myology: basic and clinical**. 2<sup>a</sup> ed. New York: McGraw-Hill, p. 683-707, 1994.

TEWS D.S., GOEBEL H.H. Diagnostic immunohistochemistry in neuromuscular disorders. **Histopathology**, vol. 46:1-23, 2005.

URTASUN M., SAENZ A., ROUDAUT C., et al. Limb-girdle muscular dystrophy in Guipuzcoa (Basque Country, Spain). **Brain**, vol. 121, p. 1735-1747, 1998.

VAINZOF M., PASSOS-BUENO M.R., PAVANELLO R.C.M. Sarcoglycanopathies are responsible for 68% of severe autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy in the Brazilian population. **J Neurol Sci**, vol. 164, p. 44-49, 1999.

VALLE G., FAULKNER G., DE ANTONI A., et al. Telethonin, a novel sarcomeric protein of heart and skeletal muscle. **FEBS Lett**, vol. 415, p. 163-168, 1997.

VAN DER KOOI A.J., BARTH P.G., BUSCH H.F., et al. The clinical spectrum of limb girdle muscular dystrophy. A survey in the Netherlands. **Brain**, vol. 119, p. 1471-1480, 1996.

VAN DER KOOI A.J., FRANKHUIZEN W.S., BARTH P.G., et al. Limb-girdle muscular dystrophy in the Netherlands: gene defect identified in half the families. **Neurology**, vol. 68, P. 2125-2128, 2007.

VAN DER KOOI A.J., GINJAAR H.B., BUSCH H.F., et al. Limb girdle muscular dystrophy: a pathological and immunohistochemical re-evaluation. **Muscle Nerve**, vol. 21, p. 584-590, 1998.

VAN DER KOOI A.J., VAN MEEGEN M., LEDDERHOF T.M., et al. Genetic localization of a newly recognized autosomal dominant limb-girdle muscular dystrophy with cardiac involvement (LGMD1B) to chromosome 1q11–21. **Am J Hum Genet**, vol. 60, p. 891–5, 1997.

WAGNER K.R. Genetic diseases of muscle. **Neurol Clin N Am**, vol. 20, p. 645-678, 2002.

WALTER M.C., BRAUN C., VORGERD M., et al. Variable reduction of caveolin-3 in patients with LGMD2B/MM. **J Neurol**, vol. 250, p. 1431-1438, 2003.

WALTON J.N., NATTRASS F.J. On the classification, natural history and treatment of the myopathies. **Brain**, vol. 77, n.2, p. 169-231, 1954.

WEILER T., GREENBERG C.R., ZELEINSKI T., et al. A gene for autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy in Manitoba Hutterites maps to chromosome region 9q31-q33: evidence for another limb-girdle muscular dystrophy locus. **Am J Hum Genet**, vol. 63, p. 140-147, 1998.

WU Neuromuscular. Neuromuscular disease center. Limb-girdle muscular dystrophy (LGMD) syndromes. <http://neuromuscular.wustl.edu/musdist/lg.html>

ZATZ M., PAULA F., STARLING A., et al. The 10 autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. **Neuromuscul Disord**, vol. 13, p. 532-544, 2003.

ZATZ M., STARLING A. Calpains and disease. **N Engl J Med**, vol. 352, p. 2413-2423, 2005.

ZATZ M., VAINZOF M., PASSOS-BUENO M.R. Limb-girdle muscular dystrophy: one gene with different phenotypes, one phenotype with different genes. **Curr Opin Neurol**, vol, 13, p. 511-517, 2000.

## **8. ANEXOS**

## LIMB-GIRDLE MUSCULAR DYSTROPHY TYPE 2B MIMICKING POLYMYOSITIS

Leonardo Halley Carvalho Pimentel<sup>1</sup>, Raimundo Neudson Maia Alcântara<sup>2</sup>,  
Sheila Márcia de Araújo Fontenele<sup>2</sup>, Carlos Maurício de Castro Costa<sup>1,2</sup>,  
Francisco de Assis Aquino Gondim<sup>1,2</sup>

Limb-girdle muscular dystrophy (LGMD) type 2B is caused by mutations in the dysferlin gene, located at chromosome 2p13.1-p13.3. This protein is normally expressed at the skeletal muscle, but in affected patients it is reduced or absent<sup>1</sup>. Dysferlinopathies usually manifest in late adolescence or early adulthood. The progression is usually slow and most of the patients lose their ability to walk in the second decade or later<sup>2</sup>. Variability in the clinical phenotype within the family has been described, following a recessive inheritance pattern<sup>2</sup>. Muscle biopsy findings in LGMD type 2B can reveal significant inflammatory changes, which can be occasionally confused with those seen in polymyositis and delay the correct diagnosis.

We present the case of a patient with LGMD 2B misdiagnosed as polymyositis to further illustrate these diagnostic challenges. Informed consent in writing was obtained from our patient.

### CASE

A 58-year-old woman developed slowly progressive proximal weakness in the lower limbs, which started in her third decade of life and later progressed to the upper extremities. EMG revealed a myopathy with abundant spontaneous activity and a muscle biopsy from 1995 revealed endomysial and perivascular inflammation. Polymyositis was diagnosed and high-dose prednisone was started. The patient experienced no improvement despite treatment for several years. In 2001 she was started on azathioprine.

In 2004, she underwent a new neurological evaluation. Her neurological exam revealed normal mental status and cranial nerves evaluation, hypoactive reflexes, proximal weakness (grade 2 in the proximal lower extremities and 4 in the arms), normal sensory and cerebellar testing, waddling gait with pronounced lordosis, inability to stand up from a chair without support. Slight atrophy in the proximal legs was noted. A neuropsychological evaluation was unremarkable. Her family history was

significant for several reasons. First, her parents were second-degree cousins. Second, she reported that among her six brothers and sisters, two of them had a disease that resembled her condition. There were no other similar cases in the family, except for the daughter of one of the brothers, who started to subjectively complain of gait difficulties. In a second evaluation, she brought one of her brothers who had similar disease pattern. A familial LGMD was suspected. EMG confirmed the presence of a myopathy with abundant spontaneous activity, also involving the proximal upper extremities. The serum aldolase and creatine kinase levels were markedly elevated (15.6U/L and 2234UI/L respectively). Azathioprine was discontinued and prednisone was slowly tapered off. A new muscle biopsy was performed. It revealed dystrophic features and perivascular inflammation (Figure). Immunohistochemistry, which included identification of dystrophin, merosin, calpain, calveolin, alpha, beta, gamma and delta sarcoglycans and dysferlin staining demonstrated absence of dysferlin in skeletal muscle (Figure).

The diagnosis of LGMD type 2B was made. Prednisone was completely stopped after being slowly tapered off. Evaluation of the other symptomatic brothers revealed similar conditions. The youngest was 45-year-old and had fatigue and progressive muscle weakness for 20 years. Motor examination revealed proximal weakness and slight atrophy in the legs. Serum aldolase and creatine kinase levels were 31.0U/L and 3990UI/L respectively. The oldest is 66 years old and reported muscular weakness in lower limbs since he was 50 years old. After five years he was aware of decreased strength in upper limbs. He became wheelchair-bound in the last 4 years.

### DISCUSSION

The term LGMD encompasses distinct disorders, most of them characterized by proximal muscular weakness. The autosomal dominant LMGDs are named type 1 and the autosomal recessive type 2. Subclassification with an alphabetical letter characterizes different genetic forms

### DISTROFIA MUSCULAR DE CINTURAS TIPO 2B SIMULANDO POLIMIOSITE

<sup>1</sup>Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza CE, Brazil; <sup>2</sup>Hospital Universitário Walter Cantídio, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza CE, Brazil.

Received 1 August 2007, received in final form 23 October 2007. Accepted 7 December 2007.

Dr. Francisco de Assis Aquino Gondim - Universidade Federal do Ceará / CP 3157 - Rua Cel Nunes de Melo 1127 - 60430-270 Fortaleza CE - Brasil. E-mail: gomodifranc@yahoo.com



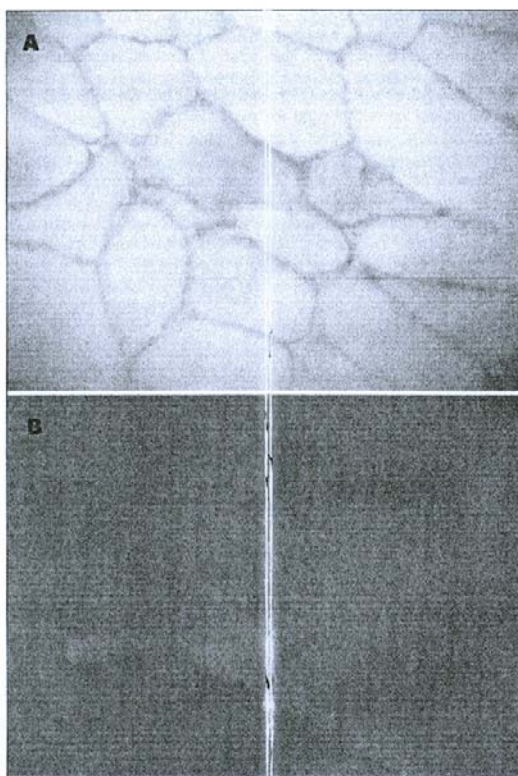


Figure. (A) Dysferlin in sarcolemma of a normal muscle fiber (control). (B) Absence of dysferlin in an abnormal muscle fiber from our patient.

of LGMD 1 and LGMD 2. The recessive forms are more common than the dominant ones<sup>2,3</sup>.

Mutations in the dysferlin gene are associated with LGMD type 2B, Miyoshi myopathy and distal anterior compartment myopathy. Dysferlin was proposed to have a functional role in mediating the fusion of intracellular vesicles to the sarcolemma during injury-induced membrane repair, but dysferlin has been found not only at the sarcolemma but also within the cytoplasm of skeletal muscle fibers by immunohistochemistry<sup>4</sup>. The process underlying the pathogenetic mechanism of dysferlinopathy is not completely understood, but it is known that dysferlin plays an essential function in muscle fiber repair<sup>5</sup>. Defects of dysferlin has been suspected in older mice with inflammatory changes in skeletal muscle<sup>6</sup>. The question whether there could be a natural reduction of dysferlin in muscles throughout life is open and demands further investigation.

Dysferlin was also demonstrated by Western blot in human and mouse brains, but there is little knowledge about its function in the brain or its role in neurodegenerative diseases. There is evidence of accumulation of dysferlin in the Alzheimer disease brain, which may be

related to the inability of neurons to repair damage due to  $\beta$ -amyloid deposits accumulating in this disease<sup>7</sup>.

The classical phenotype of LGMD type 2B is proximal muscular weakness and atrophy, but some phenotypic variants of this disease and others dysferlinopathies have been described<sup>8,9</sup>. Some of them are associated with new mutations in the dysferlin gene<sup>10</sup>. Recently, a patient with LGMD type 2B was reported with choreic movements, suggesting central nervous system involvement and altered expression of the brain isoform of dysferlin<sup>11</sup>.

In our patient, the family history suggests autosomal recessive inheritance because her parents were second-degree cousins. However, it is surprising that among seven brothers three are probably affected (including the patient). The patient's family has native American Indian phenotypic traits. To our knowledge, there is no report of other cases of LGMD type 2B in native American Indian descendants. Perhaps a new mutation may justify the high penetrance of dysferlin gene in this family, but further genetic evaluation is necessary to prove this hypothesis.

Muscle biopsies in LGMD type 2B are characterized by dystrophic changes in affected muscles. The occasional finding of endomysial or perivascular inflammation is possible and may lead towards a wrong diagnosis of polymyositis. The muscle biopsy is the most important test to determine the diagnosis of inflammatory myopathies, but also the most common cause of misdiagnosis due to incorrect interpretation<sup>12</sup>. There is a recent report of a patient diagnosed with polymyositis and associated autoimmune Addison's disease and sarcoidosis, which was subsequently found to be a LGMD 2B<sup>13</sup>. Perhaps dysferlin deficiency can have some kind of association with autoimmunity. Other authors suggest that splice site mutations that disrupt dysferlin may produce a phenotype associated with muscle inflammation<sup>14</sup>.

Muscle biopsy has great value in the diagnosis of LGMD 2B diagnosis<sup>15</sup> and can demonstrate a membrane attack complex on the sarcolemma of non-necrotic muscle fibers. This feature is also seen in other dystrophies with secondary inflammation, but not in primary inflammatory myopathies like polymyositis<sup>16</sup>. Absent or very faint bands of dysferlin are observed in muscle biopsies of patients with LGMD type 2B by immunohistochemistry and Western blot<sup>17</sup>.

In conclusion, LGMD 2B and other types of LGMD (especially recessive forms) can mimic primary inflammatory myopathies. Steroids and immunosuppressant treatments are ineffective in LGMD and may have several adverse effects. The differentiation between these two entities and correct diagnosis are important to avoid these side effects of unnecessary therapy.

## REFERENCES

1. Ferlinz A, Sciacco M, Tancredi L, et al. Clinical, morphological and immunological evaluation of six patients with dysferlin deficiency. *Acta Neuropathol* 2003;105:537-542.
2. Amato AA, Brooke MH. Disorders of skeletal muscle. In Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, et al (Eds). *Neurology in clinical practice*. 4th Ed. Philadelphia: Butterworth-Heinemann 2004:2463-2510.
3. Puzosano ZA, Lai PS, Tan CL, Takeda S, Yee WC. Identification and characterization of a novel human dysferlin transcript: dysferlin\_v1. *Hum Genet* 2006;120:410-419.
4. Jongsang BN, Imamura M, Matsumiya T, Yoshida M, Takeda S. Intracellular localization of dysferlin and its association with the dihydropyridine receptor. *Acta Myol* 2005;24:134-144.
5. Gamauchi G, Fanin M, De Giorgi LB, Angelini C. Ultrastructural changes in dysferlinopathy support defective membrane repair mechanism. *J Clin Pathol* 2005;58:190-195.
6. Nemoto H, Komno S, Nakazora H, Miura H, Kurihara T. Histological and immunohistological changes of the skeletal muscles in older SJL/J mice. *Eur Neurol* 2007;57:19-25.
7. Calvin JE, Palamand D, Strider J, Milone M, Pestronk A. The muscle protein dysferlin accumulates in the Alzheimer brain. *Acta Neuropathol* 2006;112:665-671.
8. Nguyen K, Bassez G, Bernard R, et al. Dysferlin mutations in LGM-D2B, Miyoshi myopathy and atypical dysferlinopathies. *Hum Mutat* 2005;26:165.
9. Kawabe K, Goto K, Nishino I, Angelini C, Hayashi YK. Dysferlin mutation analysis in a group of Italian patients with limb-girdle muscular dystrophy and Miyoshi myopathy. *Eur J Neurol* 2004;11:657-661.
10. Vilchez JJ, Gallano P, Gallardo E, et al. Identification of a novel founder mutation in the DYSF gene causing clinical variability in the Spanish population. *Arch Neurol* 2005;62:1256-1259.
11. Takahashi T, Aoki M, Imai T, et al. A case of dysferlinopathy presenting choreic movements. *Mov Disord* 2006;21:1513-1515.
12. Dalakas MC, Hohlfeld R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet* 2003;362:971-982.
13. Selva-O'Callaghan A, Labrador-Horrillo M, Gallardo E, Herruzo A, Grau-Junyent JM, Vilardell-Tarres M. Muscle inflammation, autoimmune Addison's disease and sarcoidosis in a patient with dysferlin deficiency. *Neuromuscul Disord* 2006;16:208-209.
14. McNally EM, Ly CT, Rosenmann A, et al. Splicing mutation in dysferlin produces limb-girdle muscular dystrophy with inflammation. *Am J Med Genet* 2000;91:305-312.
15. Comerlato EA, Scola RH, Werneck LC. Limb-girdle muscular dystrophy: an immunohistochemical diagnostic approach. *Arq Neuropsiquiatr* 2005;63:235-245.
16. Spuler S, Engel AG. Unexpected sarcolemmal complement membrane attack complex deposits on non-necrotic muscle fibers in muscular dystrophies. *Neurology* 1998;50:41-46.
17. Fanin M, Pegoraro E, Matsuda-Aisada C, Brown RH, Angelini C. Calpain-3 and dysferlin protein screening in patients with limb-girdle dystrophy and myopathy. *Neurology* 2001;56:660-665.



HUWC/UFC  
Comitê de Ética em Pesquisa  
Cód CEP: 023.05.08



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO WALTER CANTÍDIO  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

Rua Capitão Francisco Pedro, 1290 – Rodolfo Teófilo – 60.430-370 – Fortaleza-CE  
FONE: (85) 3366-8589 / 4011-8213 - FAX: (85) 281-4961 - E-MAIL: [cephuwc@huwc.ufc.br](mailto:cephuwc@huwc.ufc.br)

Protocolo nº: 023.05.08

Pesquisador Responsável: Carlos Maurício de Castro Costa

Departamento / Serviço:

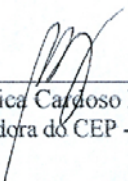
Título do Projeto: "Distrofias musculares progressivas de cinturas tipo 2: perfil epidemiológico no estado do Ceará".

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Walter Cantídio analisou na sessão do dia 26/05/08 o projeto de pesquisa: "**Distrofias musculares progressivas de cinturas tipo 2: perfil epidemiológico no estado do Ceará**", tendo como pesquisador responsável Carlos Maurício de Castro Costa.

Baseando-se nas normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde (Resoluções CNS 196/96, 251/97, 292/99, 303/00, 304/00, 347/05, 346/05), o Comitê de Ética resolve classificar o referido projeto como: **APROVADO**.

Salientamos a necessidade de apresentação de relatório ao CEP-HUWC da pesquisa dentro de 12 meses (data prevista: 26/05/09).

Fortaleza, 27 de maio de 2008.

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Mônica Cardoso Façanha  
Coordenadora do CEP - HUWC

# 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](#)