



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA
E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO**

ANNA PAULA PARANHOS MIRANDA COVALESKI

DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE: Correlação Genótipo-Fenótipo

Recife
2019

ANNA PAULA PARANHOS MIRANDA COVALESKI

DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE: Correlação Genótipo-Fenótipo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Neurologia.

Orientador: Prof. Dr. Otávio Gomes Lins

Recife
2019

Catálogo na fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

C873d Covaleski, Anna Paula Paranhos Miranda.
 Distrofia muscular de Duchenne: correlação genótipo-fenótipo / Anna
 Paula Paranhos Miranda Covaleski. – 2019.
 47 f.: Il.; tab.; 30 Cm.

 Orientador: Otávio Gomes Lins.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
 Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do
 Comportamento. Recife, 2019.
 Inclui referências e apêndices.

 1. Distrofia muscular de Duchenne. 2. Genótipo. 3. Fenótipo. I. Lins,
 Otávio Gomes (Orientador). II. Título.

616.8 CDD (20.ed.)

UFPE (CCS2020-038)

ANNA PAULA PARANHOS MIRANDA COVALESKI

DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE: Correlação Genótipo-Fenótipo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Neurologia.

Aprovada em: 12/04/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Otávio Gomes Lins (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Luciana Patrícia Alves de Andrade Valença (Examinadora interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Eptácio Leite Rolim Filho (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Rosana Hermínia Scola (Examinadora externa)
Universidade Federal do Paraná

Dedico este trabalho ao meu filho Nicolás, que nasceu junto com o meu mestrado.

AGRADECIMENTOS

Ao meu filho Nicolás, que esteve comigo em todos os momentos do mestrado, assistiu a todas as aulas dentro da minha barriga, me acompanhou em alguns seminários durante a amamentação e me motivou a ser melhor como pessoa e profissional.

Ao meu marido Rogério, por todo companheirismo, apoio e incentivo nesta etapa da minha vida. Obrigada por cuidar do Nicolás, enquanto eu escrevia a dissertação e por me fazer sentir que esse projeto não foi só meu, que essa conquista foi de nossa família.

Ao meu pai, meu professor durante o curso de medicina, que sempre me motivou no mundo da ciência.

À minha mãe, a minha grande inspiração na medicina, que me ensinou a ter equilíbrio emocional em todos os momentos da vida.

Às minhas irmãs, Patrícia e Mariana, pelo apoio e incentivo.

À Vanessa Van Der Linden, pela inspiração e exemplo de dedicação aos pacientes com doenças neuromusculares.

À Ândrea Chaves, pela parceria na avaliação cardiológica dos pacientes com doenças neuromusculares.

À Suellen Neves, pela dedicação e competência nas avaliações neuropsicológicas dos pacientes com Distrofia Muscular de Duchenne.

A Guilherme Villar e a Augusto César, da empresa PaideiaTec, pela cortesia na realização dos mapas com a distribuição dos pacientes.

Aos meus mestres, Dra. Rosana Scolla, Dra. Claudia Kay, Dr. Paulo Lorenzoni e Dr. Lineu Werneck, a quem serei eternamente grata pelos ensinamentos na área de doenças neuromusculares.

À minha colega de mestrado e amiga Ana Claudia Gouveia, que sempre acreditou que eu daria conta deste desafio.

Ao meu orientador, Otávio Lins, pelos ensinamentos e por ter acreditado neste trabalho.

“Eu prefiro ser essa metamorfose ambulante, do que ter aquela velha opinião formada sobre tudo [...]” (SEIXAS, 1973).

RESUMO

A Distrofia Muscular de Duchenne é uma doença ligada ao X, que se apresenta na infância precoce com fraqueza muscular proximal. Os pacientes não tratados tornam-se cadeirantes ao redor de 12 anos e o óbito ocorre devido a complicações cardiorrespiratórias. A doença ocorre devido a uma mutação do gene da distrofina. Não se sabe o motivo pelo qual apenas alguns pacientes apresentam deficiência intelectual e o porquê alguns pacientes têm comprometimento cardíaco mais severo, que já se apresentam em fases iniciais da doença, ou perda da marcha mais precoces. O objetivo deste estudo é caracterizar o fenótipo e o genótipo dos pacientes com Distrofia Muscular de Duchenne e fazer uma correlação genótipo-fenótipo. A análise fenotípica foi realizada através de: idade de perda da marcha, comprometimento cardíaco – distúrbio de condução/arritmia ou miocardiopatia – e comprometimento intelectual. A descrição das mutações genéticas foi agrupada em grandes mutações (deleções e duplicações) e pequenas mutações (mutações nonsense, missense, pequenas deleções, pequenas inserções/duplicações ou mutações em sítios de splice). Os locais das mutações foram mapeados no gene da distrofina. A análise dos dados clínicos foi realizada em relação às seguintes localizações das mutações no gene da distrofina: antes e depois do éxon 30, antes e depois do éxon 45 e antes e depois do éxon 55, que representam os locais responsáveis pelas respectivas isoformas da distrofina: Dp260, Dp140 e Dp116. Este estudo é observacional, descritivo, do tipo corte transversal. Foram estudados 120 pacientes com diagnóstico de Distrofia Muscular de Duchenne confirmados por exame molecular. 43 pacientes haviam realizado teste psicométrico e 61 avaliação cardiológica atual. A mediana de idade de perda de marcha foi 10 anos e do Quociente de Inteligência total foi de 65 pontos. A frequência de distúrbio de condução e/ou arritmia foi de 54% dos pesquisados e 46% apresentavam sinais no ecocardiograma de miocardiopatia. 16 apresentavam tanto distúrbio de condução e/ou arritmia, como miocardiopatia. Deleção foi o tipo de mutação com a mais alta frequência percentual (60.8%). As mutações do tipo duplicações, nonsense, pequenas deleções e splice site mutations ocorreram com frequências aproximadamente iguais a 10%. Em relação à localização das mutações no gene da distrofina, houve diferentes características na distribuição, a depender do tipo de mutações. Não houve significância estatística para as análises da correlação genótipo-fenótipo, exceto em relação ao QI verbal. A mediana do QI verbal foi de 73 para o grupo com mutações antes do exon 55 e 63 para o grupo com mutações após o exon 55. Não foram

observadas associações entre os locais de mutações no gene da distrofina e a idade de perda de marcha ou comprometimento cardíaco.

Palavras-chave: Distrofia Muscular de Duchenne. Genótipo. Fenótipo.

ABSTRACT

Duchenne Muscular Dystrophy is a X-linked disorder, which is usually developed in early childhood with proximal muscle weakness. Untreated patients become wheelchair users at around 12 years of age and death occurs due to cardiorespiratory complications. Such disease is associated with a mutation in the dystrophin-encoding gene. It is not well-elucidated the reason why only a few patients present with intellectual disability, earlier loss of gait control, as well as why some patients have more severe cardiac involvement, which can be noted in the early stages of the disease. This study aims to characterize both phenotype and genotype of patients with Duchenne Muscular Dystrophy, besides presenting a genotype-phenotype correlation. The phenotypic analysis was carried out considering: age of gait loss, cardiac involvement – conduction disorder/arrhythmia or cardiomyopathy – and intellectual impairment. The description of genetic mutations was grouped into large mutations (deletions and duplications) and small mutations (nonsense, missense mutations, small gene deletions, small gene insertions/duplications or mutations at splice sites). The site mutations were mapped to the dystrophin gene. Clinical data analysis was performed regarding the following mutation locations in the dystrophin gene: before and after exon 30, before and after exon 45 and before and after exon 55, thus representing the sites associated with the respective dystrophin isoforms: Dp260, Dp140 and Dp116. This study is observational, descriptive, with a cross-sectional design. Overall 120 patients diagnosed with Duchenne Muscular Dystrophy, confirmed by molecular examination, were studied. Out of these, 43 patients had previously underwent a psychometric test and 61 had already a current cardiac screening. The median age of gait loss was 10 years old and overall Intelligence Quotient was 65 points. The frequency of conduction disorders and/or arrhythmia was 54% of those surveyed and 46% had signs of myocardiopathy on echocardiography. Sixteen had both conduction disturbance and/or arrhythmia associated with myocardiopathy. Deletion was the type of mutation with the highest frequency (60.8%). Duplication, nonsense, small gene deletions and splice site mutations had frequencies approximately corresponding to 10%. Regarding the location of the mutations in the dystrophin gene, different characteristics in the distribution were observed, depending on the type of mutation. There was no statistical significance for genotype-phenotype correlation analysis, except for verbal IQ. The median of verbal IQ was 73 for the group with mutations before exon 55, while the group with mutations after exon 55 had a score of 63 points. No associations were

observed between the sites of mutations in the dystrophy gene and the age of loss of gait or cardiac disorders.

Keywords: Duchenne Muscular Dystrophy. Genotype. Phenotype.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Espectro das Distrofinopatias.....	14
Figura 2 –	Esquema mostrando a distrofina no sarcolema.....	15
Figura 3 –	Estrutura do gene da distrofina e domínios de proteínas e isoformas.....	16
Figura 4 –	Biópsia muscular corada por Hematoxilina-Eosina evidenciando padrão distrófico em paciente com Distrofia Muscular de Duchenne.....	19
Figura 5 –	Imunohistoquímica para distrofina em biópsia muscular.....	20
Figura 6 –	Imagem de dois ensaios de PCR multiplex para detecção de deleção no gene da distrofina.....	21
Figura 7 –	Análise MLPA para o gene da distrofina.....	22
Figura 8 –	Sequenciamento do gene da distrofina.....	22
Figura 9 –	Mapa de distribuição da procedência dos pacientes com DMD.....	29
Figura 10 –	Mapa de distribuição da procedência dos pacientes com DMD com ênfase no estado de Pernambuco.....	29
Figura 11 –	Histograma mostrando distribuição de grandes deleções nos éxons do gene da distrofina.....	33
Figura 12 –	Histograma mostrando distribuição de grandes duplicações nos éxons do gene da distrofina.....	33
Figura 13 –	Histograma mostrando distribuição de pequenas mutações nos éxons do gene da distrofina.....	34
Figura 14 –	Relação entre o QIV e o ponto de mutação no exon 55 do gene da distrofina.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Distribuição da condição de atraso de marcha, deambulação, história familiar e análise. Medidas de locação e dispersão da idade, da idade no início dos sintomas, da idade da perda da marcha, do QIT, do QIV e do QIE	30
Tabela 2 –	Distribuição do distúrbio de condução/arritmia e de miocardiopatia.....	31
Tabela 3 –	Comparação de médias de idade entre os pacientes com e sem distúrbio de condução e entre os pacientes com e sem miocardiopatia.....	31
Tabela 4 –	Frequências das mutações e técnicas de exames moleculares.....	32
Tabela 5 –	Comparação das médias de idade e das medianas de QIT, QIV, QIE e idade de perda de marcha, de acordo com dois grupos de localização das mutações no gene da distrofina: exon 1 – 30 e 31 – 79.....	34
Tabela 6 –	Comparação das médias de idade e das medianas de QIT, QIV e QIE, de acordo com dois grupos de localização do exon: 1 – 45 e 46 – 79.....	34
Tabela 7 –	Comparação das médias de idade e das medianas de QIT, QIV e QIE, de acordo com dois grupos de localização do exon: 1 – 55 e 56 – 79.....	35
Tabela 8 –	Avaliação da associação entre cardiopatia e a localização da mutação no gene da distrofina, classificada em dois grupos, com pontos de corte em 30, 45 e 55, para cada classificação.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AACD-PE	Associação de Assistência à Criança Deficiente de Pernambuco
CPK	Creatinoquinase
DMD	Distrofia Muscular de Duchenne
DMB	Distrofia Muscular de Becker
MLPA	<i>Multiplex ligation-dependent probe amplification</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
QI	Quociente de Inteligência
QIT	Quociente de Inteligência Total
QIE	Quociente de Inteligência de Execução
QIV	Quociente de Inteligência Verbal
WAIS	Escala de Inteligência Wechsler para Adultos
WISC	Escala de Inteligência Wechsler para Crianças
WASI	Escala de Inteligência Wechsler Abreviada
SNP-array	<i>Single Nucleotide Polymorphism Array</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1	EPIDEMIOLOGIA.....	16
1.2	FISIOPATOLOGIA.....	16
1.3	QUADRO CLÍNICO.....	19
1.3.1	Comprometimento motor.....	19
1.3.2	Comprometimento cardíaco.....	19
1.3.3	Comprometimento intelectual.....	20
1.4	DIAGNÓSTICO.....	20
1.4.1	Biópsia muscular.....	21
1.4.2	Exames moleculares.....	22
1.5	TRATAMENTO.....	25
2	JUSTIFICATIVA.....	26
3	OBJETIVO.....	27
3.2	OBJETIVO GERAL.....	27
3.3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
4	PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....	28
4.1	DESENHO DO ESTUDO.....	28
4.2	LOCAL DE ESTUDO.....	28
4.3	POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	29
4.4	VARIÁVEIS DO ESTUDO.....	29
4.5	CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE.....	29
4.6	INSTRUMENTOS PARA COLETAS DE DADOS.....	29
4.7	ANÁLISE DOS DADOS.....	29
4.8	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	29
5	RESULTADOS.....	31
5.1	CORRELAÇÃO GENÓTIPO-FENÓTIPO.....	36
6	DISCUSSÃO.....	39
6.1	FENÓTIPO.....	39
6.2	GENÓTIPO.....	40
6.3	RELAÇÃO GENÓTIPO-FENÓTIPO.....	41
7	CONCLUSÃO.....	43

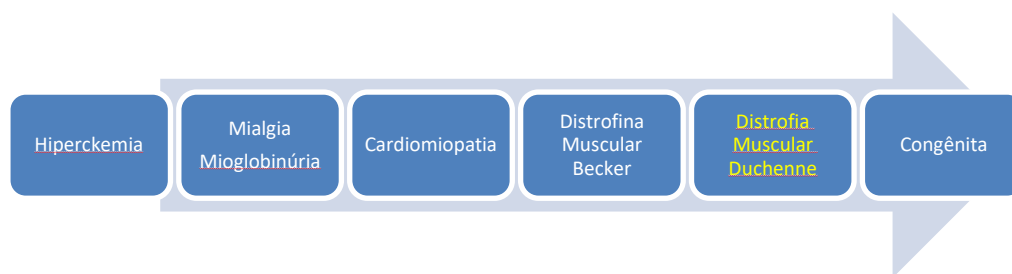
REFERÊNCIAS.....	44
APÊNDICE A - INSTRUMENTOS PARA COLETA DE DADOS	47

1 INTRODUÇÃO

As distrofias musculares são um grupo amplo de doenças musculares hereditárias com fenótipos variáveis. As causas moleculares dos tipos de distrofias musculares têm sido identificadas e pesquisas para terapias eficazes estão em andamento.

As Distrofinopatias representam um espectro de doenças musculares causada por mutações no gene que codifica a proteína distrofina, com herança ligada ao X. As formas leves desse espectro incluem hiperckemia assintomática e mialgia associada a mioglobínúria. As formas severas do espectro são a Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) e Distrofia Muscular de Becker (DMB), que afetam principalmente os músculos esqueléticos, além da Cardiomiopatia dilatada ligada ao X, que tem como alvo o músculo cardíaco (BRANDSEMA; DARRAS, 2015).

Figura 1. Espectro das Distrofinopatias



Fonte: adaptado de Brandsema (2015).

1.1 EPIDEMIOLOGIA

A DMD é a forma mais comum de doenças musculares hereditárias na infância, com uma incidência estimada de 1 a cada 3.500 meninos (EMERY; EH, 1991). A Distrofia muscular de Becker é geralmente mais leve e tem uma forma de apresentação mais variável, com incidência de 1 em 18.518 nascimentos do sexo masculino (EMERY; EH, 1991).

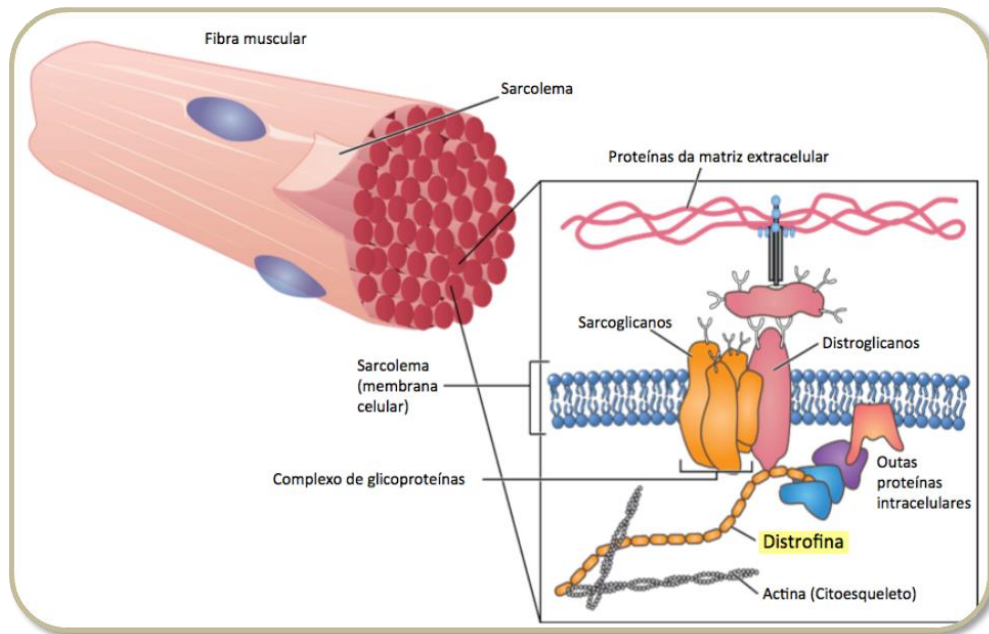
1.2 FISIOPATOLOGIA

A distrofina é uma grande proteína estrutural (427 kDa), cuja função é conectar o citoesqueleto interno da fibra esquelética com as proteínas da matriz extracelular, estabilizando a contração muscular. A proteína distrofina age como um amortecedor durante a contração da fibra muscular (KOENIG; MONACO; KUNKEL, 1988) (AARTSMA-RUS, 2014).

Na DMD, a distrofina está ausente ou disfuncionante, resultando, assim, em um desequilíbrio na integridade da bicamada lipídica da membrana, com influxo de cálcio e necrose

celular (HOFFMAN; DRESSMAN, 2001) (WROGEMANN; PENA, 1976). A conexão entre a actina do citoesqueleto e o tecido conjuntivo é perdida e as fibras musculares são facilmente danificadas durante a contração, levando a dano muscular crônico, inflamação e eventualmente substituição de fibras musculares por gordura e tecido fibrótico e, portanto, perda da função muscular (MUNTONI; TORELLI; FERLINI, 2003).

Figura 2: Esquema mostrando a distrofina no sarcolema



Fonte: adaptado de Marieb (2013).

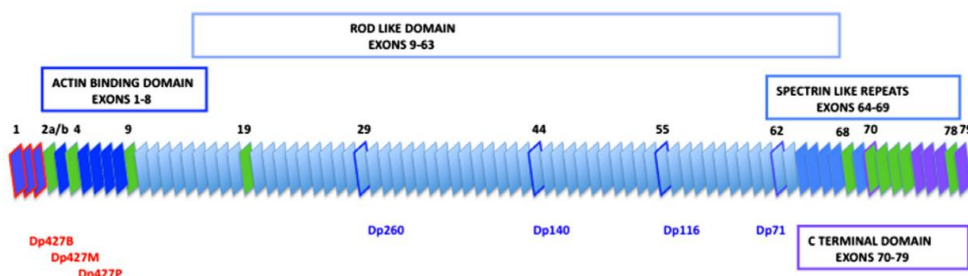
A distrofina é uma molécula em forma de bastão composta por quatro domínios. O domínio amino-terminal se liga ao filamento de actina do citoesqueleto. O segundo domínio tem similaridade com espectrina e provê integridade estrutural às células vermelhas sanguíneas. O terceiro domínio é uma região rica em cisteína e o quarto domínio é o carboxi-terminal. O domínio rico em cisteína e a primeira metade do domínio carboxi-terminal da distrofina são importantes em ligar a distrofina a beta-distroglicana e glicoproteínas que abrangem o sarcolema (AMATO, 2016).

A distrofina também está presente no cérebro, onde se localiza em uma estrutura em forma de disco abaixo da membrana pós-sináptica em sinapses químicas (AMATO, 2016). Através de interações com uma variedade de proteínas da matrix extracelular, membrana plasmática, citoesqueleto e compartimentos intracelulares distintos, a distrofina cerebral adquire a capacidade de participar de ações modulatórias de um grande número de vias sinalizadoras celulares. Durante o desenvolvimento neural, a distrofina é expressa dentro do

tubo neural e em áreas selecionadas do neuroeixo embrionário e pós-natal e pode regular distintos aspectos da neurogênese, migração neural e diferenciação celular. Já no cérebro maduro, a distrofina é preferencialmente expressa por subpopulações neuronais regionais específicas dentro de microdomínios somático-dendríticos proximais com membranas terminais sinápticas. Evidências experimentais sugerem que na vida adulta, a distrofina normalmente modula a integridade do terminal sináptico, formas distintas de plasticidade sináptica e integração de sinal celular regional (MEHLER, 2000).

O Gene da distrofina ocupa 2.2 megabases em Xp21 no cromossomo X humano e ele é composto por 79 exons. O Exon 79 é o maior (2,7 Kb). O gene possui 3 promotores principais, o cerebral (B), o muscular (M) e o de Purkinje (P), que guiam a transcrição de toda a distrofina em um tecido específico. Além disso, pelo menos outros 4 primeiros exons tem sido reconhecido como adjacentes aos promotores responsáveis por isoformas de distrofina curtas e localizados nos introns 29 (isoforma retiniana ou Dp260, R), 44 (isoforma específica cerebral ou Dp140, B3), 55 (isoforma da célula de Schwann ou Dp116, /S) e 62 (isoforma geral ou Dp71, G). Vários exons utilizados alternativamente, também têm sido descritos. A arquitetura do gene da distrofina, reportando a composição dos exons, isoformas, domínios relevantes e organização estrutural está exposta na figura 3 (FERLINI; NERI; GUALANDI, 2013).

Figura 3. Estrutura do gene da distrofina e domínios de proteínas. Representação esquemática de 79 exons do gene da distrofina com as isoformas e domínios da proteína. Linhas em vermelho representam os promotores 5' de comprimento total e seu primeiro exon (isoformas Dp427B-M-P). Linhas em azul representam os promotores 3' e seus primeiros exons das isoformas: Dp260 (retina), Dp140 (cérebro 3), Dp116 (células de Schwann), Dp71 (geral). Em verde estão representados exons alternativamente unidos ou saltados. Diferentes cores azul/violeta das caixas explicam os domínios proteicos correspondendo a diferentes regiões exonícas



Fonte: Ferlini (2013).

1.3 QUADRO CLÍNICO

Na DMD, a ausência da proteína distrofina leva a necrose muscular progressiva, que causa perda da marcha independente na adolescência precoce, cardiomiopatia, insuficiência respiratória e morte prematura nos indivíduos afetados. Observa-se também nesta doença

disfunção cognitiva, além de maior frequência de comorbidades psiquiátricas, como transtorno do déficit de atenção e hiperatividade, transtorno obsessivo compulsivo, além de transtorno do espectro autista (ANDERSON *et al.*, 2002).

1.3.1 COMPROMETIMENTO MOTOR

A DMD se apresenta geralmente na infância precoce, alguns pacientes podem apresentar atraso do desenvolvimento motor, incluindo atraso para sentar e marcha independente (DARRAS *et al.*, 2015). A maioria dos meninos com DMD apresentam início dos sintomas entre 3 a 5 anos. A fraqueza é tipicamente de membros inferiores proximal e de tronco, seguida por envolvimento de membros superiores e músculos distais. Fraqueza de músculos flexores do pescoço são frequentemente presentes no início do quadro clínico e muitos meninos com DMD nunca conseguem pular. A maioria dos pacientes, entre 3 a 6 anos de idade, tem alguma evidência de melhora transitória da força e das habilidades motoras (embora menos que as crianças sem a doença), conhecida como “fase de lua de mel” (DARRAS *et al.*, 2015). Após este estágio, ocorre deterioração progressiva na força. A maioria dos pacientes não tratados tornam-se cadeirantes entre 11 e 12 anos de idade (YIU; KORNBERG, 2015).

Características do exame físico incluem marcha anserina e digitígrada, pseudohipertrofia de panturrilhas, pés chatos e sinal de Gowers positivo, sendo este último um sinal de fraqueza proximal não específico e não patognomônico de DMD (YIU, 2015). Os meninos empregam a manobra de Gowers para levantarem da posição supina, utilizando seus braços para compensar a fraqueza de músculos da cintura pélvica (GRIGGS; MENDELL; MILLER, 1995). Após a perda da marcha, alterações cardíacas, respiratórias e ortopédicas se tornam mais proeminentes.

1.3.2 COMPROMETIMENTO CARDÍACO

Alterações cardiológicas são a causa de morte em 20% dos indivíduos com DMD (HERMANS *et al.*, 2010). O envolvimento cardíaco é geralmente assintomático nas fases iniciais da distrofinopatia. Taquicardia sinusal e várias outras anormalidades no eletrocardiograma podem ser encontradas. Nas fases iniciais, o ecocardiograma é tipicamente normal ou mostra apenas anormalidades regionais. Novas técnicas ecocardiográficas com medidas de tensão miocárdica são úteis para o diagnóstico precoce de acometimento cardíaco em pacientes com DMD (CIRINO *et al.*, 2019). Com a evolução, cardiomiopatia dilatada pode

ocorrer e geralmente se apresenta com insuficiência cardíaca congestiva, secundária a um aumento do tamanho de ventrículo e comprometimento da função ventricular.

1.3.3 COMPROMETIMENTO INTELECTUAL

Além do atraso motor, observa-se atraso da linguagem nesses pacientes. A deficiência intelectual é um aspecto bastante frequente entre meninos com DMD, afetando cerca de 30% deles (NARDES; ARAÚJO; RIBEIRO, 2012). A gravidade da deficiência intelectual não parece se correlacionar com a intensidade da fraqueza muscular.

Testes psicométricos podem auxiliam na avaliação da inteligência destes pacientes com DMD. O Quociente de Inteligência (QI) é medido por testes de inteligência e adequado à cultura onde utilizado (TISSER, 2018). Alguns instrumentos podem ser utilizados para a medida do QI, dentre eles a Escala de Inteligência Wechsler para crianças (WISC III ou WISC IV), a Escala de Inteligência Wechsler para Adultos (WAIS) e a Escala de Inteligência Wechsler Abreviada (WASI). Esta última escala é um instrumento mais breve de avaliação da inteligência, aplicável a crianças de 6 a idosos de 89 anos de idade. Fornece informações sobre os QIs total, de execução e verbal, a partir de quatro subtestes (vocabulário, cubos, semelhanças e raciocínio matricial) em um curto espaço de tempo. Esta escala ainda fornece a possibilidade de avaliação do QI Total com apenas dois subtestes (vocabulário e raciocínio matricial). A WASI tem sido o instrumento optado em alguns serviços para avaliação dos pacientes com doenças neuromusculares, visto que são pacientes com limitações de força e de mobilidade e, portanto, há uma maior dificuldade para transporte deste paciente aos centros especializados. Como a WASI pode ser realizada em uma única visita, abrevia a avaliação destes pacientes. A média do QI dos pacientes com DMD é de 85, ou seja, abaixo do QI considerado normal na população geral, que oscila entre 90 e 120. Geralmente o QI verbal é mais intensamente afetado que o QI de execução (NARDES; ARAÚJO; RIBEIRO, 2012).

1.4 DIAGNÓSTICO

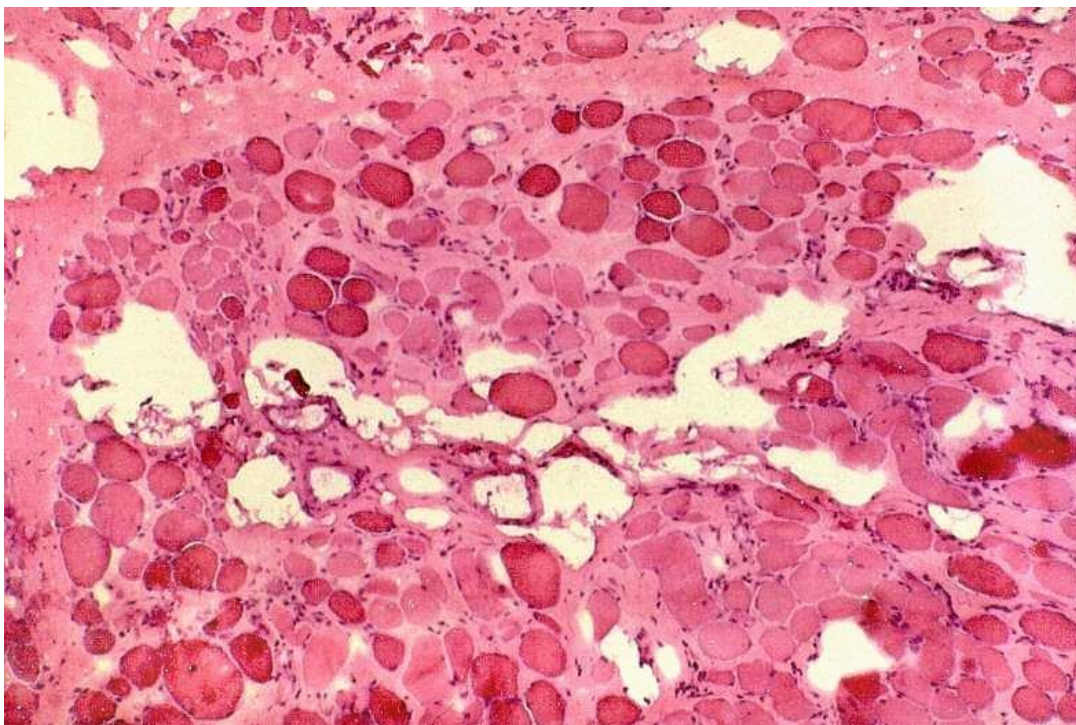
O diagnóstico de DMD e DMB são baseados nas características clínicas e confirmado por investigação adicional, incluindo biópsia muscular e/ou análise molecular do gene da distrofina. Exames laboratoriais podem mostrar aumento de dosagem de enzimas musculares como a creatinofosfoquinase (CPK), além de achados incidentais de aumento de transaminases (YIU, 2015). A eletromiografia mostra padrão miopático, no entanto, não há necessidade de utilizar este exame neurofisiológico para os casos típicos. A Ressonância de músculo vem

apresentando papel crescente nas doenças musculares e, de acordo com os músculos comprometidos, pode sugerir o diagnóstico de DMD: atrofia moderada a severa dos músculos glúteo máximo, médio, semimembranoso e vasto, associado a envolvimento ausente ou leve dos músculos psoas, ilíaco, sartório, grácil e adutor longo (DÍAZ-MANERA,2015).

1.4.1 BIÓPSIA MUSCULAR

A biópsia muscular dos pacientes com DMD mostra características distróficas. Há fibras musculares em necrose e em regeneração esparsas, variabilidade do tamanho das fibras musculares, aumento do tecido conjuntivo endomisial e perimisial, fibras hipertróficas esparsas, além de fibras pequenas, arredondadas, em regeneração. Divisão de fibras e núcleo central também podem ser vistos, mas ocorrem menos frequentemente que em outras distrofias musculares. O processo de degeneração e regeneração continua até a capacidade regenerativa limite das células satélites ser excedida, no momento em que o tecido muscular necrótico é substituído por gordura e tecido conjuntivo (AMATO, 2008).

Figura 4. Biópsia muscular corada por Hematoxilina-Eosina evidenciando padrão distrófico em paciente com DMD

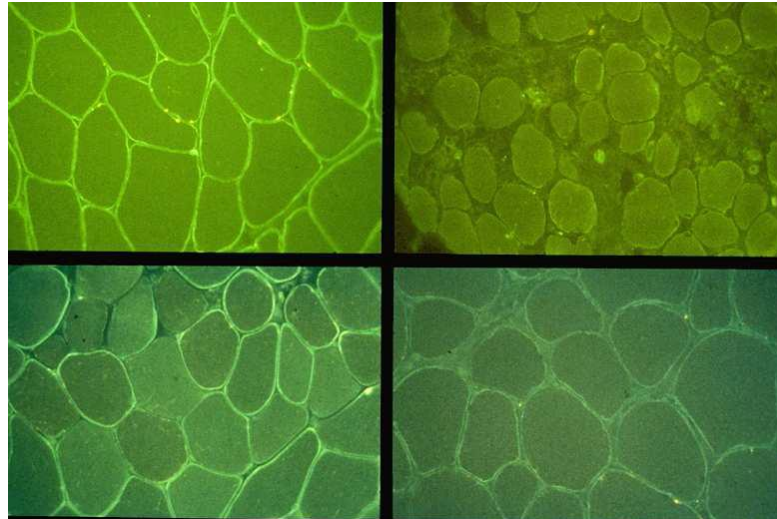


Fonte: Anatomia Patológica Unicamp. Disponível em: <http://anatpat.unicamp.br/musduchenne.html>

A Imunohistoquímica demonstra distrofina ausente ou reduzida no sarcolema. Aproximadamente 60% dos pacientes com DMD tem alguma marcação fraca da membrana

muscular, usando anticorpos contra os domínios amino terminal ou rod da distrofina. Contudo, menos de 1% das fibras musculares tem marcação sarcolemal, com anticorpos contra o domínio carboxi-terminal da distrofina. As poucas fibras musculares positivas para distrofina são conhecidas como revertentes.

Figura 5. Imunohistoquímica para distrofina em biópsia muscular. Ausência de marcação para distrofina em paciente com DMD e marcação reduzida em paciente com DMB e mulher portadora



Fonte: Fotos do curso *Summer School of Myology 2013*, cortesia de Romeiro, não publicado.

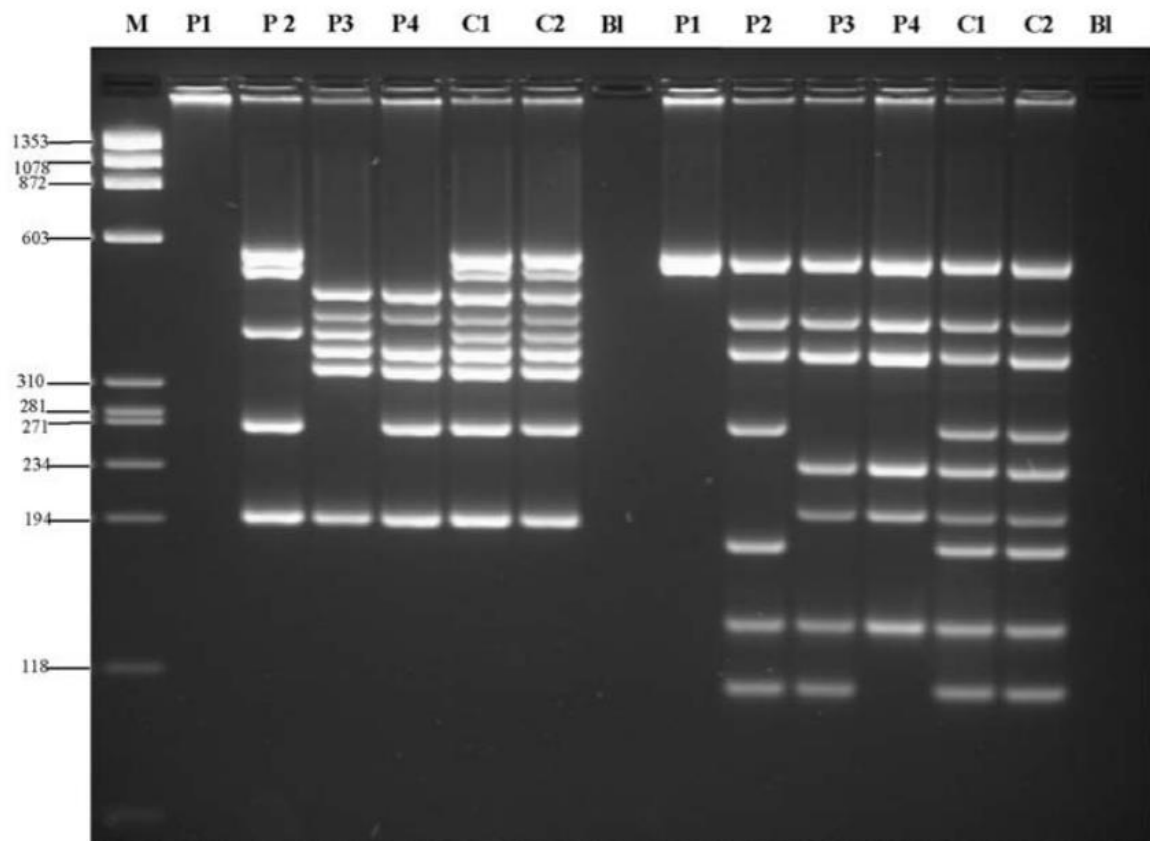
Immunoblot ou Western blot de tecido muscular avalia tanto a quantidade, quanto o tamanho da distrofina presente. Com o uso de anticorpos anti-carboxi-terminal, o Western blot revela 0 a 3% da quantidade normal de distrofina presente no tecido muscular e o tamanho da distrofina remanescente é geralmente diminuída. Com anticorpos anti-amino-terminal ou domínio rod, aproximadamente 50% dos pacientes com DMD tem alguma distrofina truncada detectável (AMATO, 2008). No entanto, devido ao fato de a biópsia muscular ser um procedimento invasivo, atualmente os exames genéticos são mais utilizados a fim de diagnóstico.

1.4.2 EXAMES MOLECULARES

Os exames moleculares mais utilizados de rotina são *Multiplex ligation-dependent probe amplification* (MLPA) e Sequenciamento do gene da distrofina através das técnicas Sanger ou Next Generation Sequencing. Há uma década, o exame Polymerase Chain Reaction (PCR) ainda era muito utilizado como rotina, no entanto, por detectar apenas as grandes deleções e avaliar alguns dos exons mais acometidos, hoje tem sido substituído pelo MLPA,

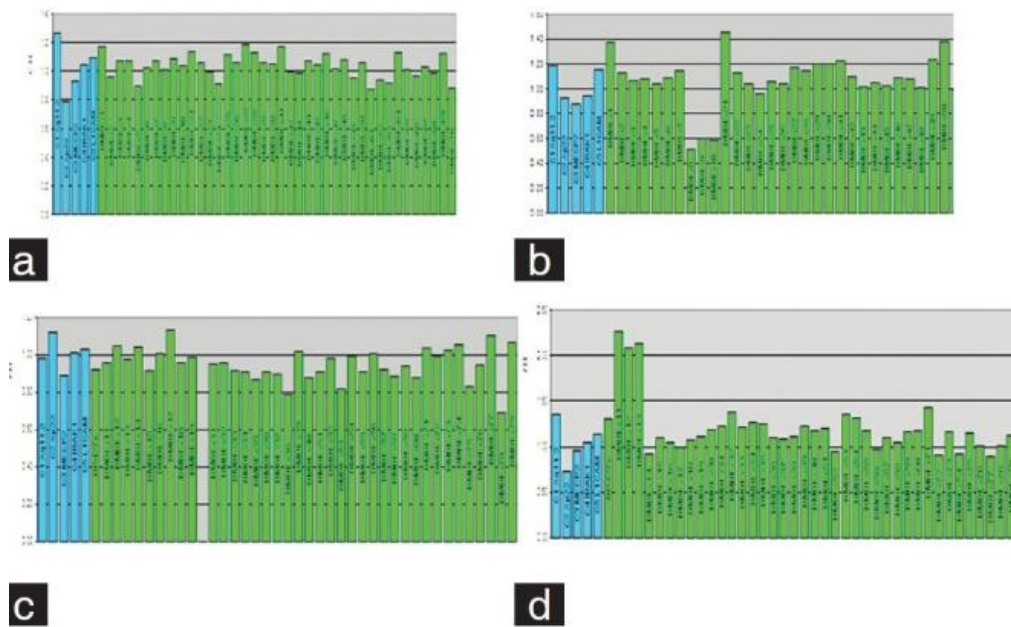
que tem maior sensibilidade, detecta grandes deleções e duplicações e consegue avaliar todos os éxons (EBRAHIMZADEH-VESAL et al., 2017). O sequenciamento do gene da distrofina consegue identificar as pequenas mutações, que não são encontradas nas técnicas de PCR e MLPA.

Figura 6. Imagem de 2 ensaios de PCR multiplex para detecção de deleção no gene da distrofina. No paciente 1, uma deleção de quase todos os éxons do gene, com exceção do exon 1; no paciente 2, uma deleção dos éxons 9 a 19; no paciente 3, uma deleção dos éxons 44 a 50; no paciente 4, uma deleção dos éxons 45 a 52



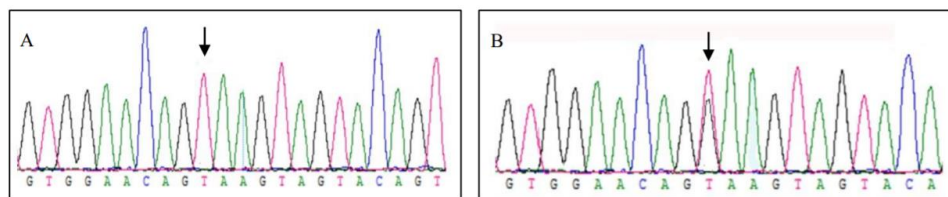
Fonte: Kneppers (1992).

Figura 7. Análise MLPA para o gene da distrofina: (a), normal; (b), deleção em heterozigose em exons 8-10 em mulher portadora; (c), deleção em hemizigose em exon 21; (d), duplicação em hemizigose em exons 11-13



Fonte: Verma (2012).

Figure 8. Sequenciamento Sanger do gene da distrofina mostrando mutação nonsense. A, o paciente apresenta substituição do nucleotídeo G>T em hemizigose; B, mãe do paciente com substituição em heterozigose na mesma posição



Fonte: Ebrahimzadeh-Vesal (2017).

Na DMD, mutações impedem a função da distrofina, tanto interrompendo o quadro de leitura, como gerando um códon de parada prematuro. Em contraste, indivíduos com DMB apresentam mutações que mantêm o quadro de leitura, permitindo a produção de distrofina parcialmente funcional. Consequentemente, indivíduos com DMB apresentam um início dos sintomas mais tardio e uma progressão da doença mais lenta, embora haja variações fenotípicas.

O gene da distrofina é o maior gene humano conhecido, contendo 79 éxons abrangendo 2.2 Mb (MUNTONI; TORELLI; FERLINI, 2003). A taxa de mutação é relativamente alta: em 1/3 dos casos, DMD é causada por uma mutação de novo. Esta alta taxa de mutação também está por trás da grande variedade de mutações, que têm sido identificadas em pacientes com DMD (AARTSMA-RUS, 2014) (BLADEN et al., 2015). Embora a maioria dos pacientes tenha

deleção (~68%) ou duplicação (~11%) de um ou mais éxons, pequenas mutações são encontradas também (~20% dos pacientes). Essas deleções e duplicações podem acontecer em qualquer lugar do gene, mas estão concentradas entre os éxons 45-55 e éxons 2-10 para deleções e duplicações respectivamente (ANKALA *et al.*, 2012).

O diagnóstico molecular é importante para o aconselhamento genético e, com as novas terapias direcionadas a mutações específicas do gene da distrofina, para avaliar quando os pacientes são elegíveis para estes tratamentos.

1.5 TRATAMENTO

Até os dias atuais, não há cura para a DMD, no entanto existem tratamentos modificadores de doença. O corticoide já vem sendo utilizado de longa data e mostrou aumento do tempo de marcha dos pacientes, além de diminuição da escoliose e melhora nos parâmetros cardíacos, ventilatórios e diminuição da mortalidade (GOEMANS, 2018).

Novas diretrizes de tratamento têm sido padronizadas nos últimos anos. Existe um número crescente de opções terapêuticas. Tratamento de causas fisiopatológicas subjacentes, tais como substituição pelo gene da microdistrofina, exon skipping, terapias com ação em códigos de parada prematuros e moduladores da utrofina mostraram sucesso variável em estudos animais e humanos. Terapias sintomáticas direcionadas à isquemia muscular, aumento da regeneração muscular, prevenção de fibrose muscular, inibição da miostatina e redução da inflamação também estão em investigação (CRONE; MAH, 2018), (SHIEH, 2018).

Medicamentos para tratamento da cardiomiopatia associada, tais como inibidor da enzima conversora de angiotensina ou beta-bloqueadores, dentre outros, devem ser utilizados de forma precoce. Outros cuidados como o uso de ventilação não-invasiva aumentou a sobrevida e melhorou a qualidade de vida destes meninos. A cirurgia de coluna é indicada para alguns casos a fim de corrigir a escoliose. E a reabilitação é parte essencial do plano terapêutico destes pacientes (ARAÚJO *et al.*, 2017).

2 JUSTIFICATIVA

Não se sabe o motivo pelo qual apenas alguns pacientes com DMD apresentam deficiência intelectual e o porquê alguns pacientes têm comprometimento cardíaco mais severo, que já se apresentam em fases iniciais da doença, além de início dos sintomas e perda da marcha precoces, enquanto outros pacientes com a mesma doença não têm essa forma de apresentação clínica. A resposta ao questionamento de uma possível correlação entre o local de mutação no gene da distrofina e idade de perda da marcha, comprometimento cardíaco e intelectual seria de grande valia para melhor compreensão do papel do gene da distrofina em relação à DMD e, na prática clínica, no acompanhamento mais rigoroso de pacientes com mutações em determinados locais do gene da distrofina. É possível que haja uma relação do local de mutação no gene da distrofina nos pacientes com DMD com as variáveis fenotípicas acima descritas.

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Correlacionar o genótipo ao fenótipo dos pacientes com DMD atendidos na Associação de Assistência à Criança Deficiente de Pernambuco (AACD-PE).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar os pacientes com DMD atendidos da AACD-PE;

Mapear a procedência destes pacientes com DMD;

Relatar se há história familiar para DMD

Descrever a idade de perda de marcha dos pacientes com DMD;

Caracterizar o comprometimento cardíaco – miocardiopatia ou distúrbio de condução/arritmia – nos pacientes com DMD;

Caracterizar o comprometimento intelectual, através de teste psicométrico com uso da WASI nos pacientes com DMD;

Descrever as mutações genéticas encontradas nos pacientes com DMD: grandes mutações (deleções ou duplicações) e pequenas mutações (mutações nonsense, missense, pequenas deleções, pequenas inserções/duplicações (frameshift) ou mutações em sítios de splice);

Mapear os locais das mutações no gene da distrofina;

Correlacionar o local de mutação do gene da distrofina à idade de perda da marcha, à avaliação de inteligência e ao comprometimento cardíaco.

4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Após ser realizada uma revisão sobre a caracterização clínica e genotípica dos pacientes com DMD, foi desenvolvido um estudo observacional, descritivo, do tipo corte transversal com pacientes com diagnóstico de DMD acompanhados no Ambulatório de Doenças Neuromusculares da AACD-PE. Foi realizada uma busca entre os prontuários de 1854 pacientes atendidos no Ambulatório de Doenças Neuromusculares da AACD-PE, a fim de identificar os pacientes com DMD. Foram excluídos os casos em que os pacientes não fizeram teste genético para confirmação da doença e os casos em que houve óbito. Foram detectados 120 pacientes em acompanhamento com diagnóstico de DMD e exame molecular confirmando a doença.

A coleta de dados dos prontuários dos pacientes com DMD foi realizada através do instrumento para coleta de dados (Apêndice 1) com registro das seguintes informações: cidade de procedência do paciente, história familiar, idade atual, idade de início dos sintomas, perda ou não da marcha, idade de perda da marcha (nos casos em que houve perda de deambulação), atraso na marcha, avaliação cardiológica, avaliação de inteligência e resultados dos exames genéticos.

Foi realizado um mapeamento da procedência dos pacientes, por meio do software PaideiaTec©. O comprometimento cardíaco foi classificado como miocardiopatia e/ou distúrbio de condução/arritmia, de acordo com a avaliação de cardiologista especialista em doenças neuromusculares. O comprometimento intelectual foi definido através da avaliação psicométrica realizada por neuropsicólogo com o uso da WASI. Os dados clínicos acima descritos foram então correlacionados ao local da mutação no gene da distrofina. A análise dos dados clínicos foi realizada em relação às seguintes localizações das mutações no gene da distrofina: antes e depois do éxon 30, antes e depois do éxon 45 e antes e depois do éxon 55, que representam os locais responsáveis pelas respectivas isoformas da distrofina: Dp260, Dp140 e Dp116.

4.2 LOCAL DE ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME) da AACD, em Recife, Pernambuco, através da coleta de dados dos prontuários dos pacientes com DMD.

4.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA

A amostra é composta por todos os pacientes com diagnóstico de DMD confirmados através de exames moleculares, atendidos no Ambulatório de Doenças Neuromusculares da AACD-PE.

4.4 VARIÁVEIS DO ESTUDO

Variáveis demográficas: Idade, procedência dos pacientes com DMD, história familiar;

Variáveis Clínicas: idade de início dos sintomas, idade de perda da marcha (caso o paciente tenha parado de deambular), presença de alterações cardiológicas: distúrbio de condução/arritmia e/ou miocardiopatia, QI total, QI verbal, QI de execução, tipos e locais das mutações - Exon(s) ou Intron – do gene da distrofina.

4.5 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Critérios de inclusão:

Apresentar diagnóstico de DMD confirmado através de teste genético

Critérios de exclusão:

Pacientes com perda de acompanhamento, sem avaliação dos parâmetros clínicos necessários para a pesquisa;

Pacientes que foram a óbito.

4.6 INSTRUMENTOS PARA COLETAS DE DADOS

Foi construído um instrumento para coleta de dados, específico para atender aos objetivos dessa pesquisa (vide apêndice), o qual foi preenchido pela pesquisadora.

4.7 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados categóricos foram resumidos através de frequência absoluta e relativa percentual. Os dados numéricos foram resumidos através da média ou da mediana (como medida de localização) e do desvio padrão ou intervalo interquartil (como medida de dispersão). A média e o desvio padrão foram utilizados para resumir a idade, haja visto que essa variável apresentou uma distribuição compatível com uma distribuição normal. As demais variáveis numéricas, por apresentarem distribuições com marcada assimetria, foram resumidas através de mediana e intervalo interquartil. Em todos os testes de hipóteses, foram comparados sempre

dois grupos de pacientes. As médias da idade foram comparadas com o teste t de Student para amostras independentes e, para as outras variáveis, as medianas foram comparadas com o teste exato de Fisher. Em todos os testes, foi adotado o nível de significância de 5%. A análise estatística foi realizada com o software Stata 12.1SE (StataCorp, College Station, Texas, USA).

4.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CAAE: 85891318.4.0000.5208). Não houve necessidade do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), uma vez que a pesquisa foi realizada apenas com revisão de prontuários de pacientes que já foram diagnosticados com DMD. Serão garantidos o sigilo e a confidencialidade das informações. Os dados serão utilizados apenas para este projeto de pesquisa. Esta pesquisa ofereceu riscos mínimos aos pacientes, como risco no acesso ao prontuário e garantia da confidencialidade das informações.

5 RESULTADOS

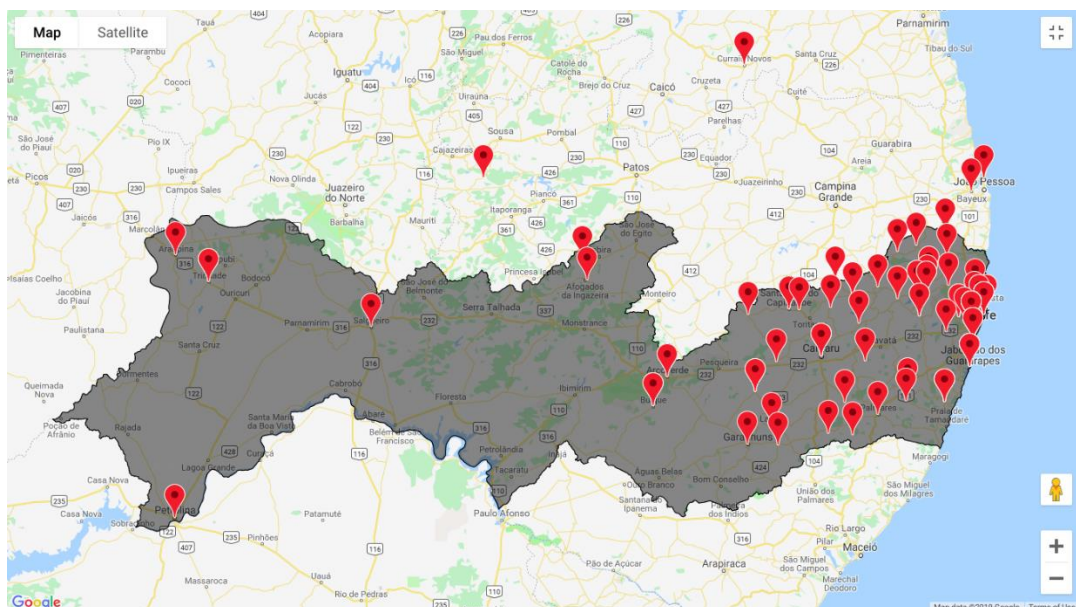
Em relação à procedência destes pacientes, 7 não possuíam este dado em prontuário, 107 são procedentes de Pernambuco, 4 da Paraíba, 1 de São Paulo e 1 de Rondônia (Figura 9). Dentre os pacientes procedentes de Pernambuco, a maioria reside na zona da mata, seguido pelo agreste (Figura 10).

Figura 9. Mapa de distribuição da procedência dos pacientes com DMD



Fonte: Própria (2019).

Figura 10. Mapa de distribuição da procedência dos pacientes com DMD com ênfase em Pernambuco



Fonte: Própria (2019)

Todos os pacientes eram do sexo masculino. A idade variou de 4 a 29 anos, com média de 15,2 anos (desvio padrão = 5,9 anos). 42% dos pacientes tinham história familiar de DMD. A frequência de atraso da marcha foi de 23,5%. O início dos sintomas variou entre 0 a 7 anos de idade e a mediana foi de 2 anos. 75% dos pacientes iniciaram os sintomas antes dos 4 anos de idade. No que se refere à deambulação, 1 paciente nunca adquiriu marcha, 70% dos pacientes não deambulam atualmente, com mediana de idade de perda de marcha de 10 anos, mínimo de 3 e máximo de 16 anos (Tabela 1).

Os dados da avaliação de inteligência foram coletados a partir dos resultados da Escala WASI em 43 prontuários. Entre os 43 pacientes avaliados, a idade variou de 5 a 23 anos, com média de 12,8 anos (desvio padrão = 4,4 anos). 6 pacientes, devido a limitações motoras incapacitantes, realizaram apenas 2 dos 4 subtestes da escala WASI, sendo possível determinar o QI total, mas não o QI verbal e de execução destes. O QI total dessa população variou de 40 a 122 pontos, com mediana igual a 65 pontos. Tanto a mediana do QI verbal, como a do QI de execução foram de 68 pontos (Tabela 1). Segundo a classificação do QI dos pacientes, 62,9% foram considerados extremamente baixos, 13,9% limítrofes, enquanto que 7% foi classificado como médio, 13,9% médio inferior e apenas um dos pesquisados com QI superior (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição da condição de atraso de marcha, deambulação, história familiar e análise. Medidas de locação e dispersão da idade, da idade no início dos sintomas, da idade da perda da marcha, do QIT, do QIV e do QIE

Variáveis categóricas	N (%)
Atraso da marcha (N = 119)	
Sim	28 (23.5)
Não	91 (76.5)
Deambula (N = 117)	
Sim	35 (29.9)
Não	82 (70.1)
História familiar (N = 116)	
Sim	49 (42.2)
Não	67 (57.8)
Classificação do QI (N = 43)	
Superior	1 (2.3)
Médio	3 (7.0)
Médio Inferior	6 (13.9)
Limítrofe	6 (13.9)
Extremamente baixo	27 (62.9)
Variáveis numéricas	
Idade, anos (N = 120)	15.2 ± 5.9 (4 – 29)*
Idade no início dos sintomas, anos (N=119)	2 (1.5 – 4)†
Idade da perda da marcha, anos (N = 82‡)	10 (9 – 12)†
QIT (N = 43)	65 (56 – 76)†
QIV (N = 37)	68 (61 – 78)†
QIE (N = 37)	68 (57 – 81)†

*Média ± DP (Mínimo – Máximo); † Mediana (P₂₅ – P₇₅). ‡ Número de pacientes para os quais havia registro da idade de perda da marcha.

Em relação ao comprometimento cardíaco, 61 pacientes tinham registro em prontuário de avaliação cardiológica no último ano, dos quais a idade variou entre 4 e 29 anos, com média de 14,5 anos (desvio padrão = 5,7 anos). A frequência de distúrbio de condução e/ou arritmia foi de 54% dos pesquisados e 46% apresentavam sinais no ecocardiograma de miocardiopatia (Tabela 2). Dos 61 pacientes avaliados, 16 apresentavam tanto distúrbio de condução e/ou arritmia, como miocardiopatia.

Tabela 2. Distribuição de distúrbio de condução e/ou arritmia e de miocardiopatia

Variável	N (%)
Distúrbio de condução e/ou arritmia (N = 61)	
Sim	33 (54.1)
Não	28 (45.9)
Miocardiopatia (N = 61)	
Sim	28 (45.9)
Não	33 (54.1)

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de idade dos pacientes com ou sem distúrbio de condução e/ou arritmia. Por outro lado, a média da idade foi significativamente maior nos pacientes com miocardiopatia em relação aos pacientes sem miocardiopatia (Tabela 3).

Tabela 3. Comparação de médias de idade entre os pacientes com e sem distúrbio de condução/arritmia e entre os pacientes com e sem miocardiopatia

	Distúrbio de condução/arritmia			Miocardiopatia		
	Sim	Não	P*	Sim	Não	P*
Idade, média $\pm$ dp (N)	15 $\pm$ 5.4 (33)	14 $\pm$ 6.1 (28)	0.502	17.9 $\pm$ 4.6 (28)	11.7 $\pm$ 5.0 (33)	< 0.001

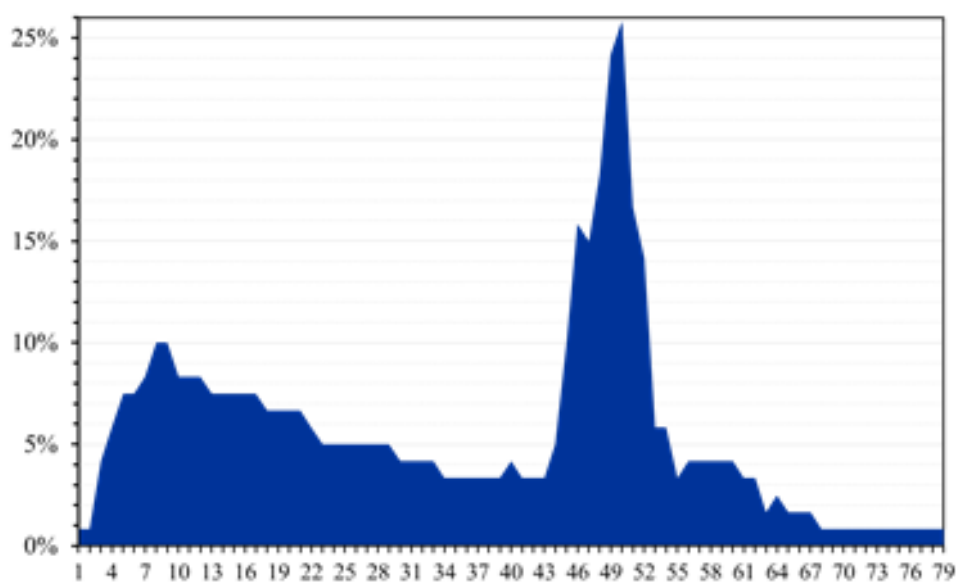
*Teste t de Student para amostras independentes.

No que diz respeito às técnicas de exames genéticos, o MLPA foi o mais realizado, seguido do sequenciamento do gene da distrofina. 30% dos pacientes fizeram o exame do sequenciamento do gene da distrofina, a fim de detectar pequenas mutações, após ter realizado o MLPA, que não encontrou grandes deleções ou duplicações. De acordo com os resultados mostrados na Tabela 4, percebe-se que grandes deleções foi o tipo de mutação com a mais alta frequência percentual (60.8%) encontrada entre os 120 pacientes do estudo. A mais baixa (1.7%) foram as mutações do tipo pequenas inserções/duplicações. Por outro lado, as mutações do tipo grandes duplicações, nonsense, pequenas deleções e mutações em sítios de *splice* ocorreram com frequências aproximadamente iguais a 10%.

Tabela 4. Frequências das mutações no gene da distrofina e técnicas de exames moleculares

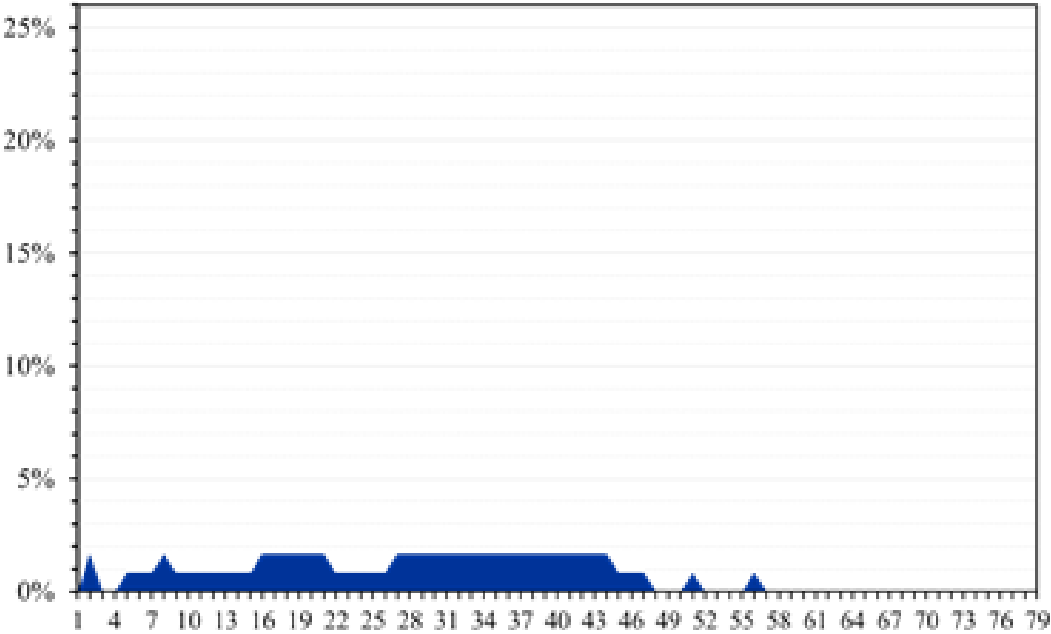
Variável	N (%)
Mutações (N = 120)	
Grandes deleções	73 (60.8)
Grandes duplicações	11 (9.2)
Nonsense	13 (10.8)
Pequenas deleções (frameshift)	11 (9.2)
Pequenas inserções/duplicações (frameshift)	2 (1.7)
Mutações em sítios de splice	10 (8.3)
Técnicas de exames moleculares (N = 120)	
PCR	1 (0.8)
MLPA	119 (99,2)
Sequenciamento	36 (30.0)

Em relação à localização das mutações no gene da distrofina, não foram encontrados estes dados no prontuário de 6 pacientes. Os dados dos 114 prontuários analisados mostraram diferentes características na distribuição, a depender do tipo de mutações. No que se refere às grandes deleções, há 2 áreas de *hotspots*, uma menor entre os exons 4 e 17 e outra maior entre 44 e 54 (Figura 11). Já para as grandes duplicações, há pequenas áreas de *hotspots* entre os exons 16 a 20 e 27 a 44 e não há nenhuma grande duplicação na porção terminal do gene da distrofina (Figura 12). No que diz respeito às pequenas mutações, há uma distribuição uniforme no gene da distrofina (Gráfico 13). As mutações intrônicas representaram apenas 5% das mutações no gene da distrofina e também apresentaram distribuição homogênea.

Figura 11. Histograma mostrando distribuição de grandes deleções nos éxons do gene da distrofina

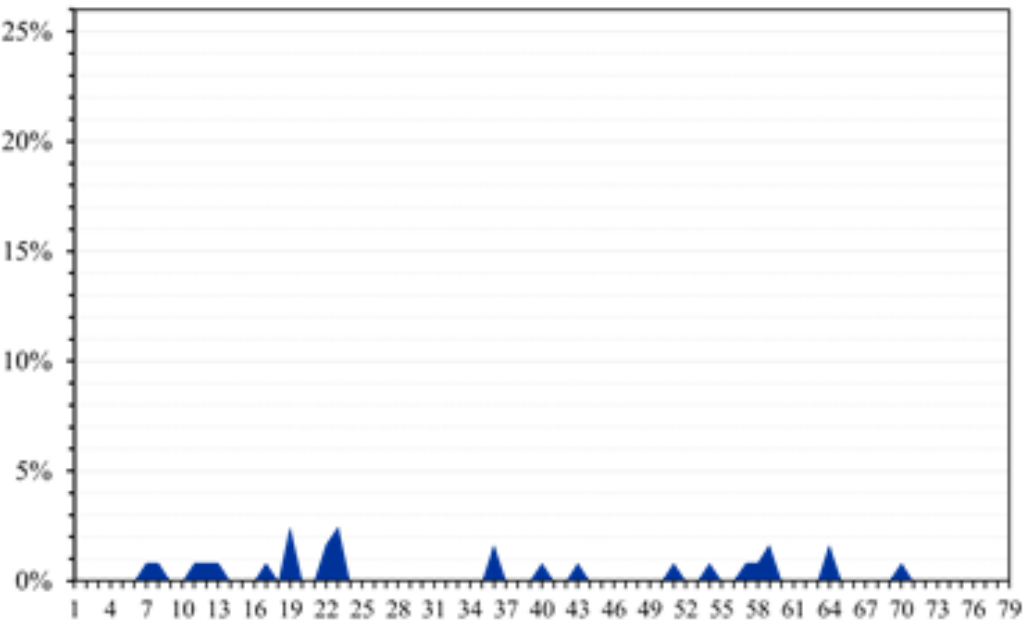
Fonte: Própria (2019).

Figura 12. Histograma mostrando distribuição de grandes duplicações nos éxons do gene da distrofina



Fonte: Própria (2019).

Figura 13. Histograma mostrando distribuição de pequenas mutações nos éxons do gene da distrofina



Fonte: Própria (2019).

5.1 CORRELAÇÃO GENÓTIPO-FENÓTIPO

A análise dos dados clínicos foi relacionada às seguintes localizações das mutações no gene da distrofina: antes e depois do éxon 30, antes e depois do éxon 45 e antes e depois do éxon 55, que representam os locais responsáveis pelas respectivas isoformas da distrofina:

Dp260, Dp140 e Dp116. A Tabela 5 mostra as comparações das médias de idade e das medianas de QIT, QIV, QIE e idade de perda da marcha, de acordo com dois grupos de localização das mutações no gene da distrofina: exon 1 a 30 e 31 a 79. As mesmas variáveis clínicas são analisadas na Tabela 6 em relação aos grupos: exon 1 a 45 e 46 a 79 e na tabela 7 em relação aos grupos: exon 1 a 55 e exon 56 a 79.

Não houve significância estatística para as análises descritas acima, exceto em relação ao QI verbal. A mediana do QI verbal foi de 73 para o grupo com mutações antes do exon 55 e 63 para o grupo com mutações após o exon 55, enquanto não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao QI total e ao QI de execução entre os grupos (Tabela 7). A Figura 14 mostra esta relação entre o QIV e o ponto de mutação no exon 55 do gene da distrofina.

Tabela 5. Comparação das médias de idade e das medianas de QIT, QIV, QIE e idade de perda de marcha, de acordo com dois grupos de localização das mutações no gene da distrofina: exon 1 – 30 e 31 – 79

Variáveis	Exon: 1 – 30	Exon: 31 - 79	P
Idade	(N = 31)	(N = 83)	
média $\pm$ DP	15.5 $\pm$ 5.7	15.1 $\pm$ 6.2	0.743*
QIT	(N = 12)	(N = 28)	
Mediana (P ₂₅ – P ₇₅)	64.0 (60.5 - 80.0)	65.0 (51.0 - 75.0)	1.000 [†]
QIV	(N = 9)	(N = 25)	
Mediana (P ₂₅ – P ₇₅)	78.0 (66.0 - 94.0)	67.0 (60.0 - 76.0)	0.703 [†]
QIE	(N = 9)	(N = 25)	
Mediana (P ₂₅ – P ₇₅)	70.0 (62.0 - 81.0)	66.0 (56.0 - 79.0)	1.000 [†]
Idade da perda da marcha	(N = 18)	(N = 59)	
Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	10.0 (9 - 12)	9 (9 - 11)	0.402 [†]

*Teste t de Student; [†]Teste exato de Fisher.

Tabela 6. Comparação das médias de idade e das medianas de QIT, QIV, QIE e idade de perda de marcha, de acordo com dois grupos de localização das mutações no gene da distrofina: exon 1 – 45 e 46 – 79

Variáveis	Exon: 1 – 45	Exon: 46 - 79	P
Idade	(N = 49)	(N = 65)	
Média $\pm$ dp	15.1 $\pm$ 5.7	15.3 $\pm$ 6.4	0.869*
QIT	(N = 18)	(N = 22)	
Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	64.0 (60.0 - 71.0)	65.0 (48.0 - 82.0)	0.755 [†]
QIV	(N = 15)	(N = 19)	
Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	73.0 (62.0 - 78.0)	67.0 (58.0 - 87.0)	0.730 [†]
QIE	(N = 15)	(N = 19)	
Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	66.0 (59.0 - 81.0)	68.0 (56.0 - 86.0)	1.000 [†]
Idade da perda da marcha	(N = 29)	(N = 48)	
Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	12.0 (9.5 - 20.0)	10.0 (9.0 - 13.0)	0.806 [†]

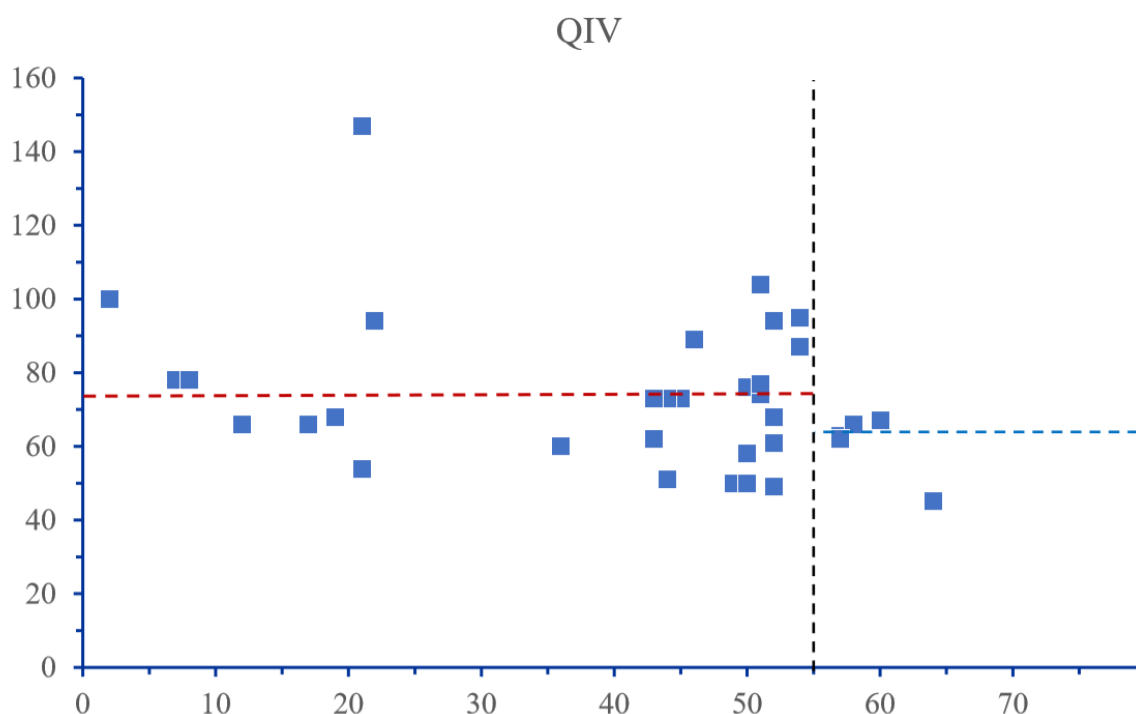
*Teste t de Student; [†]Teste exato de Fisher.

Tabela 7. Comparação das médias de idade e das medianas de QIT, QIV, QIE e idade de perda de marcha, de acordo com dois grupos de localização das mutações no gene da distrofina: exon 1 – 55 e 56 – 79

Variáveis	Exon: 1 – 55	Exon: 56 - 79	P*
Idade	(N = 97)	(N = 17)	
Média ± dp	15.1 ± 6.1	15.6 ± 6.0	0.782 [†]
QIT	(N = 33)	(N = 7)	
Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	65.0 (58.0 - 82.0)	59.0 (42.0 - 73.0)	0.677 [†]
QIV	(N = 29)	(N = 5)	
Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	73.0 (61.0 - 87.0)	63.0 (62.0 - 66.0)	0.046 [†]
QIE	(N = 29)	(N = 5)	
Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	66.0 (57.0 - 79.0)	74.0 (62.0 - 86.0)	1.000 [†]
Idade da perda da marcha	(N = 64)	(N = 13)	
Mediana (P ₂₅ - P ₇₅)	9.2 (8 - 11)	10 (10 - 11)	0.36 [†] 1

*Teste t de Student; [†]Teste exato de Fisher.

Figura 14. Relação entre o QIV e o ponto de mutação no exon 55 do gene da distrofina. A linha tracejada vertical divide o gene da distrofina em 2 grupos de localização das mutações: antes e após o exon 55. As linhas tracejadas horizontais vermelha e azul representam as medianas do QIV dos 2 grupos



A Tabela 8 demonstra a avaliação da associação entre pacientes com e sem cardiopatia em relação à localização das mutações no gene da distrofina antes e depois dos exons 30, 45 e 55. Não houve significância estatística entre os grupos analisados.

Tabela 8. Avaliação da associação entre cardiopatia e a localização da mutação no gene da distrofina, classificada em dois grupos, com pontos de corte em 30, 45 e 55, para cada classificação

	Cardiopatia		P*
	Sim N (%)	Não N (%)	
Exon1_30 (N = 54)			0,419
1 – 30	7 (87,5)	1 (12,5)	
31 – 79	32 (69,6)	14 (30,4)	
Exon1_45 (N = 54)			1,000
1 – 45	13 (72,2)	5 (27,8)	
46 – 79	26 (72,2)	10 (27,8)	
Exon1_55 (N = 54)			0,171
1 – 55	32 (68,1)	15 (31,9)	
56 – 79	7 (100,0)	0 (0,0)	

* Teste exato de Fisher.

6 DISCUSSÃO

A procedência dos pacientes estudados foi em sua maioria do estado de Pernambuco, com maior distribuição, neste estado, na região da zona da mata, seguida pelo agreste. A maior concentração de pacientes nessas áreas pode ser devido a maior proximidade ao centro de reabilitação especializado no tratamento de doenças neuromusculares, em que foi realizada esta pesquisa. No entanto, visto que a DMD é uma doença hereditária, é possível que haja uma maior concentração dos casos em algumas regiões. Neste estudo, foi observado que 42% dos pacientes apresentam outro caso da doença na família, o que é um pouco maior do que o encontrado na literatura científica, em que aproximadamente 33% dos pacientes apresentam história familiar positiva (AARTSMA-RUS, 2014). Este maior percentual de casos de pacientes com história familiar positiva identificados neste trabalho pode indicar uma maior concentração de famílias acometidas nas regiões da zona da mata e agreste de Pernambuco ou mesmo uma falta de conhecimento do diagnóstico e falta de aconselhamento genético.

6.1 FENÓTIPO

A população de pacientes com DMD analisada tem uma idade avançada, com média de 15 anos, visto que é uma doença que tem início da infância precoce e o óbito do paciente ocorre frequentemente na segunda década de vida. O atraso de marcha foi identificado em aproximadamente 1/5 dos pacientes, assim como relatado na literatura científica (BRANDSEMA; DARRAS, 2015). Um paciente nunca adquiriu marcha, porém este apresentava uma deleção de todo o gene da distrofina. Através da realização no exame SNP-array (Single Nucleotide Polymorphism Array) foi identificada uma grande deleção cromossômica, que incluía o gene da distrofina, e se estendia para outros genes contíguos, associada à uma extensa duplicação cromossômica, que podem justificar o quadro não usual deste paciente.

A idade de perda de marcha foi menor do que é descrito na literatura, 10 versus 12 anos (BRANDSEMA; DARRAS, 2015). Essa diferença poderia ser explicada por uma possível menor adesão ao uso de corticoide e à reabilitação, no entanto, estas variáveis não foram analisadas neste estudo. Sabe-se que o uso de corticoide, além da reabilitação precoce, podem prolongar a marcha dos meninos com DMD (GOEMANS, 2018). Alguns pacientes deste estudo foram admitidos no centro de reabilitação, já em idade avançada, com múltiplas deformidades articulares, que favorecem a perda precoce da marcha. A maior parte dos pacientes deste estudo

não deambula, mostrando que a maioria destes indivíduos já se encontram em fase avançada da doença.

A análise do QI, através do teste psicométrico WASI, demonstrou medianas de QIT, QIV e QIE abaixo da média. O QIT dos pacientes analisados foi 65, abaixo do registrado na literatura para pacientes com DMD, que é 85. Aproximadamente 63% dos pacientes tinham QIT extremamente baixo. Este número difere do encontrado na literatura, na qual 30% dos pacientes apresentam deficiência intelectual (NARDES; ARAÚJO; RIBEIRO, 2012). Apesar de todos os pacientes acompanhados na AACD-PE com diagnóstico de DMD terem sido encaminhados para avaliação neuropsicológica de rotina, pode ter havido um viés de seleção dos pacientes que compareceram para a realização da mesma. Visto que são indivíduos com deficiência de mobilidade e que muitos pacientes não compareceram para realizar a avaliação neuropsicológica, pode ter ocorrido uma seleção dos pacientes que compareceram, a depender da suspeita de alteração cognitiva por parte dos responsáveis ou pela equipe de reabilitação, devido à dificuldade de adesão às terapias. Não houve diferença entre o QIV e o QIE, dado que também diverge das séries em que o QIV se encontra mais alterado que o QIE (YIU; KORNBERG, 2015).

Aproximadamente metade da amostra total de pacientes fez avaliação cardiológica no último ano. Esses indivíduos tinham uma média de idade elevada e, portanto, muitos já se encontravam em fase avançada da doença. Em torno de metade dos indivíduos apresentavam distúrbios de condução e/ou arritmia e metade tinham miocardiopatia. 26% dos pacientes apresentavam tanto distúrbio de condução e/ou arritmia, quanto miocardiopatia. Foi demonstrado que entre os pacientes com miocardiopatia, a média de idade era mais elevada, no entanto, não havia diferença significativa entre as médias de idade dos pacientes com e sem distúrbio de condução cardíaco/ arritmia. Talvez o distúrbio de condução e/ou arritmia seja uma alteração que se apresente de forma mais precoce e alguns pacientes tenham uma propensão maior a desenvolver estas complicações, independentemente da idade. Já a miocardiopatia é uma complicação relacionada à idade dos pacientes com DMD (POWER et al., 2018). Também é importante ressaltar que estes pacientes foram avaliados através de eletrocardiograma e ecocardiograma. Se fossem avaliados através de Ressonância nuclear magnética cardíaca provavelmente seriam encontradas alterações de miocardiopatia mais precoces, visto que este exame pode demonstrar áreas de fibrose miocárdica e definir a função cardíaca com melhor acurácia e confiabilidade que o ecocardiograma (POWER et al., 2018). Por sua vez, o Holter

poderia mostrar arritmias, que não foram detectadas através do eletrocardiograma (FAYSSOIL; ABASSE; SILVERSTON, 2017).

6.2 GENÓTIPO

No que diz respeito às técnicas de exames moleculares, um paciente tinha apenas o exame de PCR e os demais fizeram técnicas moleculares mais novas como MLPA e Sequenciamento do gene da distrofina. A frequência de mutações encontradas foi semelhante ao que é descrito tanto em outros países (BLADEN et al., 2015), quanto no Brasil (ALMEIDA et al., 2017). As grandes deleções mostraram distribuição em dois *hotspots*, sendo um proximal e outro distal, condizente com o que é encontrado na literatura. Já as grandes duplicações, mostraram maior distribuição em regiões proximais e no meio do gene da distrofina, o que difere do maior banco de registro de mutações no gene da distrofina, que mostra *hotspots* em regiões proximal e distal do gene (BLADEN et al., 2015). As pequenas mutações apresentaram distribuição aleatória, assim como demonstrado na literatura. As mutações intrônicas foram responsáveis por uma parte muito pequena das mutações. As novas técnicas de exame, MLPA e sequenciamento têm sido capazes de avaliar algumas regiões dos introns próximas aos exons. É possível que a proporção de mutações intrônicas entre os pacientes com DMD esteja subestimada, por ainda não serem totalmente detectadas pelas técnicas disponíveis para exames moleculares de rotina e, nestes casos, tanto as técnicas de PCR, MLPA e sequenciamento podem mostrar resultados negativos e o diagnóstico de DMD ser apenas confirmado através de biópsia muscular.

6.3 CORRELAÇÃO GENÓTIPO-FENÓTIPO

Não houve correlações entre o local da mutação do gene da distrofina e as variáveis: idade de perda da marcha e cardiopatia. Já em relação ao QI, houve significância estatística na correlação entre o QIV com as mutações antes e depois do exon 55 do gene da distrofina. Os pacientes com mutações antes do exon 55 apresentaram QIV maior que os pacientes com mutações mais terminais a este local do gene, ao mesmo tempo em que não houve diferença entre o QIE nestes dois grupos. O motivo de escolha do exon 55 como corte nesta avaliação, foi devido ao fato de a segunda menor isoforma da distrofina, Dp 116 ou isoforma da célula de Schwann, ser codificada por uma transcrição correspondendo aos exons 56 a 79 (FERLINI; NERI; GUALANDI, 2013). A função da isoforma Dp 116 é pouco compreendida. Esta isoforma tem expressão limitada a células de Schwann humanas e fibroblastos (MATSUO et

al., 2017). Sabe-se que as células de Schwann são responsáveis pela produção da mielina que envolve os axônios do sistema nervoso periférico. No entanto, há estudos que demonstram o envolvimento da célula de Schwann no sistema nervoso central, participando do processo de remielinização (BONDAN et al., 2010).

O presente estudo mostrou algumas limitações como a falta de avaliação do uso de corticóide pelos pacientes, a realização das avaliações intelectual e cardiológica em alguns pacientes e não em sua totalidade e o fato de a pesquisa ter sido realizado em um único centro especializado em doenças neuromusculares. Até a presente data, para nosso conhecimento, esta pesquisa avalia a maior casuística de pacientes com DMD acompanhados em um único centro no Brasil. Uma vez que novas terapias gênicas têm sido desenvolvidas para a DMD, é importante conhecer as mutações dos pacientes, a fim de definir os indivíduos elegíveis a essas terapias e à participação em ensaios clínicos. O achado da associação do QIV com a localização da mutação no gene da distrofina foi importante, embora ainda não esteja bem compreendido. Há necessidade de novos estudos buscando elucidar esta correlação genótipo-fenótipo.

7 CONCLUSÃO

Esta dissertação de mestrado assumiu como objetivo descrever as variáveis fenotípicas e genótípicas dos pacientes com DMD atendidos na AACD-PE e fazer uma correlação genótipo-fenótipo. Para tal, esta análise apoiou-se nas variáveis de idade de perda de marcha, comprometimento cardiológico e intelectual, além das mutações encontradas no gene da distrofina.

Verificou-se que há uma associação entre o QIV e a localização da mutação no gene da distrofina. Os pacientes com mutações distais ao exon 55 do gene da distrofina apresentaram menor QIV em relação aos pacientes com mutações proximais a este ponto de corte. Não foram observadas associações entre os locais de mutações no gene da distrofina e a idade de perda de marcha, assim como o comprometimento cardíaco.

Algumas limitações deste estudo foram a falta de avaliação do uso de corticóide pelos pacientes, a realização das avaliações intelectual e cardiológica em alguns pacientes e não em sua totalidade e o fato de a pesquisa ter sido realizado em um único centro especializado em doenças neuromusculares. Apesar das limitações identificadas, considera-se que o estudo realizado permitiu conhecer melhor o fenótipo e o genótipo dos pacientes com DMD atendidos neste centro do Nordeste do Brasil, além de correlacionar o local da mutação no gene da distrofina ao QIV.

Futuras investigações poderiam utilizar amostras maiores e multicêntricas, abrangendo outras regiões demográficas. Sugere-se, também, um estudo onde se possa correlacionar métodos de imagens funcionais à avaliação intelectual destes pacientes e sua correlação com o local de mutação do gene da distrofina. Dada a importância do tema considera-se que muito há ainda que percorrer no campo da investigação nesta área sendo, portanto, um campo fértil de trabalho para outros investigadores.

REFERÊNCIAS

- AARTSMA-RUS, A. Dystrophin analysis in clinical trials. **Journal of Neuromuscular Diseases**, v. 1, n. 1, p. 41–53, 2014.
- ALMEIDA, P. A. D. de. *et al.* Genetic profile of Brazilian patients with dystrophinopathies. **Clinical Genetics**, 92(2), 199-203, 2017.
- AMATO A. A; RUSSEL, J. A. **Neuromuscular Disorders**. Boston: McGraw Hill Education, 1ª Edição, 2008.
- AMATO, A. A; RUSSELL, J. A. **Neuromuscular Disorders**. Boston: McGraw Hill Education, 2ª Edição, 2016.
- ANDERSON, J. L. *et al.* Brain Function in Duchenne muscular dystrophy. **Brain**, 2002; 125:4-13.
- ANKALA, A. *et al.* Aberrant firing of replication origins potentially explains intragenic nonrecurrent rearrangements within genes, including the human DMD gene. **Genome Res** 2012;22:25-34.
- ARAUJO, A. P. Q. C. *et al.* Brazilian consensus on Duchenne muscular dystrophy. Part 1: diagnosis, steroid therapy and perspectives. **Arquivos de Neuropsiquiatria**. 75 (8): 104-113, 2017.
- ARAUJO, A. P. Q. C. *et al.* Brazilian consensus on Duchenne muscular dystrophy. Part 2: rehabilitation and systemic care. **Arquivos de Neuropsiquiatria**. 76 (7): 481-489, 2018.
- BLADEN, C. L. *et al.* The TREAT-NMD DMD global database: Analysis of more than 7,000 Duchenne muscular dystrophy mutations. **Human Mutation**, v. 36, n. 4, p. 395–402, 2015.
- BONDAN, E. F. *et al.* Schwann cell expression of an oligodendrocyte-like remyelinating pattern after ethidium bromide injection in the rat spinal cord. **Arquivos de Neuropsiquiatria**. v. 68, n. 5, p. 783-787, 2010.
- BRANDSEMA, J. F.; DARRAS, B. T. Dystrophinopathies. **Seminars in Neurology**, 35:369-384, 2015.
- CIRINO, R.H.D. *et al.* Evaluation of Left-Sided Heart Chambers With Novel Echocardiographic Techniques in Men With Duchenne or Becker Muscular Dystrophy. **The American Journal of Cardiology**, 123 (6): 972-978, 2019.
- CONNOLLY, A. M. *et al.* Motor and Cognitive Assessment of Infants and Young Boys with Duchenne Muscular Dystrophy; Results from the Muscular Dystrophy Association DMD Clinical Research Network. **Neuromuscular disorders**: 23(7):529-539, 2013.
- CRONE, M.; MAH, J.K. Current and Emerging Therapies for Duchenne Muscular Dystrophy. **Current Treatment Options in Neurology**, v.20 (8): 31, 2018.

DARRAS B. T. *et al.* Dystrophinopathies. In: **Neuromuscular Disorders of Infancy, Childhood and Adolescence: A Clinician's Approach**, 2nd ed, DARRAS, B.T., *et al.* (Eds.), Academic Press, San Diego, 2015. p.551.

DÍAZ-MANERA, J. *et al.* Muscle MRI in muscular dystrophies. **Acta Myologica**, v.34 (2-3): 95-108, 2015.

EBRAHIMZADEH-VESAL, R. *et al.* Next Generation Sequencing approach to molecular diagnosis of Duchenne muscular dystrophy; identification of a novel mutation. **Gene**, 644, 1-3, 2017.

EMERY, A. E. Population frequencies of inherited neuromuscular diseases – a world survey. **Neuromuscular Disorders**, 1991;1:19-29.

FAYSSOIL, A.; ABASSE, S.; SILVERSTON, K. Cardiac Involvement Classification and Therapeutic Management in Patients with Duchenne Muscular Dystrophy. **Journal of Neuromuscular Diseases**, v. 4, n. 1, p. 17–23, 2017.

FERLINI, A.; NERI, M.; GUALANDI, F. The medical genetics of dystrophinopathies: Molecular genetic diagnosis and its impact on clinical practice. **Neuromuscular Disorders**, v. 23, n. 1, p. 4–14, 2013.

GOEMANS, N. How glucocorticoids change life in Duchenne muscular dystrophy Pollution, health, and the planet: time for decisive action. **The Lancet**, v. 391, n. 10119, p. 406–407, 2018.

GRIGGS, R.C.; MENDELL, J.R.; MILLER, R.G. **Evaluation and Treatment of Myopathies**. Philadelphia: F.A. Davis, 1995.

HAAS, M. *et al.* European Medicines Agency review of ataluren for the treatment of ambulant patients aged 5 years and older with Duchenne muscular dystrophy resulting from a nonsense mutation in the dystrophin gene. **Neuromuscular Disorders**, Volume 25, Issue 1, 5-13. 2015.

HERMANS, M. C. *et al.* Hereditary muscular dystrophies and the heart. **Neuromuscular Disorders**, 2010;20(8):479-492.

HOFFMAN, E. P.; DRESSMAN, D. Molecular pathophysiology and targeted therapeutics for muscular dystrophy. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 22, n. 9, p. 465–470, 2001.

KNEPPERS, A.L.J; GINJAAR, I. B; BAKKER, E. Duchenne and Becker Muscular Dystrophy. **Revista Médica de Chile**, v.120 (3): 288-92, 1992.

KOENIG, M.; MONACO, A. P.; KUNKEL, L. M. The complete sequence of dystrophin predicts a rod-shaped cytoskeletal protein. **Cell**, v. 53, n. 2, p. 219–228, 1988.

MATSUO, M. *et al.* Dystrophin Dp116: A Yet to Be Investigated Product. **Genes** (Basel). 2017 Oct; 8(10): 251.

MEHLER, M.F. Brain dystrophin, neurogenetics and mental retardation. **Brain Research Reviews**, v. 32, p.277-307, 2000.

MUNTONI, F.; TORELLI, S.; FERLINI, A. Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes. **The Lancet Neurology**, 2003;2:731-40.

NARDES, F.; ARAUJO, A. P. Q. C.; RIBEIRO, M. G. Mental retardation in Duchenne muscular dystrophy. **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 88, n. 1, p. 6-16, Feb. 2012.

PANE, M. *et al.* Early neurodevelopmental assessment in Duchenne muscular dystrophy. **Neuromuscular Disorders**, volume 23, Issue 6, 451-455, 2013.

PARKER, A. E. *et al.* Analysis of an adult Duchenne. **QJM: An International Journal of Medicine**, Volume 98, Issue 10, 1 October 2005, Pages 729–736

PASSAMANO, L. *et al.* Improvement of survival in Duchenne Muscular Dystrophy: retrospective analysis of 835 patients. **Acta Myologica**, 2012;31(2):121-125.

POWER, L. C. *et al.* Imaging the heart to detect cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy: a review. **Neuromuscular Disorders**, v.28 (9): 717-730, 2018.

SANTOS, N. M. *et al.* Functional and Clinical Profile of Duchenne muscular dystrophy patients attending the Brazilian Association of muscular dystrophy (ABDIM). **Revista Neurociências** v.14v.1- Jan/Mar, (015-022), 2006.

SEIXAS, R. Metamorfose ambulante. *In*: SEIXAS, Raul. *Krig-ha, Bandolo!* Philips Records, 1973. 1 disco sonoro. Lado A, faixa 3.

SHIEH; P.B. Emerging Strategies in the Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy. **Neurotherapeutics**, v.15: 840-848, 2018.

SNOW, W. M.; ANDERSON, J. E.; JAKOBSON, L. S. Neuropsychological and neurobehavioral functioning in Duchenne muscular dystrophy: a review. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**. Jun;37(5):743-52, 2013.

TISSER, L. *et al.* **Transtornos psicopatológicos na infância e na adolescência**. Novo Hamburgo: Sinopsys, 2018.

VERMA, P.K. *et al.* Utility of MLPA in mutation analysis and carrier detection for Duchenne muscular dystrophy. **Indian Journal of Human Genetics**, v.8 (1): 91-4, 2012.

WROGEMANN, K.; PENA, S. D. J. Mitochondrial Calcium Overload: a General Mechanism for Cell-Necrosis in Muscle Diseases. **The Lancet**, v. 307, n. 7961, p. 672–674, 1976.

YIU, E. M.; KORNBERG, A. J. Duchenne muscular dystrophy – Review article. **Journal of Paediatrics and Child Health**, v.51 (8): 759-764, 2015.

ZATZ, M. *et al.* Milder course in Duchenne patients with nonsense mutations and no muscle dystrophin. **Neuromuscular Disorders**, Volume 24, Issue 11, 986-989.2014.

APÊNDICE A

INSTRUMENTO PARA COLETA DE DADOS

A coleta de dados seguiu o modelo apresentado adiante, contemplando os itens especificados nas variáveis de estudo. Haverá uma ficha com este modelo para cada paciente portador de DMD.

PARTICIPANTE VARIÁVEIS	
Idade	_____ anos
Idade de início dos sintomas	_____ anos
Idade de perda da marcha	_____ anos
História familiar	Sim / Não
Atraso da marcha	Sim / Não
Alteração cardiológica	Sim / Não
Distúrbio de condução cardíaca/arritmia	Sim / Não
Miocardiopatia	Sim / Não
QI Total	_____
QI Verbal	_____
QI Executivo	_____
Classificação do QI	
Tipo de mutação genética	
Número do(s) Exon(s) ou Intron mutado	