

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS
LUCIANO FARAGE

SÍNDROME DE RETT: AVALIAÇÃO CLÍNICA, GENÉTICA E POR
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

BRASÍLIA

2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

LUCIANO FARAGE

**SÍNDROME DE RETT: AVALIAÇÃO CLÍNICA, GENÉTICA E POR
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

Orientador: Professor Doutor Riccardo Pratesi.

Co-orientador: Professor Doutor Peter B. Barker.

Co-orientadora: Professora Doutora Alena Horská.

Brasília, DF

2009

Farage, Luciano

Síndrome de Rett: avaliação clínica, genética e por ressonância magnética / Luciano Farage. – Brasília : UnB / Faculdade de Medicina, 2009.

xiii, 61 f. : il.

Orientador: Riccardo Pratesi

Co-orientadores: Peter B. Barker e Alena Horská

Tese (doutorado) – Universidade de Brasília, Faculdade de Medicina, Programa de Ciências Médicas, 2009.

1. Síndrome de Rett – etiologia. 2. Síndrome de Rett – genética.
3. Imagem por ressonância magnética. I. Pratesi, Riccardo. II. Barker, Peter B. III. Horská, Alena. IV. Título.

Aos meus pais, com todo o amor. Vocês são a
razão de todo o esforço.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais - Miguel e Estela, pelo exemplo, carinho e presença constantes. Sem o apoio de vocês nada disso seria possível.

Aos meus irmãos, Rodrigo e Miguel, pelo convívio afetivo.

À cunhada e sobrinhos, Renata, Marianna e Haykal, pelos momentos de alegria.

Ao Professor Doutor Riccardo Pratesi: sua amizade e exemplo sempre foram as melhores formas de orientação e fizeram parte dos estímulos positivos, desde muito antes da graduação.

À Professora Doutora Iris Ferrari, cuja força de vontade, trabalho e liderança são as principais marcas e, desde a graduação, quando abriu a porta do seu laboratório, sempre teve papel central na minha formação científica e médica.

À Professora Doutora Alena Horská, cujo empenho em desenvolver técnicas de ressonância magnética aplicadas à neurorradiologia foi um estímulo e muito lhe devo pelo o que aprendi.

Ao Professor Doutor Peter B. Barker, porque sua amizade e apoio foram fundamentais no transcorrer deste trabalho. Sua energia e conhecimento abriram muitas portas em neurorradiologia.

Aos amigos do Serviço de Genética Médica do Hospital Universitário e do Laboratório de Genética Clínica da Faculdade de Medicina da UnB, onde trilhei os primeiros passos na investigação científica e onde sempre encontro apoio nos momentos de decisão.

Aos amigos do Setor de Radiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, Lincoln Pereira de Souza, Luiz de Freitas, Túlio Augusto Alves Macedo, Mário Augusto Padula Castro e Bruno Leonardo Pegoraro e suas respectivas

famílias. Agradeço a vocês, que me ensinaram e acompanharam os meus primeiros passos na radiologia.

À Neuroradiology Section, Radiology Department, Johns Hopkins Medical Institutions e Neurogenetics Unit, Kennedy Krieger Institute, Baltimore, MD, EUA, onde este trabalho foi desenvolvido e onde obtive ótimas oportunidades de convívio, aprendizado e crescimento pessoal.

À Alessandra Menezes Campos, pelo seu incentivo e apoio na realização deste trabalho.

Aos colegas dos Setores de Radiologia, Patologia e Genética Médica do Hospital SARAH, pelas oportunidades de aprendizado e convívio.

Ao Professor Doutor Paulo Sérgio Rocha Mendlovitz e aos médicos residentes do Setor de Imagenologia do Hospital Universitário de Brasília da Universidade de Brasília pelo apoio e convívio na execução de alguns projetos relacionados a esta pesquisa.

Ao Professor Doutor Leopoldo Luiz dos Santos Neto e aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, pela dedicação e esforço em criar um programa de alto nível.

Ao Sr. Alessandro e demais funcionários da Secretaria da Pós-Graduação, pelo sempre presente apoio e ajuda com formulários e resoluções.

Aos amigos de sempre, sem os quais os esforços têm pouco sentido.

RESUMO

Introdução A Síndrome de Rett é uma desordem do neurodesenvolvimento ligada ao cromossomo X com um acometimento precoce na infância, que afeta, primariamente, meninas. O lobo frontal é particularmente afetado. A base genética da doença, em 80% das meninas acometidas, está relacionada às mutações no gene da proteína *methyl-CpG binding protein 2* (MeCP2). **Casística e Métodos** Dois grupos de meninas afetadas que preenchem os critérios clínicos e são positivas para mutações foram avaliadas com espectroscopia (MRS) e tensor de difusão (DTI). Os dados foram comparados com controles pareados por idade e sexo. O fenótipo foi avaliado pelo perímetro cefálico, história de crises convulsivas, irregularidades respiratórias, alterações de marcha e fala. O genótipo foi avaliado pelo tipo de mutação existente. Os exames de ressonância magnética (RM) foram realizados em aparelho de 1,5T e incluíram avaliação anatômica (sagital T1, axial T2 e axial FLAIR). Quarenta meninas (idade média de 6,1 anos) foram submetidas à MRS uni-voxel, na substância branca do lobo frontal esquerdo, com TE de 35 ms. Foram obtidas as relações de N-acetil-aspartato (NAA), Colina (Co), mio-inositol (mI), Glutamato e Glutamina (Glx) sobre Creatina (Cr) e suas respectivas concentrações. Trinta e duas meninas (idade média de 5,5 anos) foram avaliadas com DTI, obtidos com *single-shot echo-planar* com *SENSE* (fator de 2,5), espessura de 2,5 mm, 30 orientações e valor *b* de 700 s/mm². As medidas de anisotropia fracionada (FA) foram obtidas com o delineamento manual de dezesseis regiões de interesse nos compartimentos supra e infratentorial. Assimetrias entre os lados foram avaliadas pela medida da FA e pelo índice de lateralidade. **Resultados** Os resultados demonstraram que a NAA/Cr diminuiu e a mI/Cr aumentaram com a idade ($p < 0,03$), enquanto essas razões permanecem estáveis no grupo-controle. A razão de Glx/Cr foi 36% maior nas pacientes ($p = 0,043$). A razão de NAA/Cr foi 12,6% menor na presença de crises convulsivas ($p = 0,017$). Houve

decréscimo da NAA/Cr com a gravidade clínica ($p=0,031$). A presença da mutação R168X tem pior grau de gravidade clínica ($0,01 \leq p \leq 0,11$) e uma razão NAA/Cr mais baixa ($0,029 \leq p < 0,14$), quando comparados com outras mutações. Houve redução da FA no joelho e esplênio do corpo caloso, cápsulas interna e externa, cíngulo anterior, radiação talâmica e substância branca frontal. A FA do fascículo longitudinal superior foi semelhante aos controles ($p=0,542$) e nas pacientes com fala preservada e reduzida ($p<0,001$) nas pacientes com mutismo. Não houve alteração nos valores de FA na presença de crises convulsivas ou de alterações motoras. **Conclusão** A redução da NAA/Cr e o aumento do ml/Cr com a idade sugere que haja uma lesão axonal progressiva e reação astrocitária. O aumento do Glx/Cr pode ser secundário ao aumento do ciclo de glutamato e glutamina nas sinapses. As alterações do NAA/Cr na presença de crises convulsivas e associadas à gravidade da doença e a redução da FA nos casos de comprometimento da fala sugerem que a MRS e DTI podem ser úteis na avaliação evolutiva do comprometimento cerebral da Síndrome de Rett.

Palavras-chave: Síndrome de Rett. Espectroscopia por ressonância magnética. Tensor de difusão.

ABSTRACT

Introduction Rett syndrome is a X-linked neurodevelopmental disorder that affects almost exclusively girls from early childhood. Frontal lobe is particularly affected. Mutations in the methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2) gene are identified in more than 80% of affected girls. **Patients and Methods** Two groups of patients who fulfill clinical criteria and were positive for MeCP2 mutations underwent for spectroscopy (MRS) and diffusion tensor imaging (DTI) evaluation. Data were compared with age and sex matched controls. Clinical assessments included neurological status, head circumference, and history of seizures, respiratory irregularities, gait, and speech. Genotype assessment was performed by mutation analysis. Magnetic resonance imaging was performed at 1.5T unit and includes anatomical images. Forty girls (mean age 6.1 years) underwent single voxel MRS in the left frontal lobe white matter, TE 35 ms. Individual metabolite ratios were obtained from N-acetylaspartate (NAA), coline (Co), myoinositol (mI), glutamate e glutamine (Glx) over creatine (Cr) and their concentrations. Thirty-two girls (mean 5.5 years) underwent DTI evaluation, data were acquired using single-shot echo-planar with SENSE (reduction factor of 2.5), thickness of 2.5 mm, 30 encoding directions and b value of 700 s/mm². Fractional anisotropy (FA) was obtained by manually delineated regions of interest of major white matter tracts. Asymmetry between the hemispheres was evaluated by comparison of left and right FA values and laterality index. **Results** NAA/Cr ratios decreased and mI/Cr ratios increased with age in RTT patients (both $p < 0.03$), whereas these ratios were stable in control. The mean glutamate and glutamine/Cr ratio was 36% greater in RTT patients than in control ($p = 0.043$). The mean NAA/Cr ratio was 12.6% lower in RTT patients with seizures compared with those without seizures ($p = 0.017$). NAA/Cr ratios decreased with increasing clinical severity score ($p = 0.031$). Patients with the R168X mutation tended to have the greatest severity score (0.01

$\leq p \leq 0.11$) and the lowest NAA/Cr ratio ($0.029 \leq p < 0.14$). Significant reductions in FA were noted in the genu and splenium of corpus callosum and external capsule with regional reductions in the anterior cingulate, internal capsule, posterior thalamic radiation, and frontal white matter. Differences of FA in superior longitudinal fasciculus (SLF), which has strong correlation with speech, were noted in RTT with preserved speech (phrases and sentences) where FA in SLF was equal to controls ($p=0.542$) while FA was reduced ($p<0.001$) in those who were non-verbal or with single words. No correlation with FA values for tracts associated with seizures, gross or fine motor skills were identified. **Conclusion** Decreasing NAA/Cr and increasing mI/Cr with age are suggestive of progressive axonal damage and astroglyosis, respectively, whereas increased Glx/Cr ratio may be secondary to increasing glutamate/glutamine cycling at the synaptic level. The relations between NAA/Cr, presence or absence of seizures, and disease severity, and also reduction of FA at superior longitudinal fasciculus at impaired speech patients suggest that MRS and DTI may provide a noninvasive measure of cerebral involvement in Rett syndrome.

Keywords: Rett Syndrome. Magnetic resonance spectroscopy. Diffusion tensor imaging.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	XII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XIII
I. INTRODUÇÃO	1
I.1 Definição	1
I.2 Histórico	1
I.3 Prevalência	2
I.4 Aspectos Clínicos	2
I.5 Aspectos Genéticos	5
I.6 Neuroanatomia	8
I.7 Métodos de Imagem	11
I.7-1 Imagens Anatômicas	11
I.7-2 Espectroscopia de Prótons	13
I.7-3 Tensor de Difusão	20
I.7-4 Outros Métodos de Imagem	23
II. OBJETIVOS	25
III. ARTIGO – BRAIN METABOLISM IN RETT SYNDROME: AGE, CLINICAL AND GENOTYPE CORRELATIONS	26
IV. ARTIGO – WHITE MATTER IMPAIRMENT IN RETT SYNDROME: DIFFUSION TENSOR IMAGING STUDY WITH CLINICAL CORRELATIONS	35
V. CONSIDERAÇÕES FINAIS	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Estrutura linear da proteína MeCP2 com seus domínios MBD e TRD e os principais pontos de mutação. Fonte: Figura adaptada de W.E. Kauffman (Comunicação Pessoal).....06
- Figura 2 - Imagens anatômicas ponderadas em T1 e T2, respectivamente de controles com idades pareadas (A e C) e de pacientes (B e D). Notar o alargamento dos sulcos corticais e o aumento *ex-vácuo* dos ventrículos laterais, quando comparados com meninas da mesma idade. Observar a microcefalia adquirida nas pacientes.....13
- Figura 3 - Espectroscopia de prótons, uni-voxel, com técnica *point resolved spectroscopy* (PRESS), em diferentes pacientes, com TE de 144ms (A) e 35ms (B). Notar as diferenças entre os picos e quantidade de metabólitos apresentados..... 16
- Figura 4 - Representação em forma de matriz do tensor de difusão. Fonte: Adaptada de Gillard 2005..... 21
- Figura 5 - Tensor de Difusão de voluntário adulto e saudável com a imagem do mapa de cores (A). A codificação está relacionada à direção dos tratos: vermelho látero-lateral, verde ântero-posterior e azul crânio-caudal. No mapa de anisotropia fracionada (FA) (B), em que a substância branca é realçada, também estão apresentados os valores de FA das pernas posteriores das cápsulas internas.....23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADC	Coefficiente de difusibilidade aparente
ALIC	Perna anterior da cápsula interna
CG	Giro do cíngulo
Co	Colina
[Co]	Concentração de colina
Co/Cr	Razão Colina sobre creatina
Cr	Creatina
[Cr]	Concentração de creatina
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DTI	Tensor de Difusão
FA	Anisotropia fracionada
FMN	<i>Fórceps minor</i>
GCC	Joelho do corpo caloso
Glx	Glutamato + Glutamina
[Glx]	Concentração glutamato + glutamina
Glx/Cr	Razão glutamato + glutamina sobre creatina
HDAC	gene da histona deacetilase
IFO	Fascículo fronto-occipital inferior
MBD	Domínio de ligação à área metilada
MCP	Pedúnculo cerebelar médio
MeCP2	<i>Methyl-CpG-Biding-Protein 2</i>
mI	Mio-inositol

[mI]	Concentração de mio-inositol
mI/Cr	Razão mio-inositol sobre creatina
MRS	Espectroscopia de prótons
MRSI	Imagem espectroscópica
NAA	N-acetil-aspartato
[NAA]	Concentração de N-acetil-aspartato
NAA/Cr	Razão N-acetil-aspartato sobre creatina
PCR	Coroa radiada posterior
PLIC	Perna posterior da cápsula interna
PRESS	<i>Point resolved spectroscopy</i>
PTR	Radiação talâmica posterior
RM	Ressonância Magnética
RNA	Ácido ribonucléico
RTT	Síndrome de Rett
SCC	Esplênio do corpo caloso
SCP	Pedúnculo cerebelar superior
SLF	Fascículo longitudinal superior
STEAM	<i>Stimulated echo acquisition mode</i>
TE	Tempo de Eco
TR	Tempo de Repetição
TRD	Domínio de repressão à transcrição

I. INTRODUÇÃO

I.1 Definição

A Síndrome de Rett (RTT) (OMIM 312750) é uma afecção do neurodesenvolvimento que afeta quase exclusivamente meninas, sendo raramente descrita em meninos. (NAIDU, S. B., 1997; SIRIANNI, 1998; NAIDU, 2003)

A doença é dita do desenvolvimento, pois afeta o cérebro em formação, diferindo das doenças neurodegenerativas em que há destruição de um cérebro formado.

Os meninos, em geral, quando afetados apresentam anomalia numérica dos cromossomos, mais tipicamente associado à Síndrome de Klinefelter (47,XXY). (CHRISTEN e HANEFELD, 1995; LACCONE, 2002; SANTOS, 2009)

I.2 Histórico

A descrição original da doença foi feita pelo Professor Andreas Rett, em 1966 (RETT, 1966, 1986), levando em consideração a observação clínica de dois casos seguidos de crises convulsivas, em meninas, com movimentos estereotipados das mãos (HAGBERG, 1983; NAIDU, S., 1997). A primeira descrição da doença em língua inglesa foi realizada por Hagberg e colaboradores em 1983 (HAGBERG, 1983). Estes apresentam uma série retrospectiva de 35 casos europeus. Esse trabalho é tido como seminal e foi o gerador do interesse em vários centros da pesquisa relacionados à doença.

1.3 Prevalência

A doença afeta meninas de todas as etnias e tem uma prevalência estimada, na Austrália, de 1:10.000 a 1:23.000 nascidas vivas. (NAIDU, S., 1997; NAIDU, S. B., 1997; SIRIANNI, 1998; WEAVING, 2005)

A RTT é considerada a segunda causa de retardo mental em meninas (NAIDU, S., 1997; NAIDU, S. B., 1997; SIRIANNI, 1998; WEAVING, 2005), depois da Síndrome de Down que apresenta uma incidência de 1:1000, mas varia com a idade materna. (HOOK, 1983)

No Brasil, encontramos relatos de casos isolados. No entanto, não há um estudo populacional que permita calcular a prevalência da doença no país. (POZZI e ROSEMBERG, 2003; STACHON; ASSUMPCAO e RASKIN, 2007)

1.4 Aspectos Clínicos

A expressão clínica da doença é predominantemente pós-natal, havendo desenvolvimento pré e perinatal normais, assim como a circunferência craniana. Entre o sexto e o 18º mês de vida, a criança apresenta uma parada do desenvolvimento e perda rápida das aquisições com desaceleração do crescimento craniano, desenvolvimento de comportamento autista e movimento estereotipado das mãos. A forma mais comum desse movimento é sua fricção repetitiva, como se as pacientes lavassem continuamente as mãos. Em observações seqüenciais, ficou demonstrado que essas crianças apresentam desaceleração no crescimento encefálico já no 4º mês de vida, levando à microcefalia adquirida. Os achados clínicos iniciais não são específicos e têm superposição com diagnósticos diferenciais. (NAIDU, S., 1997; HAGBERG, 2002a; WEAVING, 2005)

Os diagnósticos diferenciais variam com a idade e com os achados clínicos. Incluem as lesões encefálicas secundárias a eventos hipóxico-isquêmicos, além de

manifestações neurológicas de afecções sistêmicas, como doenças de depósito, metabólicas e neurodegenerativas. Incluem, ainda, Síndrome de Prader-Willi, Síndrome de Angelman, autismo, psicose, encefalopatia epiléptica e lipofusinoze ceróide neuronal, entre outras afecções. (NAIDU, S., 1997)

Em 1988, foram estabelecidos critérios diagnósticos por um Painel Internacional (TREVATHAN e NAIDU, 1988), sendo revistos em 2002 com o intuito de se reduzir as ambigüidades diagnósticas. (HAGBERG, 2002b)

A Síndrome de Rett é dividida em dois espectros clínicos: a forma clássica com achados clínicos típicos, e a variante que possui elementos clínicos incompletos. (HAGBERG, 2002a; HAGBERG, 2002b; WEAIVING, 2005)

Esses critérios são o padrão na seleção dos pacientes com RTT e que devem ser avaliados quanto à presença do marcador biológico. (HUPPKE, 2003)

Os critérios diagnósticos incluem:

Aspecto normal ao nascimento;

Desenvolvimento usual até os seis a 18 meses;

Circunferência craniana normal ao nascimento;

Desaceleração da circunferência craniana no período pós-natal;

Perda da capacidade funcional de uso das mãos de seis meses a 2,5 anos;

Desenvolvimento de movimentos estereotipados das mãos;

Perda da capacidade de comunicação, comportamento autista, disfunção cognitiva e deterioração da capacidade de locomoção.

São critérios auxiliares ao diagnóstico:

Distúrbios respiratórios no período de vigília;

Bruxismo;

- # Alteração do padrão de sono na infância;
- # Fraqueza muscular e perda do tônus;
- # Distúrbios vasomotores periféricos;
- # Escoliose ou cifose progressivas;
- # Atraso do crescimento;
- # Mãos e pés hipotróficos e frios.

É necessária a presença da maior parte desses critérios para o diagnóstico de RTT. A forma variante pode ser incluída quando houver ao menos três dos seis critérios maiores ou cinco dos onze critérios auxiliares.

São critérios de exclusão da Síndrome de Rett:

- # Evidências de doenças de depósito;
- # Retinopatia;
- # Catarata;
- # Atrofia óptica;
- # Presença de doença metabólica ou neurodegenerativa;
- # Seqüela de lesão encefálica pré ou perinatal.

A progressão da doença pode ser arbitrariamente dividida em quatro fases:
(HAGBERG e WITT-ENGERSTROM, 1986; HAGBERG, 2002a)

Fase I (Perinatal até 18 meses): Desaceleração da circunferência craniana e hipotonia (raramente reconhecidos clinicamente);

Fase II (1 a 3 anos): Regressão do desenvolvimento - Há um atraso no desenvolvimento, com perda das aquisições e da capacidade motora, especialmente das mãos e distúrbios da fala. É nessa fase que surgem os movimentos estereotipados das mãos e o comportamento autista.

Fase III (2 a 10 anos): Desenvolvimento de crises convulsivas acompanhados de anormalidades respiratórias. Nessa fase pode haver uma estabilidade clínica (*plateau*) em que, eventualmente, pode haver uma melhora da função motora.

Fase IV (>10 anos): Deterioração motora tardia, que pode ser complicada com o desenvolvimento de escoliose e restrição ao leito.

1.5 Aspectos Genéticos

A grande maioria dos casos é de ocorrência esporádica (99%), havendo poucos relatos de comprometimento familiar. Nesses casos, tem sido demonstrada a inativação preferencial do cromossomo X defeituoso nas mães. (SIRIANNI, 1998)

A herança é dominante, ligada ao cromossomo X, com comprometimento em até 80% dos casos, do gene da proteína ligadora à CpG-metilada 2 - *methyl-CpG binding protein-2* (MeCP2), localizado no *locus* Xq28. (SIRIANNI, 1998; AMIR, 1999)

Os demais casos são caracterizados apenas clinicamente. Nenhum outro gene foi confirmado como associado à Síndrome de Rett, até o momento. Entretanto, alguns autores acreditam que a família de genes da histona deacetilase - *histone deacetylases* (HDAC) 1, 2, 3 e 8 ou CDKL5 (RUSSO, 2009) podem estar envolvidos e serem responsáveis por esses casos MeCP2 negativos. Huppke e colaboradores avaliando meninas que preenchem os critérios clínicos para a forma clássica, mas negativas para mutações no gene da MeCP2, num total de sete casos, não encontraram alterações na família de genes HDAC, mesmo assim sugerem a possibilidade de esses estarem envolvidos na patogênese desse grupo específico de pacientes. (HUPPKE, 2005)

A proteína MeCP2 (**Figura 1**) tem ação biológica como um repressor do ácido desoxirribonucléico (DNA) metilado (AMIR, 1999) e sua disfunção afeta a plasticidade e a maturação neuronal. (PALMER; QAYUMI e RONNETT, 2008)

A proteína MeCP2 tem dois sítios ativos: domínio de ligação à CpG-metilada - *methyl-CpG binding domain* (MBD) e o domínio de repressão da transcrição - *transcriptional repressor domain* (TRD). O primeiro domínio tem uma afinidade de 2 a 3 vezes maior pelo DNA metilado, com uma ação silenciadora nos genes e atua efetuando ligação a resíduos CpG. O segundo domínio age, supostamente, na enzima histona deacetilase (HDAC), causando alterações na arquitetura da cromatina, por modificações na cauda de histonas, impedindo atuação da maquinaria transcripcional e silenciando o gene. (AMIR, 1999; HITE, 2009)

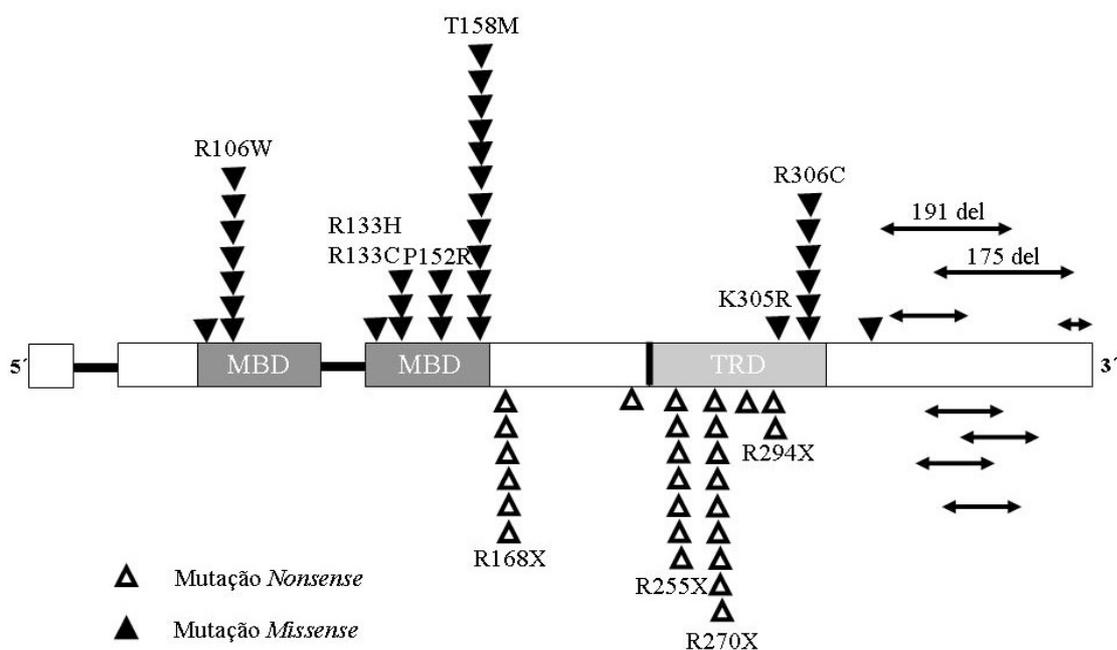


Figura 1 – Estrutura linear da proteína MeCP2 com seus domínios MBD e TRD e os principais pontos de mutação. Fonte: Figura adaptada de W.E. Kauffman (Comunicação Pessoal).

Hite e colaboradores revisaram recentemente a estrutura e funcionalidade da proteína MeCP2. A função de ligação à região metilada foi a primeira descrita e dá nome à proteína. Sequencialmente outras funções foram descobertas, caracterizando, atualmente a proteína como multifuncional exercendo papéis na regulação gênica, organização da arquitetura da cromatina, regulação no processamento e corte (*splice*) do ácido ribonucléico

(RNA) mensageiro, entre outras. Associação da proteína MeCP2 com a Síndrome de Rett tem estimulado as pesquisas sobre sua função e estrutura. (HITE; ADAMS e HANSEN, 2009)

Existem seis regiões estruturais na proteína MeCP2 e, como a maior parte das mutações relacionadas à RTT é pontual, é possível concluir que todas essas partes são necessárias ao adequado funcionamento da MeCP2. (HITE, 2009)

Há mais de 200 mutações relacionadas ao gene MeCP2, incluídas mutações *nonsense* (mutações que determinam a formação de um códon de parada, o que impede a transcrição do gene e ocasiona a formação de uma proteína truncada e, geralmente, não-funcionante); *missense* (mutações em que há a troca de um nucleotídeo por outro, o que determina a alteração do aminoácido transcrito, sem bloquear ou impedir a transcrição) e deleções na porção C-terminal da MeCP2 (mutações que determinam a formação de proteínas não-funcionantes). (PHILIPPE, 2006)

As mutações prevalentes (**Figura 1**), com 80% dos casos descritos, são: R106W, R133C, T158M, R168X, R255X, R270X, R294X, R306C, além de deleções no C-terminal (BEBBINGTON, 2008). Essa nomenclatura refere-se às alterações protéicas, onde a primeira letra representa o aminoácido original, seguido pelo número, que indica a posição na estrutura linear e a última letra, que corresponde ao aminoácido inserido. No caso mais freqüente, é uma substituição da arginina (letra R) por qualquer aminoácido (letra X) na posição 270 – R270X. (DEN DUNNEN e ANTONARAKIS, 2001)

A avaliação dos casos de Rett, desde a descoberta do marcador genético, tem sido centrada na mutação apresentada pelo paciente, uma vez que as diferenças genótípicas podem determinar o grau de comprometimento clínico. (HOFFBUHR, K., 2001; HOFFBUHR, K. C., 2002; COLVIN, 2004; LEONARD, 2005; BEBBINGTON, 2008; NEUL, 2008)

As formas mais graves da doença (em que há limitação motora – incapacidade de andar e do uso das mãos - e incapacidade de falar) estão relacionadas às mutações R168X, R255X e R270X. (VAN DEN VEYVER e ZOGHBI, 2001; NEUL, 2008)

Archer e colaboradores avaliaram pacientes portadores da Síndrome, a partir de informações contidas no Banco de Dados Internacional (ARCHER, 2007). Sua avaliação incluiu a análise das mutações (R168X e T158M), o padrão de inativação do cromossomo X e os dados clínicos dos pacientes. Os resultados obtidos denotam maior gravidade da doença em pacientes portadoras da mutação R168X, havendo a inativação preferencial do cromossomo X mutado em menos de 60% das células, sendo esse achado um fator de pior prognóstico clínico. Esses dados apresentaram diferenças estatísticas significantes. (ARCHER, 2007)

1.6 Neuroanatomia

Os cérebros das crianças afetadas, com a Síndrome de Rett, apresentam redução de volume das substâncias branca e cinzenta, com variações regionais e que determinam uma microcefalia adquirida. (REISS, 1993; SUBRAMANIAM; NAIDU e REISS, 1997; KAUFMANN; PEARLSON e NAIDU, 1998; CARTER, 2008)

A avaliação macroscópica do encéfalo das crianças afetadas não demonstra achados patognomônicos, mas mostra, de maneira recorrente, a redução de volume encefálico nos pacientes, quando comparada com controles de mesma idade e sexo. (JELLINGER, K. e SEITELBERGER, 1986; JELLINGER, K. A., 2003; ARMSTRONG, D. D., 2005) Esses achados são confirmados em estudos neurorradiológicos com ressonância magnética (RM) e avaliação volumétrica de todo o encéfalo ou com análise em separado dos três componentes: líquido cefalorraquidiano, substâncias branca e cinzenta. (REISS, 1993; SUBRAMANIAM, 1997; CARTER, 2008)

Estudos histológicos do córtex, em pacientes com RTT, demonstraram corpos celulares e dendritos de tamanho reduzido, aumento da densidade celular por redução da matriz extracelular e reação astrocitária. (ARMSTRONG, D., 1995; BAUMAN; KEMPER e ARIN, 1995a; ARMSTRONG, D. D., 1997) As técnicas histológicas são limitadas na avaliação de anormalidades axonais, pois são avaliadas apenas as regiões subcorticais, onde alterações qualitativas dos axônios e da mielina não podem ser estudadas. (JELLINGER, K., 1986; JELLINGER, K., 1988)

O estudo histológico da estrutura dendrítica, realizado por Armstrong e colaboradores, demonstra que os achados nos pacientes com Síndrome de Rett não são relacionados à destruição, mas a uma parada do desenvolvimento, especialmente da formação de sinapses e da árvore dendrítica. (ARMSTRONG, D., 1995; ARMSTRONG, D. D., 1997, 2005)

Poliakov, nos seus estudos pioneiros de ontogênese, identificou três períodos de desenvolvimento e organização cerebral. A fase intra-uterina em que há desenvolvimento dos neurônios e o estabelecimento de conexões de dois pontos (córtico-subcortical). No nascimento, há uma reorganização das conexões com o envolvimento de mais camadas corticais. Essa fase é chamada de maturação cerebral e permite interações nas áreas de projeção e associação. A última fase processa-se no segundo ano de vida com o aumento dos corpos celulares e dendritos e com desenvolvimento dos interneurônios. (POLIAKOV, 1961) Essas fases são bastante significativas quando comparadas com a progressão da doença, pois há um período de perda das aquisições pelo desenvolvimento insuficiente da remodelação e desenvolvimento da árvore dendrítica. (ARMSTRONG, D., 1995)

Essas alterações na árvore dendrítica podem ser secundárias à deficiência da proteína MeCP2 nas células astrocitárias e não nos neurônios, como recentemente demonstrado *in vitro*. (BALLAS, 2009)

O lobo frontal é particularmente envolvido, dentre as regiões afetadas, apresentando hipoplasia em estudos anatômicos (ARMSTRONG, D. D., 1997, 2005), hipoperfusão nos estudos com tomografia computadorizada com emissão de fóton único – *single photon emission computed tomography* (SPECT) (BURRONI, 1997; LAPPALAINEN, 1997; NAIDU, 2001) e, curiosamente, hipermetabolismo caracterizado nos estudos com glicose marcada com flúor 18 na tomografia com emissão de pósitrons – *positron emission tomography* (PET) (VILLEMAGNE, 2002). Este último é um resultado inesperado frente à hipoperfusão, quando se supõe que o tecido encefálico esteja menos ativo.

Os estudos neuronatômicos macroscópicos e histológicos demonstraram que o cérebro das crianças afetadas com RTT não está relacionado a más formações, desmielinização ou degeneração, sendo, portanto, um cérebro pequeno, mas não necessariamente atrófico. (KAUFMANN; NAIDU e BUDDEN, 1995; KAUFMANN, 1998; ARMSTRONG, D. D., 2005)

O efeito do gene MeCP2 no cérebro em formação foi estudado em pacientes e comparado com controles de idades semelhantes (RONNETT, 2003). Nesse estudo, foram realizadas biopsias do epitélio olfatório nos pacientes e controles, para obtenção de tecido neural. Os autores consideraram o epitélio olfatório como um tecido interessante, pois é de fácil acesso e tem uma neurogênese fracionada, que ocorre durante toda a vida. É, portanto, um bom modelo, para estudo do neurodesenvolvimento. As pacientes com Síndrome de Rett apresentaram redução dos corpos neuronais e pobreza de dendritos e axônios, que quando presentes eram disgenéticos. Na comparação entre o grupo afetado e controles, foi observado o acúmulo de neurônios imaturos em uma razão sobre os maduros, em níveis maiores que nos controles (RONNETT, 2003). Estudos anteriores em camundongos MeCP2 *null* já

havam sugerido que um dos efeitos biológicos da proteína MeCP2 está ligado a maturação neuronal e manutenção. (SAYWELL, 2006)

I.7 Métodos de Imagem

I.7-1 Imagens Anatômicas

Os métodos de imagem têm sido empregados na caracterização dos pacientes com Rett desde o trabalho original de Hagberg e colaboradores (HAGBERG, 1983), no qual, 35 pacientes foram avaliados retrospectivamente, seis das quais foram submetidas à pneumoencefalografia e dezesseis à tomografia computadorizada (TC) do crânio. A disparidade de técnicas de imagem empregadas está relacionada à multiplicidade de centros e épocas, em que os casos foram coletados.

Não foram observadas anormalidades nos estudos de pneumoencefalografia e, em quatro pacientes, a tomografia computadorizada apresentou redução de volume do encéfalo, com a preservação do coeficiente de atenuação da substância branca. A discrepância de resultados está certamente ligada à sensibilidade dos métodos na observação direta do parênquima encefálico.

O desenvolvimento de técnicas de imagem não-invasivas, especialmente a ressonância magnética (RM), que tem uma alta resolução de contraste (diferenciação de tons na escala de cinza), permitindo uma ótima diferenciação tecidual no encéfalo, determinou interesse na avaliação *in vivo* do envolvimento cerebral da Síndrome de Rett (REISS, 1993). Nesse trabalho e em estudos subsequentes (SUBRAMANIAM, 1997; CARTER, 2008) foram confirmadas observações de macroscopia do encéfalo e aqueles apresentados à tomografia computadorizada.

Nos estudos neurorradiológicos com interesse na avaliação morfológica do encéfalo (REISS, 1993; SUBRAMANIAM, 1997; CARTER, 2008), a RM não se mostrou útil ao diagnóstico da RTT, pois seus achados são inespecíficos e há uma superposição com várias outras doenças.

Nos estágios avançados da doença, é possível observar redução difusa do encéfalo, especialmente dos lobos frontais e parietais, com um aumento *ex-vácuo* dos ventrículos (**Figura 2B e D**). (REISS, 1993; KAUFMANN, 1998)

Em estudo recente, usando volumetria por RM (CARTER, 2008), o lobo mais afetado foi o parietal posterior, o que difere dos trabalhos anteriores (REISS, 1993; SUBRAMANIAM, 1997), quando os lobos frontais e temporais eram predominantes. Essa diferença pode estar relacionada à seleção de pacientes, pois no primeiro estudo apenas aqueles com mutação na proteína MeCP2 foram incluídos, o que leva a um viés de seleção entre os trabalhos.

A redução de volume encontrada nos exames de imagem, assim como nos estudos de macroscopia, está relacionada prioritariamente com hipoplasia e não com atrofia ou outro processo destrutivo. (GOKCAY, 2002)

O papel da RM convencional na Síndrome de Rett está restrito ao diagnóstico diferencial da afecção, com a exclusão de pacientes que tenham lesão encefálica associada a eventos pré ou perinatais. (HAGBERG, 2002b)

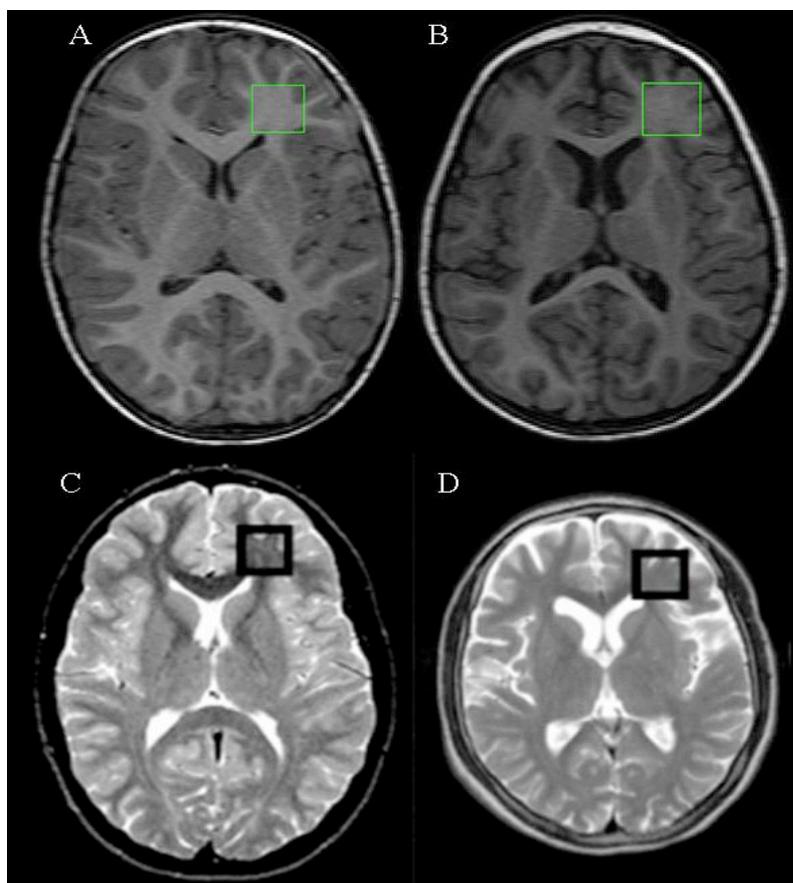


Figura 2 – Imagens anatômicas ponderadas em T1 e T2 respectivamente de controles com idades pareadas (A e C) e de pacientes (B e D). Notar o alargamento dos sulcos corticais e o aumento *ex-vacuo* dos ventrículos laterais, quando comparados com meninas da mesma idade. Observar a microcefalia adquirida nas pacientes.

I.7-2 Espectroscopia de Prótons

Os métodos de imagem por ressonância magnética com técnicas funcionais podem ser úteis, na avaliação do comprometimento encefálico, ajudar a elucidar os mecanismos fisiopatológicos relacionados à RTT e avaliar a integridade e função dos axônios *in vivo*. (NAIDU, 2001)

A espectroscopia de prótons por ressonância magnética - *magnetic resonance spectroscopy* (MRS) é o método de imagem funcional mais largamente utilizado na avaliação dos pacientes com Síndrome de Rett (HANEFELD, 1995; HASHIMOTO, 1998; PAN, 1999; HORSKA, 2000; GOKCAY, 2002; HORSKA, 2002; KHONG, 2002). Isso se

deve ao seu caráter eminentemente não-invasivo e à possibilidade de produzir informações clinicamente úteis na avaliação e seguimento dessas meninas.

A espectroscopia de prótons é uma aplicação relativamente recente em radiologia, mas já bem estabelecida em química básica, onde permite a separação de componente em solução. (BRAND; RICHTER-LANDSBERG e LEIBFRITZ, 1993; VAN ZIJL e BARKER, 1997)

O princípio físico na aquisição da espectroscopia é o mesmo da imagem anatômica, com estímulos de radiofrequência aplicados sobre os prótons de hidrogênio na presença de um campo magnético.

A diferença de energia e na composição química determina uma distribuição dos componentes em espectro de frequência *frequency domain*, cujo cálculo é feito pela transformada de Fourier, sobre o sinal no domínio do tempo *time domain signal*. Esses cálculos produzem imagens de curvas espectrais, diferentemente das imagens anatômicas. (VAN ZIJL, 1997; GILLARD; WALDMAN e BARKER, 2005)

Os prótons de hidrogênio são os mais utilizados em espectroscopia clínica, pois apresentam uma grande disponibilidade no corpo humano, são encontrados na água e têm um grande momento magnético, que gera um sinal melhor na RM. (VAN ZIJL, 1997; GILLARD, 2005)

Os metabólitos detectáveis são limitados por sua concentração no tecido analisado e limitados inferiormente a 10 mm. Água (4,7 ppm) e lipídios (0,1 a 1,5 ppm) têm concentrações maiores (até 80M) e para uma adequada avaliação dos demais metabólitos, estes precisam ser eliminados por um processo denominado *apodization*. Outros processamentos são necessários, mas fogem do interesse mais geral dessa descrição. (VAN ZIJL, 1997; GILLARD, 2005)

Os metabólitos são distribuídos na curva espectral devido à sua composição química em partes por milhão (ppm) (**Figura 3A e B**).

O N-acetil-aspartato (NAA) ressoa de 2,00 a 2,02ppm e é um marcador neurônio-específico. A creatina (Cr) ressoa de 3,00 a 3,02ppm e está relacionada ao metabolismo energético. A replicação da membrana celular é marcada pela colina (Co) que ressoa de 3,20 a 3,23 ppm. A replicação glial e a integridade da árvore dendrítica são marcadas pelo mio-inositol (mI) que ressoa em 3,56 ppm. O neurotransmissor excitatório mais abundante no SNC é o glutamato (Glu). Sua avaliação individualizada é limitada no campo magnético de 1,5 T, sendo, portanto, expressa como o somatório com a glutamina (Gln) e representado como Glx, que ressoam de 2,0 a 2,45 ppm. O lactato (Lac) é um marcador de respiração anaeróbica e está relacionado à necrose. Ressoa em 1,3 ppm e aparece como um pico duplo *duplet* invertido com tempo de eco de 144 ms. (VAN ZIJL, 1997; HORSKA, 2002; GILLARD, 2005)

Os metabólitos podem ser avaliados segundo aplicações de parâmetros físicos, como tempo de eco (TE), o que altera a ponderação das imagens. Nos exames com TE longo (**Figura 3A**) (aproximadamente 144ms) são observados os seguintes metabólitos: NAA, Cr, Co e Lac. O TE curto – 35ms (**Figura 3B**) - avalia os mesmos metabólitos e ainda mI e Glx, pois permite uma melhor recuperação do sinal. O lactato é de difícil avaliação com TE curto, pois seu pico ressoa junto aos lipídios. Esse é mais bem avaliado com TE longo (144 ou 288ms). A linha de base nos espectros com TE longo é menos ruidosa. Entretanto, há uma diminuição da relação sinal-ruído dentro da área de interesse (voxel), o que leva a uma detecção de menos sensível dos metabólitos. (GILLARD, 2005)

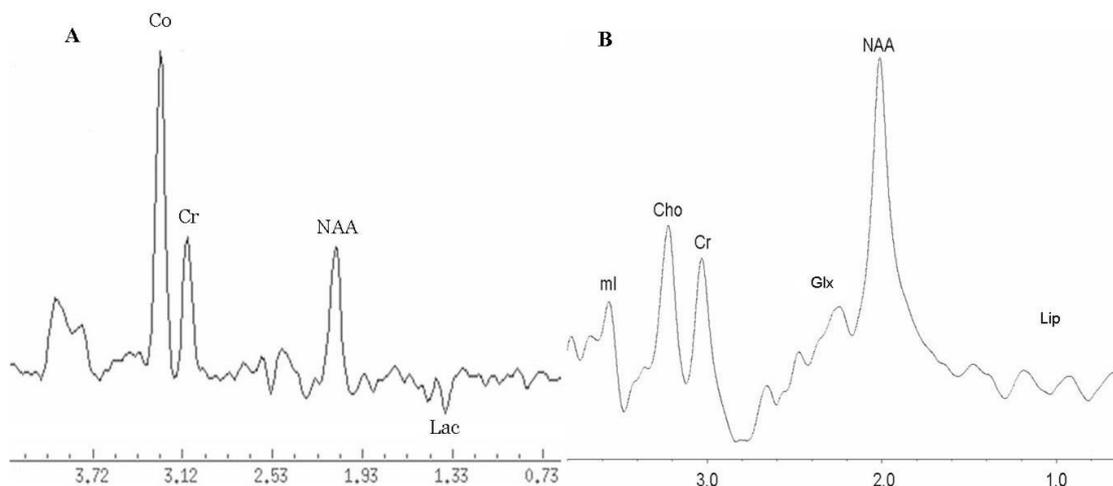


Figura 3 - Espectroscopia de prótons, uni-voxel, com técnica *point resolved spectroscopy* (PRESS), em diferentes pacientes, com TE de 144ms (A) e 35ms (B). Notar as diferenças entre os picos e quantidade de metabólitos apresentados.

A MRS pode ser adquirida como uni-voxel, múltiplos voxéis em corte único e múltiplos voxéis em vários cortes, também chamada de imagem espectroscópica (MRSI). (VAN ZIJL, 1997)

O estudo de voxel único avalia uma única região do encéfalo, realizado com TE curto ou longo e tem um volume de amostragem de 2 a 30 ml, com tempo de aquisição médio de 5 minutos. As técnicas de múltiplos voxéis permitem uma avaliação de várias regiões do encéfalo, com regiões de interesse tão pequenas quanto 0,75 ml e tempo de aquisição de 7 a 30 minutos. (VAN ZIJL, 1997)

A técnica MRSI permite uma ampla cobertura do encéfalo e avaliação em separado das substâncias branca e cinzenta. (HORSKA, 2000; HORSKA, 2002)

Várias técnicas têm sido empregadas com intuito de permitir avaliação quantitativa da MRS. A principal razão para essa avaliação numérica é a detecção de variações de metabólitos, nem sempre demonstráveis pela interpretação das imagens espectrais. (GILLARD, 2005)

As metodologias empregadas na quantificação da espectroscopia são a integral das curvas, onde a área sobre a curva representa sua quantificação em unidades arbitrárias e não está relacionada à concentração dos metabólitos e à razão entre esses, com um deles usado como referência.

A técnica relacionada ao cálculo da integral das curvas é limitada pela superposição dos picos e pela irregularidade da linha de base, foi muito utilizada no início da MRS clínica, mas é muito trabalhosa e tem sido substituída por processos automatizados. O Modelo de Combinação Linear (*LC Model*), descrito por S. Provencher (PROVENCHER, 1993, 2001), realiza, de maneira automatizada, essa avaliação e, quando somada a uma aquisição sem supressão de água, permite o cálculo de concentração dos metabólitos. Os modelos matemáticos envolvidos estão além do interesse desse estudo e podem ser consultados em estudos específicos. (VAN ZIJL, 1997)

A razão ou a relação entre os metabólitos sofre pouca variação dos parâmetros físicos, pois todos os metabólitos são obtidos na mesma aquisição e em condições similares, diminuindo o erro sistemático. Entretanto, é pouco específico, já que verdadeiramente nenhum metabólito é estável no tempo. A creatina usada como referência, é alterada pela idade e pode ser aumentada (esclerose múltipla, encefalite pelo HIV) ou diminuída (tumores, isquemia, abscesso), dependendo do processo patológico envolvido. A baixa especificidade decorre da dificuldade em determinar se a razão está alterada por variação no denominador ou numerador (GILLARD, 2005). Uma solução para sua utilização é calcular a concentração de um metabólito e confirmar sua estabilidade entre casos e controles.

O primeiro estudo aplicando MRS em pacientes com RTT foi publicado em 1993 por Nielsen e colaboradores (NIELSEN, 1993). A casuística compôs-se de quatro pacientes selecionados com base nos critérios clínicos e com idade variando de seis a 17 anos. A técnica empregada foi o *stimulated echo acquisition mode* (STEAM), uni-voxel, em aparelho

de 1,5T. Os metabólitos avaliados não demonstraram alterações significativas. Paralelamente, esses autores avaliaram o sistema energético, sem resultados significativos, utilizando espectroscopia de fósforo.

Hanefeld e colaboradores (HANEFELD, 1995) apresentam uma casuística de nove pacientes selecionadas pelos critérios clínicos. Todas foram submetidas à espectroscopia uni-voxel, com técnica STEAM em aparelho de 2T. O achado mais significativo foi uma redução do NAA com piora associada à idade. Houve uma diminuição do glutamato e da glutamina, relacionado pelos autores como perda sináptica. Colina e creatina não mostraram alterações significativas. Hashimoto e colaboradores realizaram MRS em três pacientes e compararam com controles sadios e com pacientes autistas (HASHIMOTO, 1998). Utilizaram RM de 1,5T, com técnica STEAM, uni-voxel e TE de 270ms. Seus achados são semelhantes aos de Hanefeld e colaboradores com apenas uma paciente de 27 anos apresentando redução das razões de NAA/Cr e NAA/Co.

Utilizando um ultra-alto campo de 4,1T Pan e colaboradores avaliaram seis pacientes e as compararam com quatro controles (PAN, 1999). Os achados são semelhantes aos de Hanefeld, com redução de NAA/Cr na substância branca e relacionados à idade. Como achado adicional, demonstraram leve elevação do glutamato na substância cinzenta em concordância com estudos do líquido cefalorraquidiano.

Horská e colaboradores realizaram, até o nosso estudo, a mais ampla avaliação de pacientes com Síndrome de Rett, utilizando a espectroscopia de prótons. (HORSKA, 2000) Foram analisadas 17 meninas, com média de idade de seis anos, no intuito de estudar as alterações metabólicas precoces. Foi aplicada a técnica multi-voxel em quatro cortes paralelos, em aparelho de 1,5T, o que permitiu uma ampla cobertura do encéfalo. Os dados foram comparados com controles com idade semelhante as das pacientes.

Na fase inicial da RTT, a espectroscopia revelou baixas concentrações de NAA global e especificamente nas substâncias branca e cinzenta dos lobos frontais, ínsulas e hipocampos. (HORSKA, 2000)

A colina global está aumentada, principalmente em crianças com crises convulsivas, mas não apresenta diferenças regionais significativas (HORSKA, 2000). A creatina não mostrou diferenças entre pacientes e controles e o lactato não foi detectado nos dois grupos. (HORSKA, 2000)

No estudo de Horská e colaboradores, o tempo de eco (TE) empregado foi longo (144 ms), o que limita avaliação do mio-inositol, glutamato e glutamina. (HORSKA, 2000)

Khong e colaboradores avaliaram seis meninas de origem chinesa, aparelho de 1,5T, técnica *point resolved spectroscopy* (PRESS), uni-voxel com TE de 288ms (KHONG, 2002). Suas pacientes apresentaram uma redução significativa do NAA, sem, entretanto, demonstrar piora com a idade. Os demais metabólitos avaliados não demonstraram alterações significativas.

No trabalho de Gökçay e colaboradores, com avaliação de sete pacientes em aparelho de 1,5T, técnica multi voxel, com TE 40ms o mio-inositol foi avaliado pela primeira vez (GOKCAY, 2002). Entretanto, não demonstrou alterações em relação aos controles. Os achados desse estudo variam em relação aos anteriores já que apenas quatro das sete pacientes apresentavam redução do NAA e não há uma modificação com a idade.

A variabilidade técnica entre os estudos anteriores pode ser o maior determinante das diferenças dos dados apresentados nos artigos publicados (HANEFELD, 1995; HASHIMOTO, 1998; PAN, 1999; HORSKA, 2000; GOKCAY, 2002; KHONG, 2002)

I.7-3 Tensor de Difusão

Estudos neuropatológicos têm demonstrado que há uma preferência de alterações nos corpos neuronais e na árvore dendrítica, ou seja, da substância cinzenta do encéfalo. Entretanto, os estudos com RM volumétrica mostram uma redução tanto da substância cinzenta como da branca. (REISS, 1993; SUBRAMANIAM, 1997; CARTER, 2008)

O estudo de espectroscopia com técnica MRSI de alta resolução demonstrou redução predominante do NAA na substância branca subcortical (HORSKA, 2000; NAIDU, 2001). Existe a possibilidade de essas alterações estarem relacionadas à reação astrocítica e disrupção axonal leve. A interpretação de proliferação astrogliar é menos provável, pela ausência de aumento concorrente da colina (marcador de membrana) e do mio-inositol (KIM, 2005). O conjunto dos dados de redução do NAA predominante na substância branca subcortical pode traduzir um comprometimento axonal primário e não apenas secundário às alterações dos corpos celulares. A técnica de imagem útil na avaliação da integridade dos tratos é o tensor de difusão. (MORI, S.e BARKER, 1999)

Robert Brown, em 1827, observou o movimento aleatório de partículas macroscópicas (pólen de flores). Esse movimento ficou conhecido como browniano e se repete com todas as moléculas. (GILLARD, 2005)

Há duas formas de movimento browniano. O isotrópico, quando não há barreiras limitando o movimento das moléculas, com difusão em todas as direções e representado pela esfera. No encéfalo, ocorre na substância cinzenta. O movimento anisotrópico ocorre quando há preferência por uma direção e sua melhor representação gráfica é a elipse. Moseley e colaboradores demonstraram que, na substância branca do encéfalo, o movimento das moléculas é anisotrópico e tem preferência pela direção predominante da fibra axonal. (MOSELEY, 1990)

Alguns autores observaram que o fenômeno da ressonância, quando aplicado a líquidos de baixa viscosidade, apresenta sinal independente das ponderações T1 ou T2 e está relacionado à capacidade de difusão das moléculas de água. (MORI, S., 1999)

Na RM, as imagens relacionadas à difusão são obtidas com seqüências rápidas (eco planar), com pulsos aplicados na mesma direção e sentidos invertidos. São geradas duas imagens, cuja diferença entre elas é o fator b (b -value) que determina a sensibilidade ao sinal da difusão. A primeira imagem é denominada B0 e tem sinal semelhante à imagem ponderada em T2. A segunda imagem é denominada de B1000 e tem por objetivo demonstrar, exponencialmente, as alterações determinadas pela difusão da água.

O cálculo matemático resultante entre as duas imagens é denominado coeficiente de difusão aparente - *aparent diffusion coefficient* (ADC), sensível à direção dos gradientes aplicados à obtenção das imagens. Portanto, seus valores são pouco úteis na avaliação entre diferentes regiões do encéfalo no mesmo paciente ou na comparação entre pacientes diferentes. (MORI, S., 1999; XUE, 1999; MORI, N., 2008)

O método que permite a avaliação intra e interpacientes é denominado tensor de difusão – *Diffusion tensor imaging* (DTI) (**D**) (**Figura 4**), onde há o somatório vetorial das resultantes das imagens (são necessárias ao menos seis) obtidas com direções diferentes. (MELHEM, 2002; MORI, S.e VAN ZIJL, 2002; MORI, S.e ZHANG, 2006)

$$\mathbf{D} = \begin{cases} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{cases}$$

Figura 4 – Representação em forma de matriz do tensor de difusão. Fonte: Adaptada de Gillard 2005.

A denominação D_{xx} , D_{yy} e D_{zz} representa a difusão pelos eixos ortogonais. Quando em diagonal, esses valores são iguais aos *eigenvalues*. Esse tensor é simétrico,

assim, D_{xy} é igual a D_{yx} , portanto são necessários, no mínimo, seis aquisições para o cálculo do tensor. (MELHEM, 2002; MORI, S., 2002; MORI, S., 2006)

O tensor é a única técnica de RM que permite uma avaliação qualitativa e quantitativa *in vivo* dos tratos de substância branca. (BASSER; MATTIELLO e LEBIHAN, 1994)

Quando observamos as imagens com codificação de cores ou mapas de anisotropia fracionada, não avaliamos verdadeiramente os axônios, pois com melhor resolução espacial da RM o voxel resultante ($2,5 \times 2,5 \times 2,5$ mm há um volume nominal de 15 mm^3) será sempre muitas vezes maior do que o axônio que tem ordem de grandeza de $10 \mu\text{m}$ (XUE, 1999; LEE, 2005). A medida é, na verdade, a média resultante das elipsóides em cada voxel, representando em alguns casos tratos específicos como no corpo caloso ou a soma de tratos com a mesma direção como a radiação talâmica posterior que envolve as radiações ópticas e fibras comissurais posteriores do corpo caloso (*fórcex major*). (MELHEM, 2002; MORI, S., 2002; MORI, S., 2006)

Avaliação qualitativa é dada pelo mapa de cores (**Figura 5A**) e a avaliação quantitativa é feita pela anisotropia fracionada (FA) (**Figura 5B**) (PIERPAOLI e BASSER, 1996) que mede a integridade dos axônios. Seu valor varia de zero, quando o movimento é isotrópico, a um, quando há movimentação em apenas uma direção. (BASSER, 1994; JONES; HORSFIELD e SIMMONS, 1999)

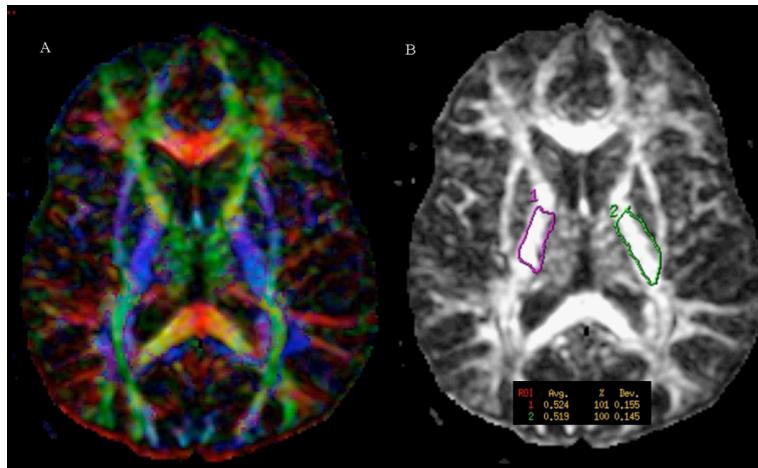


Figura 5 - Tensor de Difusão de voluntário adulto e saudável com a imagem do mapa de cores (A). A codificação está relacionada à direção dos tratos: vermelho látero-lateral, verde ântero-posterior e azul crânio-caudal. No mapa de anisotropia fracionada (FA) (B), em que a substância branca é realçada, também estão apresentados os valores de FA das pernas posteriores das cápsulas internas.

Apenas estudos iniciais estão relatados sobre aplicação de tensor de difusão na Síndrome de RTT, sem resultados consistentes. (NAIDU, 2001)

I.7-4 Outros Métodos de Imagem

Outros métodos funcionais foram aplicados em tecido cerebral *ex-vivo* de pacientes, no intuito de avaliar a neuroquímica dos vários sistemas cerebrais, com a demonstração de deficiência em todos eles. (LAPPALAINEN e RIIKONEN, 1996; BLUE; NAIDU e JOHNSTON, 1999b, 1999a; ARMSTRONG, D. D., 2005) Essas alterações neuroquímicas apresentam, em alguns casos, tradução anatômica com redução específica de algumas estruturas encefálicas como os núcleos do *striatum* (putame e caudado), mesencéfalo e cerebelo. (REISS, 1993; BAUMAN, 1995a; BAUMAN; KEMPER e ARIN, 1995b; SUBRAMANIAM, 1997)

Entre os neurotransmissores, o achado mais interessante é o aumento do glutamato no líquido cefalorraquidiano (LAPPALAINEN, 1996) e em estudo com espectroscopia (PAN, 1999). Esse achado foi confirmado em um estudo com

autorradiografia de segmentos do giro frontal superior de pacientes e controles (material proveniente de Banco de Tecidos), onde ficou demonstrado um aumento na concentração de receptores NMDA em pacientes com idade menor que dez anos e a redução desses receptores nos indivíduos mais velhos, quando comparado com cérebros de controles. (BLUE, 1999b)

As diferenças relacionadas à idade são similares, mas não significantes, e foram descritas em receptores GABA. (BLUE, 1999a)

Os achados de elevação dos receptores de NMDA, o aumento do consumo de glicose no lobo frontal (VILLEMAGNE, 2002) e o aumento dos níveis de glutamato no líquido cefalorraquidiano (LAPPALAINEN, 1996) são sugestivos do aumento da neurotransmissão excitatória na fase inicial da Síndrome de Rett.

II. OBJETIVOS

Avaliar, aplicando espectroscopia de prótons por ressonância magnética (MRS), o comprometimento metabólico da substância branca no lobo frontal de crianças afetadas pela Síndrome de Rett e controles.

Correlacionar os achados de espectroscopia com o escore de gravidade clínico e as mutações do gene MeCP2 entre as pacientes.

Analisar, com tensor de difusão (DTI), o comprometimento da substância branca em pacientes com RTT.

Medir a anisotropia fracionada (FA) entre os diversos tratos de substância branca em pacientes com RTT.

III. ARTIGO – BRAIN METABOLISM IN RETT SYNDROME: AGE, CLINICAL AND GENOTYPE CORRELATIONS – publicado no ANNALS OF NEUROLOGY 2009; 65: 90-97.

**IV. ARTIGO – WHITE MATTER IMPAIRMENT IN RETT SYNDROME:
DIFFUSION TENSOR IMAGING STUDY WITH CLINICAL CORRELATIONS -
submetido para publicação no AMERICAN JOURNAL OF NEURORADIOLOGY.**

V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Síndrome de Rett ainda não tem toda sua fisiopatologia entendida, apesar dos muitos avanços científico-tecnológicos dos últimos anos. (NAIDU, S., 1997; SIRIANNI, 1998; WEAIVING, 2005; BALLAS, 2009; ZOGHBI, 2009)

Os métodos de imagem estão presentes na avaliação das pacientes, desde a descrição original de Hagberg (HAGBERG, 1983). Estudos subseqüentes empregando métodos de imagem incluíram avaliações anatômicas (REISS, 1993; SUBRAMANIAM, 1997; CARTER, 2008) e, mais recentemente, incluíram avaliações funcionais. (NAIDU, 2001)

As técnicas funcionais da ressonância magnética têm sido largamente empregadas (NAIDU, 2001), em especial à espectroscopia pelo seu caráter essencialmente não-invasivo. (HANEFELD, 1995; HASHIMOTO, 1998; PAN, 1999; HORSKA, 2000; GOKCAY, 2002; HORSKA, 2002; KHONG, 2002)

Realizamos dois estudos com técnicas funcionais - espectroscopia de prótons e tensor de difusão – com o intuito de compreender o envolvimento da substância branca na Síndrome de Rett.

Os dados sugerem utilidade da MRS e DTI no acompanhamento das pacientes e avaliação de extensão de lesão.

Na espectroscopia, obtivemos redução do NAA (marcador neurônio-específico) nos casos que cursaram com crises convulsivas e, além disso, está associado a determinadas mutações sabidamente mais deletérias.

Esse mesmo tipo de resposta foi observado com relação à DTI, onde houve redução significativa da anisotropia fracionada no fascículo longitudinal superior nas crianças com grave comprometimento da fala.

Outro achado é a inexistência de uma fase de estabilidade, já que observamos um progressivo envolvimento encefálico com o aumento da idade, por provável reação astrocitária e caracterizado pelo aumento do mio-inositol, sem aumento concorrente da colina. Este dado não é observado em estudos anatômicos, onde os resultados progressivos mostram uma estabilidade de volume encefálico.

Estudos futuros com grupos maiores de pacientes em coortes específicas para cada mutação podem ser úteis na avaliação das interações entre genótipo e fenótipo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMIR, R. E.; VAN DEN VEYVER, I. B.; WAN, M.; TRAN, C. Q.; FRANCKE, U. e ZOGHBI, H. Y. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. **Nat Genet**, v. 23, n. 2, p. 185-188, Oct 1999.

ARCHER, H.; EVANS, J.; LEONARD, H.; COLVIN, L.; RAVINE, D.; CHRISTODOULOU, J.; WILLIAMSON, S.; CHARMAN, T.; BAILEY, M. E.; SAMPSON, J.; DE KLERK, N. e CLARKE, A. Correlation between clinical severity in patients with Rett syndrome with a p.R168X or p.T158M MECP2 mutation, and the direction and degree of skewing of X-chromosome inactivation. **J Med Genet**, v. 44, n. 2, p. 148-152, Feb 2007.

ARMSTRONG, D.; DUNN, J. K.; ANTALFFY, B. e TRIVEDI, R. Selective dendritic alterations in the cortex of Rett syndrome. **J Neuropathol Exp Neurol**, v. 54, n. 2, p. 195-201, Mar 1995.

ARMSTRONG, D. D. Review of Rett syndrome. **J Neuropathol Exp Neurol**, v. 56, n. 8, p. 843-849, Aug 1997.

_____. Neuropathology of Rett syndrome. **J Child Neurol**, v. 20, n. 9, p. 747-753, Sep 2005.

BALLAS, N.; LIOY, D. T.; GRUNSEICH, C. e MANDEL, G. Non-cell autonomous influence of MeCP2-deficient glia on neuronal dendritic morphology. **Nat Neurosci**, v. 12, n. 3, p. 311-317, Mar 2009.

BASSER, P. J.; MATTIELLO, J. e LEBIHAN, D. Estimation of the effective self-diffusion tensor from the NMR spin echo. **J Magn Reson B**, v. 103, n. 3, p. 247-254, Mar 1994.

BAUMAN, M. L.; KEMPER, T. L. e ARIN, D. M. Microscopic observations of the brain in Rett syndrome. **Neuropediatrics**, v. 26, n. 2, p. 105-108, Apr 1995a.

_____. Pervasive neuroanatomic abnormalities of the brain in three cases of Rett's syndrome. **Neurology**, v. 45, n. 8, p. 1581-1586, Aug 1995b.

BEBBINGTON, A.; ANDERSON, A.; RAVINE, D.; FYFE, S.; PINEDA, M.; DE KLERK, N.; BEN-ZEEV, B.; YATAWARA, N.; PERCY, A.; KAUFMANN, W. E. e LEONARD, H. Investigating genotype-phenotype relationships in Rett syndrome using an international data set. **Neurology**, v. 70, n. 11, p. 868-875, Mar 11 2008.

BLUE, M. E.; NAIDU, S. e JOHNSTON, M. V. Altered development of glutamate and GABA receptors in the basal ganglia of girls with Rett syndrome. **Exp Neurol**, v. 156, n. 2, p. 345-352, Apr 1999a.

_____. Development of amino acid receptors in frontal cortex from girls with Rett syndrome. **Ann Neurol**, v. 45, n. 4, p. 541-545, Apr 1999b.

BRAND, A.; RICHTER-LANDSBERG, C. e LEIBFRITZ, D. Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells. **Dev Neurosci**, v. 15, n. 3-5, p. 289-298, 1993.

BURRONI, L.; AUCONE, A. M.; VOLTERRANI, D.; HAYEK, Y.; BERTELLI, P.; VELLA, A.; ZAPPELLA, M. e VATTIMO, A. Brain perfusion abnormalities in Rett syndrome: a qualitative and quantitative SPET study with ⁹⁹Tc(m)-ECD. **Nucl Med Commun**, v. 18, n. 6, p. 527-534, Jun 1997.

CARTER, J. C.; LANHAM, D. C.; PHAM, D.; BIBAT, G.; NAIDU, S. e KAUFMANN, W. E. Selective cerebral volume reduction in Rett syndrome: a multiple-approach MR imaging study. **AJNR Am J Neuroradiol**, v. 29, n. 3, p. 436-441, Mar 2008.

CHRISTEN, H. J. e HANEFELD, F. Male Rett variant. **Neuropediatrics**, v. 26, n. 2, p. 81-82, Apr 1995.

COLVIN, L.; LEONARD, H.; DE KLERK, N.; DAVIS, M.; WEAVING, L.; WILLIAMSON, S. e CHRISTODOULOU, J. Refining the phenotype of common mutations in Rett syndrome. **J Med Genet**, v. 41, n. 1, p. 25-30, Jan 2004.

DEN DUNNEN, J. T. e ANTONARAKIS, S. E. Nomenclature for the description of human sequence variations. **Hum Genet**, v. 109, n. 1, p. 121-124, Jul 2001.

GILLARD, J. H.; WALDMAN, A. D. e BARKER, P. B. **Clinical MR neuroimaging : Diffusion, Perfusion and Spectroscopy**. Cambridge ; New York: Cambridge University Press. 2005. xxiv, 827 p.

GOKCAY, A.; KITIS, O.; EKMEKCI, O.; KARASOY, H. e SENER, R. N. Proton MR spectroscopy in Rett syndrome. **Comput Med Imaging Graph**, v. 26, n. 4, p. 271-275, Jul-Aug 2002.

HAGBERG, B. Clinical manifestations and stages of Rett syndrome. **Ment Retard Dev Disabil Res Rev**, v. 8, n. 2, p. 61-65, 2002a.

HAGBERG, B.; AICARDI, J.; DIAS, K. e RAMOS, O. A progressive syndrome of autism, dementia, ataxia, and loss of purposeful hand use in girls: Rett's syndrome: report of 35 cases. **Ann Neurol**, v. 14, n. 4, p. 471-479, Oct 1983.

HAGBERG, B.; HANEFELD, F.; PERCY, A. e SKJELDAL, O. An update on clinically applicable diagnostic criteria in Rett syndrome. Comments to Rett Syndrome Clinical Criteria Consensus Panel Satellite to European Paediatric Neurology Society Meeting, Baden Baden, Germany, 11 September 2001. **Eur J Paediatr Neurol**, v. 6, n. 5, p. 293-297, 2002b.

HAGBERG, B. e WITT-ENGERSTROM, I. Rett syndrome: a suggested staging system for describing impairment profile with increasing age towards adolescence. **Am J Med Genet Suppl**, v. 1, n., p. 47-59, 1986.

HANEFELD, F.; CHRISTEN, H. J.; HOLZBACH, U.; KRUSE, B.; FRAHM, J. e HANICKE, W. Cerebral proton magnetic resonance spectroscopy in Rett syndrome. **Neuropediatrics**, v. 26, n. 2, p. 126-127, Apr 1995.

HASHIMOTO, T.; KAWANO, N.; FUKUDA, K.; ENDO, S.; MORI, K.; YONEDA, Y.; YAMAUE, T.; HARADA, M. e MIYOSHI, K. Proton magnetic resonance spectroscopy of the brain in three cases of Rett syndrome: comparison with autism and normal controls. **Acta Neurol Scand**, v. 98, n. 1, p. 8-14, Jul 1998.

HITE, K. C.; ADAMS, V. H. e HANSEN, J. C. Recent advances in MeCP2 structure and function. **Biochem Cell Biol**, v. 87, n. 1, p. 219-227, Feb 2009.

HOFFBUHR, K.; DEVANEY, J. M.; LAFLEUR, B.; SIRIANNI, N.; SCACHERI, C.; GIRON, J.; SCHUETTE, J.; INNIS, J.; MARINO, M.; PHILIPPART, M.; NARAYANAN, V.; UMANSKY, R.; KRONN, D.; HOFFMAN, E. P. e NAIDU, S. MeCP2 mutations in children with and without the phenotype of Rett syndrome. **Neurology**, v. 56, n. 11, p. 1486-1495, Jun 12 2001.

HOFFBUHR, K. C.; MOSES, L. M.; JERDONEK, M. A.; NAIDU, S. e HOFFMAN, E. P. Associations between MeCP2 mutations, X-chromosome inactivation, and phenotype. **Ment Retard Dev Disabil Res Rev**, v. 8, n. 2, p. 99-105, 2002.

HOOK, E. B. Down syndrome rates and relaxed selection at older maternal ages. **Am J Hum Genet**, v. 35, n. 6, p. 1307-1313, Nov 1983.

HORSKA, A.; KAUFMANN, W. E.; BRANT, L. J.; NAIDU, S.; HARRIS, J. C. e BARKER, P. B. In vivo quantitative proton MRSI study of brain development from childhood to adolescence. **J Magn Reson Imaging**, v. 15, n. 2, p. 137-143, Feb 2002.

HORSKA, A.; NAIDU, S.; HERSKOVITS, E. H.; WANG, P. Y.; KAUFMANN, W. E. e BARKER, P. B. Quantitative 1H MR spectroscopic imaging in early Rett syndrome. **Neurology**, v. 54, n. 3, p. 715-722, Feb 8 2000.

HUPPKE, P.; KOHLER, K.; LACCONE, F. e HANEFELD, F. Indication for genetic testing: a checklist for Rett syndrome. **J Pediatr**, v. 142, n. 3, p. 332-335, Mar 2003.

HUPPKE, P.; OHLENBUSCH, A.; BRENDEL, C.; LACCONE, F. e GARTNER, J. Mutation analysis of the HDAC 1, 2, 8 and CDKL5 genes in Rett syndrome

patients without mutations in MECP2. **Am J Med Genet A**, v. 137, n. 2, p. 136-138, Aug 30 2005.

JELLINGER, K.; ARMSTRONG, D.; ZOGHBI, H. Y. e PERCY, A. K. Neuropathology of Rett syndrome. **Acta Neuropathol**, v. 76, n. 2, p. 142-158, 1988.

JELLINGER, K. e SEITELBERGER, F. Neuropathology of Rett syndrome. **Am J Med Genet Suppl**, v. 1, n., p. 259-288, 1986.

JELLINGER, K. A. Rett Syndrome -- an update. **J Neural Transm**, v. 110, n. 6, p. 681-701, Jun 2003.

JONES, D. K.; HORSFIELD, M. A. e SIMMONS, A. Optimal strategies for measuring diffusion in anisotropic systems by magnetic resonance imaging. **Magn Reson Med**, v. 42, n. 3, p. 515-525, Sep 1999.

KAUFMANN, W. E.; NAIDU, S. e BUDDEN, S. Abnormal expression of microtubule-associated protein 2 (MAP-2) in neocortex in Rett syndrome. **Neuropediatrics**, v. 26, n. 2, p. 109-113, Apr 1995.

KAUFMANN, W. E.; PEARLSON, G. D. e NAIDU, S. The neuronatomy of Rett Syndrome: neuropathological and neuroimaging studies. **Rivista Medica**, v. 4, n. 4, p. 187 - 199, 1998.

KHONG, P. L.; LAM, C. W.; OOI, C. G.; KO, C. H. e WONG, V. C. Magnetic resonance spectroscopy and analysis of MECP2 in Rett syndrome. **Pediatr Neurol**, v. 26, n. 3, p. 205-209, Mar 2002.

KIM, J. P.; LENTZ, M. R.; WESTMORELAND, S. V.; GRECO, J. B.; RATAI, E. M.; HALPERN, E.; LACKNER, A. A.; MASLIAH, E. e GONZALEZ, R. G. Relationships between astrogliosis and 1H MR spectroscopic measures of brain choline/creatine and myo-inositol/creatine in a primate model. **AJNR Am J Neuroradiol**, v. 26, n. 4, p. 752-759, Apr 2005.

LACCONE, F.; ZOLL, B.; HUPPKE, P.; HANEFELD, F.; PEPINSKI, W. e TRAPPE, R. MECP2 gene nucleotide changes and their pathogenicity in males: proceed with caution. **J Med Genet**, v. 39, n. 8, p. 586-588, Aug 2002.

LAPPALAINEN, R.; LIEWENDAHL, K.; SAINIO, K.; NIKKINEN, P. e RIIKONEN, R. S. Brain perfusion SPECT and EEG findings in Rett syndrome. **Acta Neurol Scand**, v. 95, n. 1, p. 44-50, Jan 1997.

LAPPALAINEN, R. e RIIKONEN, R. S. High levels of cerebrospinal fluid glutamate in Rett syndrome. **Pediatr Neurol**, v. 15, n. 3, p. 213-216, Oct 1996.

LEE, S. K.; KIM, D. I.; KIM, J.; KIM, D. J.; KIM, H. D.; KIM, D. S. e MORI, S. Diffusion-tensor MR imaging and fiber tractography: a new method of describing aberrant fiber connections in developmental CNS anomalies. **Radiographics**, v. 25, n. 1, p. 53-65; discussion 66-58, Jan-Feb 2005.

LEONARD, H.; MOORE, H.; CAREY, M.; FYFE, S.; HALL, S.; ROBERTSON, L.; WU, X. R.; BAO, X.; PAN, H.; CHRISTODOULOU, J.; WILLIAMSON, S. e KLERK, N. Genotype and early development in Rett syndrome: the value of international data. **Brain Dev**, v. 27 Suppl 1, n., p. S59-S68, Nov 2005.

MELHEM, E. R.; MORI, S.; MUKUNDAN, G.; KRAUT, M. A.; POMPER, M. G. e VAN ZIJL, P. C. Diffusion tensor MR imaging of the brain and white matter tractography. **AJR Am J Roentgenol**, v. 178, n. 1, p. 3-16, Jan 2002.

MORI, N.; MIKI, Y.; FUSHIMI, Y.; KIKUTA, K.; URAYAMA, S.; OKADA, T.; FUKUYAMA, H.; HASHIMOTO, N. e TOGASHI, K. Cerebral infarction associated with moyamoya disease: histogram-based quantitative analysis of diffusion tensor imaging -- a preliminary study. **Magn Reson Imaging**, v. 26, n. 6, p. 835-840, Jul 2008.

MORI, S. e BARKER, P. B. Diffusion magnetic resonance imaging: its principle and applications. **Anat Rec**, v. 257, n. 3, p. 102-109, Jun 15 1999.

MORI, S. e VAN ZIJL, P. C. Fiber tracking: principles and strategies - a technical review. **NMR Biomed**, v. 15, n. 7-8, p. 468-480, Nov-Dec 2002.

MORI, S. e ZHANG, J. Principles of diffusion tensor imaging and its applications to basic neuroscience research. **Neuron**, v. 51, n. 5, p. 527-539, Sep 7 2006.

MOSELEY, M. E.; COHEN, Y.; KUCHARCZYK, J.; MINTOROVITCH, J.; ASGARI, H. S.; WENDLAND, M. F.; TSURUDA, J. e NORMAN, D. Diffusion-weighted MR imaging of anisotropic water diffusion in cat central nervous system. **Radiology**, v. 176, n. 2, p. 439-445, Aug 1990.

NAIDU, S. Rett syndrome: a disorder affecting early brain growth. **Ann Neurol**, v. 42, n. 1, p. 3-10, Jul 1997.

NAIDU, S.; BIBAT, G.; KRATZ, L.; KELLEY, R. I.; PEVSNER, J.; HOFFMAN, E.; CUFFARI, C.; ROHDE, C.; BLUE, M. E. e JOHNSTON, M. V. Clinical variability in Rett syndrome. **J Child Neurol**, v. 18, n. 10, p. 662-668, Oct 2003.

NAIDU, S.; KAUFMANN, W. E.; ABRAMS, M. T.; PEARLSON, G. D.; LANHAM, D. C.; FREDERICKSEN, K. A.; BARKER, P. B.; HORSKA, A.; GOLAY, X.; MORI, S.; WONG, D. F.; YABLONSKI, M.; MOSER, H. W. e JOHNSTON, M. V. Neuroimaging studies in Rett syndrome. **Brain Dev**, v. 23 Suppl 1, n., p. S62-71, Dec 2001.

NAIDU, S. B. Rett syndrome. **Indian J Pediatr**, v. 64, n. 5, p. 651-659, Sep-Oct 1997.

NEUL, J. L.; FANG, P.; BARRISH, J.; LANE, J.; CAEG, E. B.; SMITH, E. O.; ZOGHBI, H.; PERCY, A. e GLAZE, D. G. Specific mutations in methyl-CpG-binding protein 2 confer different severity in Rett syndrome. **Neurology**, v. 70, n. 16, p. 1313-1321, Apr 15 2008.

NIELSEN, J. B.; TOFT, P. B.; RESKE-NIELSEN, E.; JENSEN, K. E.; CHRISTIANSEN, P.; THOMSEN, C.; HENRIKSEN, O. e LOU, H. C. Cerebral magnetic

resonance spectroscopy in Rett syndrome. Failure to detect mitochondrial disorder. **Brain Dev**, v. 15, n. 2, p. 107-112, Mar-Apr 1993.

PALMER, A.; QAYUMI, J. e RONNETT, G. MeCP2 mutation causes distinguishable phases of acute and chronic defects in synaptogenesis and maintenance, respectively. **Mol Cell Neurosci**, v. 37, n. 4, p. 794-807, Apr 2008.

PAN, J. W.; LANE, J. B.; HETHERINGTON, H. e PERCY, A. K. Rett syndrome: 1H spectroscopic imaging at 4.1 Tesla. **J Child Neurol**, v. 14, n. 8, p. 524-528, Aug 1999.

PHILIPPE, C.; VILLARD, L.; DE ROUX, N.; RAYNAUD, M.; BONNEFOND, J. P.; PASQUIER, L.; LESCA, G.; MANCINI, J.; JONVEAUX, P.; MONCLA, A.; CHELLY, J. e BIENVENU, T. Spectrum and distribution of MECP2 mutations in 424 Rett syndrome patients: a molecular update. **Eur J Med Genet**, v. 49, n. 1, p. 9-18, Jan-Feb 2006.

PIERPAOLI, C. e BASSER, P. J. Toward a quantitative assessment of diffusion anisotropy. **Magn Reson Med**, v. 36, n. 6, p. 893-906, Dec 1996.

POLIAKOV, G. I. Some results of research into the development of the neuronal structure of the cortical ends of the analyzers in man. **J Comp Neurol**, v. 117, n., p. 197-212, Oct 1961.

POZZI, C. M. e ROSEMBERG, S. Rett syndrome: clinical and epidemiological aspects in a Brazilian institution. **Arq Neuropsiquiatr**, v. 61, n. 4, p. 909-915, Dec 2003.

PROVENCHER, S. W. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. **Magn Reson Med**, v. 30, n. 6, p. 672-679, Dec 1993.

_____. Automatic quantitation of localized in vivo 1H spectra with LCModel. **NMR Biomed**, v. 14, n. 4, p. 260-264, Jun 2001.

REISS, A. L.; FARUQUE, F.; NAIDU, S.; ABRAMS, M.; BEATY, T.; BRYAN, R. N. e MOSER, H. Neuroanatomy of Rett syndrome: a volumetric imaging study. **Ann Neurol**, v. 34, n. 2, p. 227-234, Aug 1993.

RETT, A. Euber eine eiggenartiges hirnatrophisches Syndrome bei hyperammonamie iim Kindesalter. **Wiener medizinische Wochenschrift**, v. 116, n., p. 723-728, 1966.

_____. Rett syndrome. History and general overview. **Am J Med Genet Suppl**, v. 1, n., p. 21-25, 1986.

RONNETT, G. V.; LEOPOLD, D.; CAI, X.; HOFFBUHR, K. C.; MOSES, L.; HOFFMAN, E. P. e NAIDU, S. Olfactory biopsies demonstrate a defect in neuronal development in Rett's syndrome. **Ann Neurol**, v. 54, n. 2, p. 206-218, Aug 2003.

RUSSO, S.; MARCHI, M.; COGLIATI, F.; BONATI, M. T.; PINTAUDI, M.; VENESELLI, E.; SALETTI, V.; BALESTRINI, M.; BEN-ZEEV, B. e LARIZZA, L. Novel mutations in the CDKL5 gene, predicted effects and associated phenotypes. **Neurogenetics**, v., n., p., Feb 25 2009.

SANTOS, M.; TEMUDO, T.; KAY, T.; CARRILHO, I.; MEDEIRA, A.; CABRAL, H.; GOMES, R.; LOURENCO, M. T.; VENANCIO, M.; CALADO, E.; MOREIRA, A.; OLIVEIRA, G. e MACIEL, P. Mutations in the MECP2 gene are not a major cause of Rett syndrome-like or related neurodevelopmental phenotype in male patients. **J Child Neurol**, v. 24, n. 1, p. 49-55, Jan 2009.

SAYWELL, V.; VIOLA, A.; CONFORT-GOUNY, S.; LE FUR, Y.; VILLARD, L. e COZZONE, P. J. Brain magnetic resonance study of Mecp2 deletion effects on anatomy and metabolism. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 340, n. 3, p. 776-783, Feb 17 2006.

SIRIANNI, N.; NAIDU, S.; PEREIRA, J.; PILLOTTO, R. F. e HOFFMAN, E. P. Rett syndrome: confirmation of X-linked dominant inheritance, and localization of the gene to Xq28. **Am J Hum Genet**, v. 63, n. 5, p. 1552-1558, Nov 1998.

STACHON, A.; ASSUMPCAO, F. B., JR. e RASKIN, S. Rett syndrome: clinical and molecular characterization of two Brazilian patients. **Arq Neuropsiquiatr**, v. 65, n. 1, p. 36-40, Mar 2007.

SUBRAMANIAM, B.; NAIDU, S. e REISS, A. L. Neuroanatomy in Rett syndrome: cerebral cortex and posterior fossa. **Neurology**, v. 48, n. 2, p. 399-407, Feb 1997.

TREVATHAN, E. e NAIDU, S. The clinical recognition and differential diagnosis of Rett syndrome. **J Child Neurol**, v. 3 Suppl, n., p. S6-16, 1988.

VAN DEN VEYVER, I. B. e ZOGHBI, H. Y. Mutations in the gene encoding methyl-CpG-binding protein 2 cause Rett syndrome. **Brain Dev**, v. 23 Suppl 1, n., p. S147-151, Dec 2001.

VAN ZIJL, P. C. e BARKER, P. B. Magnetic resonance spectroscopy and spectroscopic imaging for the study of brain metabolism. **Ann N Y Acad Sci**, v. 820, n., p. 75-96, May 30 1997.

VILLEMAGNE, P. M.; NAIDU, S.; VILLEMAGNE, V. L.; YASTER, M.; WAGNER, H. N., JR.; HARRIS, J. C.; MOSER, H. W.; JOHNSTON, M. V.; DANNALS, R. F. e WONG, D. F. Brain glucose metabolism in Rett Syndrome. **Pediatr Neurol**, v. 27, n. 2, p. 117-122, Aug 2002.

WEAVING, L. S.; ELLAWAY, C. J.; GECZ, J. e CHRISTODOULOU, J. Rett syndrome: clinical review and genetic update. **J Med Genet**, v. 42, n. 1, p. 1-7, Jan 2005.

XUE, R.; VAN ZIJL, P. C.; CRAIN, B. J.; SOLAIYAPPAN, M. e MORI, S. In vivo three-dimensional reconstruction of rat brain axonal projections by diffusion tensor imaging. **Magn Reson Med**, v. 42, n. 6, p. 1123-1127, Dec 1999.

ZOGHBI, H. Y. Rett syndrome: what do we know for sure? **Nat Neurosci**, v. 12, n. 3, p. 239-240, Mar 2009.

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](#)