

Distrofias Musculares Progressivas

Mayana Zatz

INTRODUÇÃO

As distrofias musculares progressivas constituem um grupo de doenças caracterizadas por uma degeneração progressiva e irreversível da musculatura esquelética, e que têm sido objeto de muitas pesquisas. Já foram mapeados genes responsáveis por mais de 30 formas de distrofia, cuja herança pode ser autossômica dominante, autossômica recessiva e ligada ao X (ver revisão em *Neuromuscular Disorders*, 1999). Além disso, sabe-se que existem formas ainda não identificadas. Os avanços da biologia molecular na última década revolucionaram nossos conhecimentos e levantaram questões fundamentais — *Qual é o defeito básico? O que leva os músculos a degenerar? Como explicar a heterogeneidade genética, isto é, como mutações em genes diferentes podem resultar em um mesmo fenótipo? Ou, ao contrário, como mutações em um mesmo gene podem levar a quadros clínicos diferentes?* — que começam a ser respondidas. Por outro lado, a análise molecular suscitou outras indagações intrigantes. Por exemplo, tem-se observado, em um número crescente de doenças, que pacientes com a mesma mutação podem ter quadros totalmente diferentes ou que alguns genes autossômicos afetam mais um sexo do que o outro.

A explicação para essas observações, além de fascinante, será de extrema importância para futuros tratamentos. Isso tem sido possível graças à identificação dos genes responsáveis por essas doenças, do seu produto e de estudos de correlações genótipo: fenótipo (isto é, como cada mutação gênica interfere no produto gênico primário e no quadro clínico). Além dos grandes avanços na compreensão dos mecanismos patológicos, as pesquisas nessa área têm sido fundamentais para um diagnóstico correto e prevenção de novos casos, principalmente no tocante às doenças graves para as quais ainda não há tratamentos.

Neste capítulo vamos nos ater às formas mais comuns de distrofias e que têm sido exaustivamente pesquisadas em nosso centro há vários anos.

AS DISTROFIAS DE DUCHENNE E BECKER

Dentre as diferentes miopatias, a **distrofia de Duchenne (DMD)**, de herança recessiva ligada ao cromossomo X, é a mais

comum, com uma incidência de 1 em cada 3.000 nascimentos de sexo masculino. Já a **distrofia tipo Becker (DMB)**, alélica à DMD, é cerca de 10 vezes mais rara. A diferença entre essas duas formas está na idade de início e velocidade de progressão. Na DMD, os sinais clínicos iniciam-se entre 3–5 anos de idade (com quedas frequentes, dificuldades para subir escadas, correr e levantar do chão) (Fig. 25.1A); o confinamento em cadeira de rodas se dá até os 12 anos de idade, e os afetados raramente sobrevivem após a terceira década. Já na DMB (Fig. 25.1B), os sintomas iniciam-se, em geral, na segunda década; os afetados sempre andam após os 16 anos, e a velocidade de progressão é extremamente variável.

Pacientes com DMD e DMB têm um aumento significativo (até 2.000 vezes os valores normais) da enzima sérica creatinquinase (CK), que é liberada do músculo distrófico mesmo antes do aparecimento dos sinais clínicos. Os níveis da CK tendem a diminuir no sangue com a evolução do processo e chegam a níveis quase normais em estágios adiantados da doença (Zatz *et al.*, 1976, 2000).

Após a localização do gene da DMD/DMB no braço curto do cromossomo X, em 1981 (Zatz *et al.*, 1981), que levou à sua clonagem em 1987 (Hoffman *et al.*, 1987, 1988), descobriu-se que o produto do gene DMD/DMB é uma proteína do citoesqueleto da membrana, denominada distrofina, e cuja função aparentemente seria manter a estabilidade da membrana da célula muscular (Fig. 25.2)

Posteriormente, verificou-se que as mutações causadoras de DMD ou DMB eram deleções em cerca de 60% dos casos, duplicações em 5–6% dos casos e mutações de ponto nos casos restantes (Koenig *et al.*, 1987, 1989). Entretanto, ao contrário do esperado, não se observou correlação entre o tamanho da deleção e a gravidade do quadro clínico. Atualmente se sabe que a diferença entre a DMD e a DMB depende da manutenção ou não do quadro de leitura do RNA mensageiro ou RNAm (Monaco *et al.*, 1988). Isto é, na DMB, a **deleção é em fase**, o quadro de leitura do RNAm é mantido e tem-se como resultado uma proteína quantitativamente reduzida ou deletada internamente, mas parcialmente funcional. Já na DMD, a **deleção é fora de fase**, o quadro de leitura do RNAm não é mantido, tem-se uma proteína gravemente truncada e que é rapidamente destruída pela célula (Fig. 25.3).



Fig. 25.1 A, Paciente de 6 anos afetado por distrofia de Duchenne: à esquerda, a hipertrofia de panturrilhas e, à direita, o levantar miopático típico (manobra de Gowers). B, Paciente de 30 anos afetado por distrofia tipo Becker, evidenciando-se hipertrofia das panturrilhas e a atrofia proximal.

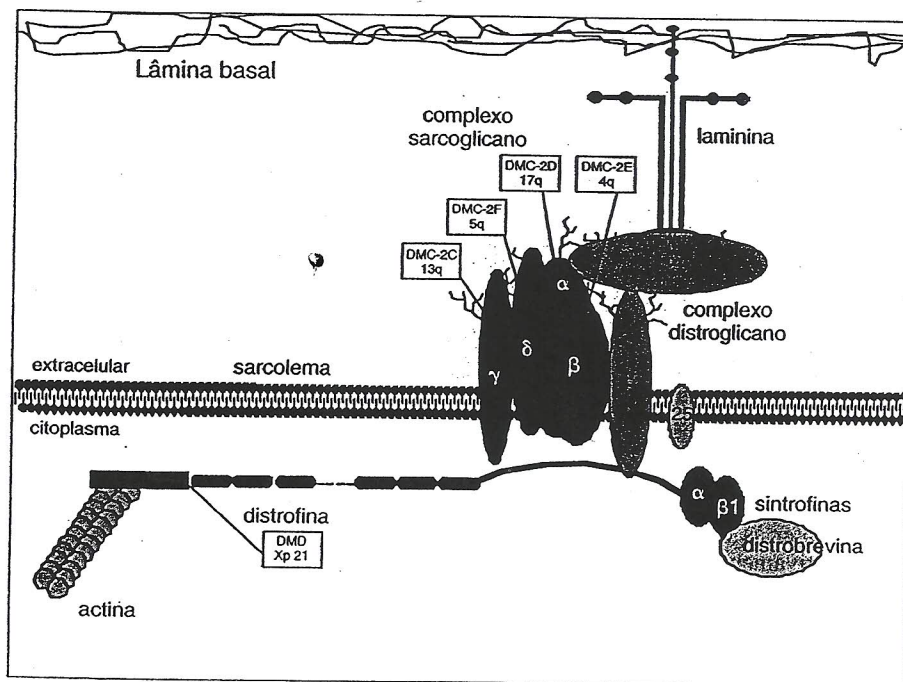


Fig. 25.2 Organização do complexo distrofina:glicoproteínas associadas. O gene DMD/BMD codifica a proteína distrofina, e o complexo sarcoglicano é codificado, respectivamente, pelos genes: LGMD2C-2F. (Adaptado de Vainzof *et al.*, 1996; Gentileza da Dra. Mariz Vainzof, Centro de Estudos do Genoma Humano, IBUSP.)

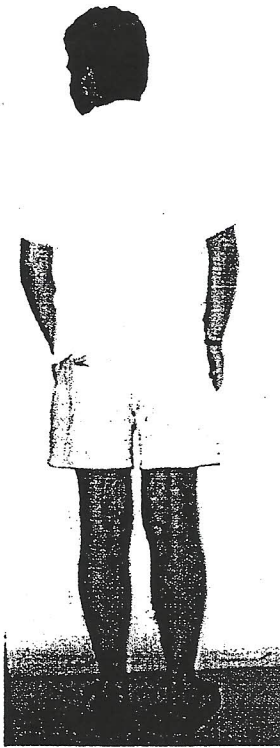


Fig. 25.5 Paciente de 40 anos, com deleção envolvendo 35 exons do gene da distrofina (exons 13 a 48) na região em bastão (*rod domain*) do gene e apresentando quadro benigno de distrofia tipo Becker.

25.5) desde que estejam restritas à região central do gene (Passos-Bueno *et al.*, 1994). O quadro leve explica-se porque, se a deleção está restrita ao domínio em bastão da distrofina, mesmo que se tenha um encurtamento dessa proteína, os sítios de ligação não ficam alterados, permitindo uma função parcial.

Aspectos genéticos

Cerca de 1/3 dos casos de DMD são causados por mutações novas, e os restantes 2/3 são herdados de mães portadoras (Zatz *et al.*, 1977). A maioria (mais de 90%) das mulheres portadoras de mutações no gene da distrofina são assintomáticas. Entretanto, têm um risco de 50% de passar o gene defeituoso para a sua descendência, isto é, metade dos filhos poderão ser afetados e metade das filhas serão portadoras, porém clinicamente normais. Outro aspecto importante é o mosaïcismo gonadal, isto é, aproximadamente 10% das mães de casos isolados de DMD, nas quais não foi detectada mutação no sangue periférico, podem ser portadoras da mutação na linhagem germinativa (Passos-Bueno *et al.*, 1990). Essas mulheres têm um risco aumentado de vir a ter filhos afetados pela DMD.

Diagnóstico e aconselhamento genético

DIAGNÓSTICO

O exame de DNA em sangue periférico (ou em raspado de mucosa bucal) tem sido muito importante para o diagnóstico, evitando, em muitos casos, a realização de exames invasivos

como a biopsia muscular ou a eletromiografia (esta, além de ser um exame doloroso, não auxilia no diagnóstico diferencial entre as várias formas de distrofias). Do ponto de vista prático, em casos suspeitos os passos a serem seguidos para o diagnóstico são os seguintes:

1. Dosagem de CK no soro: se aumentado, sugere o diagnóstico de distrofia muscular.
2. Análise de DNA: pesquisa de deleção no gene da distrofina: se for encontrada deleção, confirma-se o diagnóstico de DMD/DMB.
3. Biopsia muscular: é indicada se não for encontrada deleção no gene da distrofina, se não houver história familiar de herança recessiva ligada ao cromossomo X ou em crianças que são casos isolados, nas fases iniciais, para um diagnóstico diferencial entre DMD e DMB. A primeira proteína a ser pesquisada é a distrofina, através de técnica de imunofluorescência e *Western blot*. Os possíveis resultados são:
 - a) Distrofina ausente: confirma-se o diagnóstico de distrofia de Duchenne.
 - b) Distrofina quantitativamente diminuída ou com peso molecular diminuído (através de análise por *Western blot*): o diagnóstico de distrofia tipo Becker é o mais provável.
 - c) Distrofina normal: pode tratar-se de distrofia tipo cinturas ou outra forma de distrofia muscular. O passo seguinte é analisar as diferentes proteínas associadas às formas autossômicas recessivas, tais como as sarcoglicanas, a calpaína-3, a disferlina, a teletonina em biopsia muscular (ver adiante).

ESTIMATIVAS DE RISCOS GENÉTICOS

Para identificação de portadoras e estimativas de riscos genéticos, os passos a serem seguidos são:

- 1) O paciente é caso isolado e tem deleção no gene da distrofina:
 - a) Se a mãe e/ou irmã do afetado forem portadoras da deleção, confirma-se que são heterozigotas (Fig. 25.6). Nesse caso têm um risco de 50% de vir a ter filhos afetados e filhas portadoras. É possível realizar diagnóstico pré-natal de certeza pela análise de DNA extraído de vilosidades coriônicas, por volta da 10.^a semana de gestação.
 - b) Se a mãe não tiver deleção em sangue periférico, existe ainda um risco de mosaïcismo gonadal que varia de acordo com o sítio da deleção (Passos-Bueno *et al.*, 1992). Se for no início do gene, o risco para um feto de sexo masculino é de cerca de 15%; se for na região central do gene, o risco para um feto de sexo masculino é de cerca de 2%.
 - c) Se uma irmã de afetado não tiver deleção em sangue periférico, o risco de ser portadora é desprezível.
- 2) O paciente é caso isolado e não tem deleção no gene da distrofina:
 Nesses casos, compara-se o cromossomo X (através de marcadores polimórficos ao longo do gene da distrofina) do afetado com outros indivíduos da genealogia (Fig. 25.7). As pessoas a serem analisadas e a estimativa de risco genético vão depender da estrutura da família.
- 3) Existe história familiar compatível com herança ligada ao X:

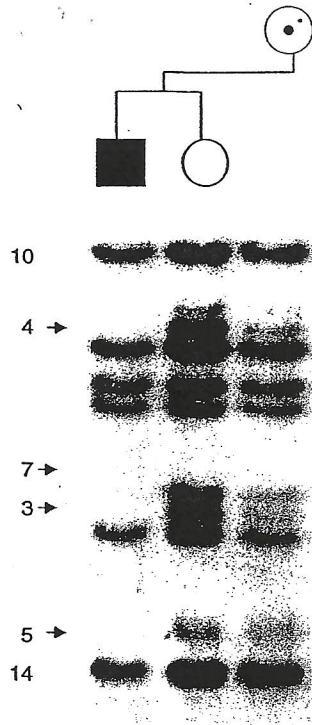


Fig. 25.6 Análise do gene da distrofina por técnica de Southern blot ilustrando deleção dos exons 3 a 7 (coluna 1). Essa mesma deleção está presente na mãe do afetado (coluna 3) e ausente na irmã do afetado (coluna 2). (Gentileza da Dra. Maria Rita Passos-Bueno, Centro de Estudos do Genoma Humano, IBUSP.)

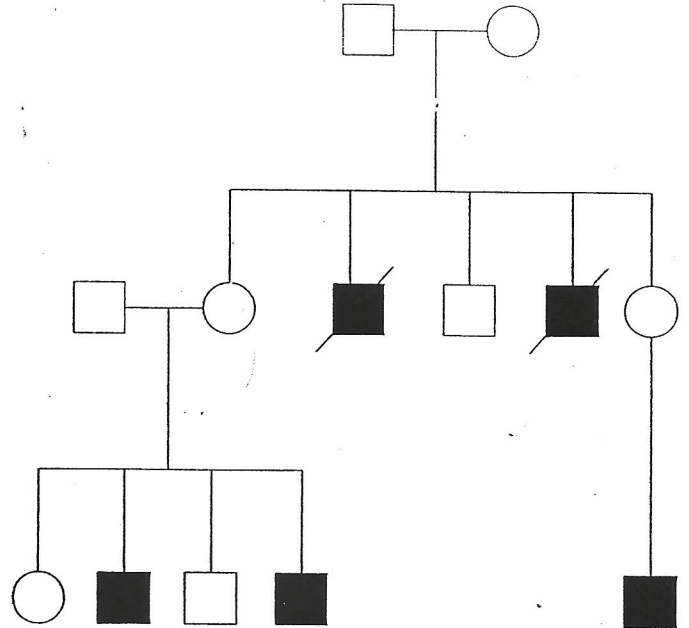


Fig. 25.8 Exemplo de genealogia com padrão característico de herança recessiva ligada ao cromossomo X.

Nessa situação, todas as mães de afetados são portadoras certas do gene (risco de 50% para descendentes de sexo masculino), e todas as irmãs têm risco de 50% de

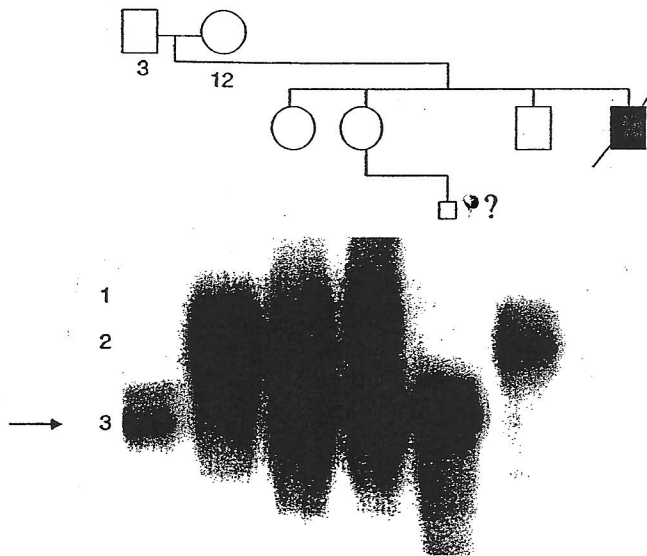


Fig. 25.7 Exemplo de diagnóstico pré-natal em feto de sexo masculino em risco para distrofia de Duchenne, cujo afetado já é falecido. Através de marcadores polimórficos ao longo do gene da distrofina, observa-se que o feto herdou o mesmo cromossomo X do avô materno normal e, portanto, tem 95% de chances de não ter herdado o gene da DMD.

serem portadoras (Fig. 25.8). O exame de DNA a ser realizado vai depender da presença ou não de deleção no afetado.

DISTROFIAS TIPO CINTURAS

As distrofias tipo cinturas (*limb-girdle muscular dystrophies*) constituem um grupo heterogêneo de doenças caracterizadas por uma fraqueza proximal das cinturas dos membros (cintura pélvica e escapular) e do tronco, sem comprometimento dos músculos faciais ou da inteligência (Bushby, 1999). Já foram identificados 13 genes responsáveis por esse quadro clínico, 5 com herança autossômica dominante e 8 com herança autossômica recessiva (Quadro 25.1). É um exemplo de heterogeneidade genética não-alélica, isto é, genes diferentes resultando em um fenótipo semelhante. As formas dominantes são relativamente raras, constituindo menos de 10% dos casos, e, portanto, não serão discutidas neste capítulo.

Além disso, um fenótipo semelhante à distrofia tipo cinturas pode ocorrer em mulheres com mutações no gene da DMD, portadoras de aberrações cromossômicas tais como síndrome de Turner, translocação X/autossomo (Zatz *et al.*, 1981; Fig. 25.9A), dissomia uniparental, ou devido a um desvio na inativação do cromossomo X (com uma inativação preferencial do cromossomo X portador do alelo normal, Zatz *et al.*, 1973) (Fig. 25.9B).

Dentre as formas recessivas, distingue-se um subgrupo, as sarcoglicanopatias, geralmente associadas a um quadro clínico que costuma ser mais grave, semelhante à forma Duchenne. Por esse motivo, essas formas também são classificadas como *Duchenne-like*. Existem quatro formas de sarcoglicanopatias, causadas por mutações nos genes que codificam quatro glicoproteínas associadas à distrofina (Ervasti & Campbell, 1989; Vainzof *et al.*, 1999), formando o complexo distrofina-glicoproteínas associadas (Fig. 25.2). São elas: a LGMD2C (Ben Othmane *et al.*, 1993; Azibi *et al.*, 1993), que codifica a γ -sarcoglicana; a

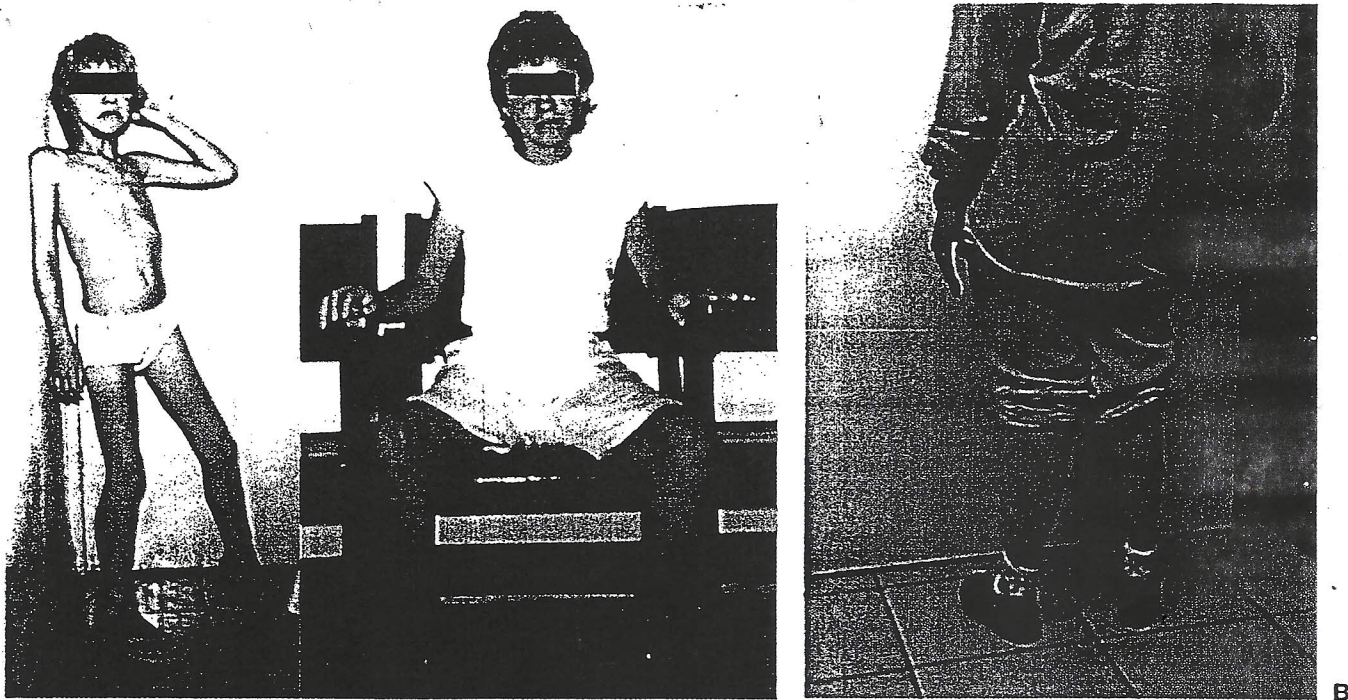


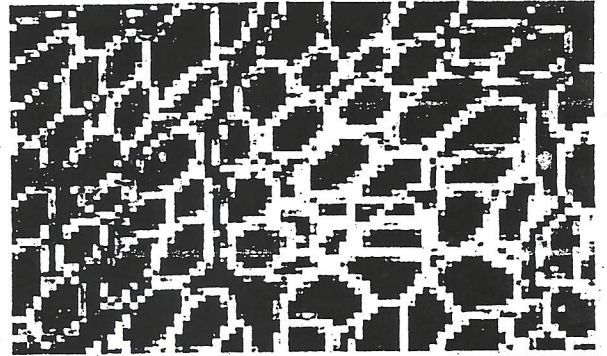
Fig. 25.9 Manifestação clínica de DMD no sexo feminino. A, Menina com translocação X/22 aos 10 e 16 anos com quadro típico de DMD. B, heterozigota manifestante, portadora de mutação no gene da DMD devido à inativação preferencial do cromossomo X portador do alelo normal. Observe-se a assimetria nas panturrilhas.

Quadro 25.1 Classificação das principais formas de distrofia muscular

CLASSIFICAÇÃO	HERANÇA	LOCALIZAÇÃO		PRODUTO GÊNICO	DIAGNÓSTICO	
		NO CROMOSSOMO	SÍMBOLO		DNA	PROTEÍNA MUSCULAR
Duchenne/Becker	Lig. X	Xp21.2	DMD/DMB	distrofina	sim	sim
Emery-Dreifuss	Lig. X	Xq28	EMD	emerina	sim	sim
Emery-Dreifuss	AD	1q11-q23	EMD/LGMD1B	lamin A/C	sim	sim
Distrofia de cinturas	AD	5q22-q34	LGMD1A	miotilina	-	sim
Distrofia de cinturas c/cardiopatia	AD	1q11-q23	LGMD1B/EMD	lamin A/C	sim	sim
Distrofia de cinturas	AD	3p25	LGMD1C	caveolina-3	sim	sim
Distrofia de cinturas c/cardiomiopatia	AD	6q23	LGMD1D	-	-	-
Distrofia de cinturas c/fraqueza faríngea	AD	5q31	LGMD1E	-	-	-
Distrofia de cinturas	AD	7q	LGMD1F	-	-	-
Distrofia de cinturas	AR	15q15	LGMD2A (CAPN3)	calpaína 3	difícil	sim
Distrofia de cinturas	AR	2p13	LGMD2B (DYSF)	disferlina	difícil	sim
Miopatia de Miyoshi	AR	13q12	LGMD2C (SGCG)	γ -sarcoglicana	sim	sim
Distrofia de cinturas	AR	17q12	LGMD2D (SGCA)	α -sarcoglicana	sim	sim
Distrofia de cinturas	AR	4q12	LGMD2E (SGCB)	β -sarcoglicana	sim	sim
Distrofia de cinturas	AR	5q33	LGMD2F (SGCD)	δ -sarcoglicana	sim	sim
Distrofia de cinturas	AR	17q11	LGMD2G	teletonina	sim	sim
Distrofia de cinturas	AR	9q31	LGMD2H	-	-	-
Distrofia tipo fácio-escápulo-humeral	AD	4q35	FSHD	-	sim	-

De: Bushby, 1999; Passos-Bueno *et al.*, 1999; *Neuromuscular Disorders*, December 1999.

Distrofina



α -sarcoglicana

Fig. 25.10 Análise imuno-histoquímica com dupla marcação para a distrofina e α -sarcoglicana em paciente afetado por sarcoglicanopatia mostrando a integridade da membrana da fibra muscular, marcada pela distrofina, e a ausência da proteína sarcoglicana na membrana. (Gentileza da Dra. Mariz Vainzof, Centro de Estudos do Genoma Humano IBUSP.)

LGMD2D, que codifica a α -sarcoglicana (Roberds *et al.*, 1994); a LGMD2E, que codifica a β -sarcoglicana (Bonnemant *et al.*, 1995); e a LGMD2F, que codifica a δ -sarcoglicana (Passos-Bueno *et al.*, 1996; Nigro *et al.*, 1996). Essas 4 proteínas estão interligadas, e, por isso, uma mutação que cause ausência de qualquer uma das sarcoglicanas causa uma desestruturação de todo o complexo (Fig. 25.10), resultando, geralmente, em um grave quadro de distrofia. Essa observação explica como a heterogeneidade genética não alélica pode causar um mesmo fenótipo.

Com exceção da forma LGMD2D (α -sarcoglicanopatia), cujo quadro clínico é muito variável (Passos-Bueno *et al.*, 1993), as outras 3 sarcoglicanopatias geralmente mostram uma evolução rápida e os pacientes dificilmente conseguem andar após os 16 anos de idade (ver revisão em Passos-Bueno *et al.*, 1999). A enzima CK também se apresenta muito elevada no soro, principalmente nas fases iniciais (quando pode chegar até 180 vezes acima do normal). A maioria dos pacientes têm hipertrofia de panturrilhas na fase ambulatória. Quando o paciente é do sexo masculino e não existe história familiar, o diagnóstico clínico é indistinguível da forma Duchenne ligada ao cromossomo X. Por outro lado, em meninas afetadas, que são casos isolados, deve excluir-se uma distrofinopatia. Em todos esses casos, a confirmação do diagnóstico depende da análise das proteínas distrofina e sarcoglicanas em biópsia muscular e da análise de DNA. De maneira geral, as principais características observadas em pacientes brasileiros são:

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL E ACONSELHAMENTO GENÉTICO

Em pacientes isolados, nos quais o estudo de DNA exclui uma distrofinopatia, o estudo de proteínas musculares é fundamental para diferenciar esse grupo de distrofias das formas de herança ligada ao X, para o aconselhamento genético, como exemplificado a seguir:

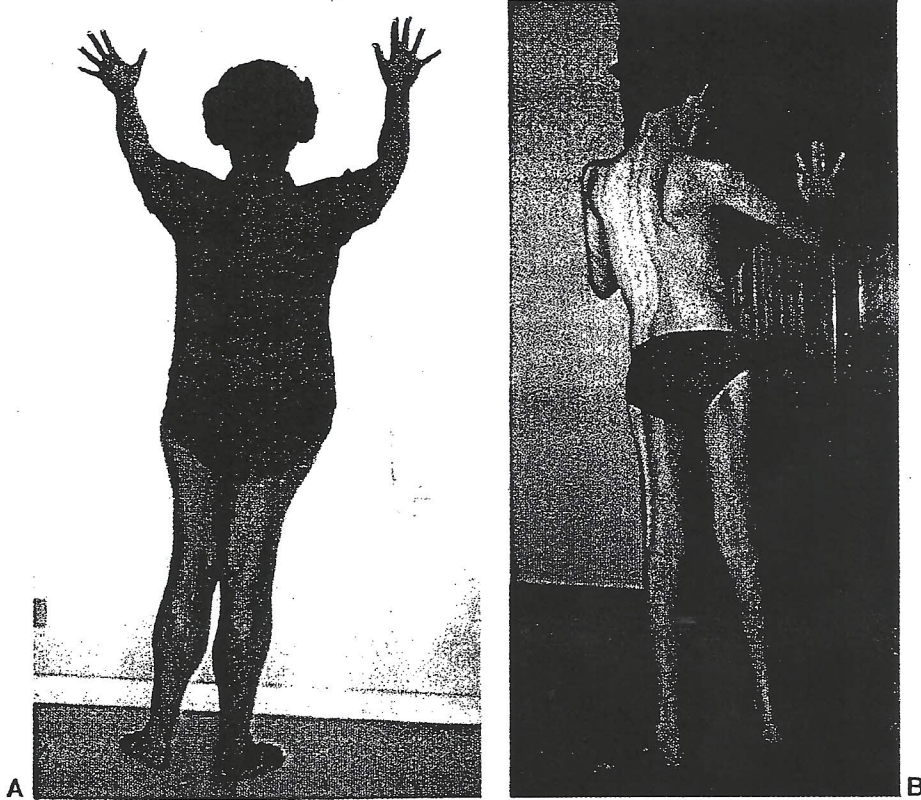


Fig. 25.17 Dois pacientes afetados por LGMD2G, respectivamente com 43 anos (A) e quadro leve, e 29 anos (B) e progressão rápida, ilustrando variabilidade do quadro clínico e a presença de hipertrofia em (A) e atrofia distal em (B).

Nas formas AR, pais de crianças afetadas têm um risco de 25% de vir a ter outro descendente afetado, independentemente do sexo, enquanto, nas distrofinopatias ligadas ao X, só existe risco para descendentes de sexo masculino.

O risco para a descendência de irmãs normais de afetados nas formas AR é desprezível (desde que não contraiam casamento consanguíneo) e pode ser de até 50% na DMD/DMB, independentemente de casamento (se a irmã for portadora da mutação presente no irmão).

No caso de herança AR, só existe risco para aquele casal, enquanto na DMD/DMB, se a mãe do afetado for portadora, o risco para a sua futura prole independe do casamento.

DISTROFIA FÁCIO-ESCÁPULO-HUMERAL (DFSH)

Essa forma de distrofia, de herança autossômica dominante, caracteriza-se por um envolvimento predominante da musculatura facial e da cintura escapular (Fig. 25.18), com uma grande variabilidade inter e intrafamiliar.

Alguns pacientes têm uma forma extremamente leve que pode limitar-se a uma fraqueza na face ou na cintura escapular durante a vida toda, enquanto outros podem ter início na infância (Fig. 5.19) e uma progressão rápida, com perda precoce da mobilidade. Em média, entretanto, a progressão é muito lenta, e a maioria dos pacientes tem uma sobrevida normal.

O gene da DFSH foi localizado no cromossomo 4 (na região 4q, Wijmenga *et al.*, 1990, 1992), e observou-se (com o uso da sonda p13E-11 e após digestão com a enzima *EcoRI*) um fragmento de 12-35 kb, (Fig. 25.20) que estava segregan-

do junto com a doença em famílias com duas ou mais gerações de afetados.

Esse achado foi confirmado na maioria das famílias brasileiras (Passos-Bueno *et al.*, 1993). Pesquisas mais recentes em fa-



Fig. 25.18 Paciente de 32 anos afetado pela forma clássica de distrofia fácio-escápulo-humeral, com fraqueza facial e da cintura escapulo-humeral.

mílias brasileiras com DFSH mostraram dados interessantes e inesperados, tais como:

- a) cerca de 33% dos casos são resultantes de mutações novas (Fig. 25.19), o que contraria a literatura clássica, segundo a qual as mutações novas eram raras na DFSH;
- b) casos de mosaicismos germinais não são raros na DFSH;
- c) a análise de famílias com duas ou mais gerações sugere que a antecipação (agravamento do quadro clínico em gerações subsequentes, Fig. 25.20) pode ocorrer nessa forma de distrofia (Zatz *et al.*, 1995), o que foi subsequentemente confirmado por Lunt *et al.* (1995) em famílias da Europa.

Além disso, verificamos que o tamanho do fragmento era menor em casos isolados e de início precoce, o que também foi confirmado por Lunt *et al.* (1995). Esses autores sugerem que o tamanho do fragmento é um fator determinante na idade de início e gravidade do quadro clínico (pois os menores fragmentos foram encontrados em pacientes com início precoce e quadro clínico mais grave).

Outro achado intrigante é que, apesar de tratar-se de um gene autossômico dominante (e que, portanto, deveria afetar igualmente os dois sexos), observamos que o sexo masculino é mais frequentemente afetado e, em média, com mais gravidade que o sexo feminino (Zatz *et al.*, 1998). O estudo molecular de pacientes brasileiros mostrou que essa diferença sexual na frequência de afetados é devida a uma proporção significativamente maior de mulheres portadoras da deleção e que permanecem assintomáticas. Além disso, mais recentemente, Van der Maarel *et al.* (comunicação pessoal) mostraram que, entre os casos originados por mutação nova, existe uma alta frequência de mosaicismos somático e que a manifestação da doença seria dependente do sexo afetado. Não existe ainda uma explicação para esses achados, mas compreender por que as mulheres são, em média, menos afetadas do que os homens há de ser muito importante para futuros tratamentos.

Apesar de o gene responsável pela DFSH ainda não ter sido isolado (pelo menos até a redação deste capítulo), o mecanismo molecular proposto para explicar essa miopatia seria uma deleção de um número integral de cópias de uma sequência de 3,2 kb em tandem (Van Deutekom *et al.*, 1993). De acordo com Lunt *et al.* (1995), a função do gene FSHD poderia estar alterada (ou "aumentada") devido a um efeito de posição ou à perda das repetições de 3,2 kb. Por exemplo, se essa sequência é transcrita normalmente, a deleção poderia causar uma proteína de tamanho reduzido (como já foi demonstrado para o gene Apo(a) humano). Alternativamente, se o gene FSHD está sujeito a variação por efeito de posição, a probabilidade de um gene proximal ser "desativado" (através de um efeito de heterocromatinização telomérica) poderia ser proporcional à distância do telômero. Nesse sentido, deleções maiores levariam a uma desativação desse gene proximal em uma proporção maior de células. É possível, também, que o gene estrutural da DFSH produza transcritos alternativos distintos em diferentes tecidos musculares ou de acordo com a idade.

Do ponto de vista prático de aconselhamento genético, é importante salientar que, enquanto o gene não for clonado, a análise do fragmento 4q35 só é possível: a) em famílias com múltiplos afetados ou b) nos casos isolados, quando for possível confirmar que um fragmento de tamanho reduzido encontrado no probando está ausente nos seus pais (Fig. 25.19). Por outro lado, sabe-se que pacientes afetados têm um risco de 50% de passar o gene defeituoso para a sua descendência. Entretanto, o conse-

lhamento genético nas famílias em risco é complexo, pois deve levar-se em conta a possibilidade de antecipação clínica e, também, a diferença de manifestação de acordo com o sexo do afetado. Isto é, não é possível prever a gravidade do quadro clínico em crianças portadoras da mutação. Por esse motivo, do ponto de vista ético, a conduta tem sido de não testar crianças assintomáticas em risco enquanto não houver um tratamento preventivo.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de expressar nossos sinceros agradecimentos às seguintes pessoas, pela inestimável colaboração e companheirismo: Dra. Mariz Vainzof, Dra. Maria Rita Passos-Bueno, Dra. Rita de Cássia Pavanello, Dr. Ivo Pavanello, Dra. Suely K. Marie, Sra. Antonia Cerqueira, Sra. Marta Canovas e Constancia Urbani. Este trabalho foi financiado pela FAPESP, CNPq e PRONEX.

BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON LVB, DAVISON K, MOSS JÁ, RICHARD I, FARDEAU M, TOMÉ FMS, HUBNER C, LASA A, COLOMER J, BECKMANN JS. Characterization of monoclonal antibodies to calpain 3 and protein expression in muscle from patients with limb-girdle muscular dystrophy type 2A. *Am J Pathol*, 153:1169-1179, 1998.
- ANDERSON LVB, DAVISON K, MOSS JÁ, YOUNG C, CULLEN MJ, WALSH J, JOHNSON MA, BASHIR R, BRITTON S, KEERS S, ARGOV Z, MAHJNEH I, FOUGEROUSSE F, BECKMANN JS, BUSHBY K. Dysferlin is a plasma membrane protein and is expressed early in human development. *Hum Molec Genet*, 8:855-861, 1999.
- AZIBI KL, BACHNER JJS, BECKMANN K, MATSUMURA E, HAMOUDA M, CHAOUCH AR, CHAOUCH R, AIT-OUARAB A, VIGNAL J, WEISSENBACH M-C, VINET F, LETURCQ H, COLLIN FMS, TOMÉ M, FARDEAU KP, CAMPBELL J-C, KAPLAN. Severe childhood autosomal recessive muscular dystrophy with the deficiency of the 50 kDa dystrophin-associated glycoprotein maps to chromosome 13q12. *Hum Mol Genet*, 2:1423-1428, 1993.
- BAGHDIGUIAN S, MARTIN M, RICHARD I, PONS F, ASTIER C, BOURG N, HAY RT, CHEMALY R, HALABY G, LOISELET J, ANDERSON LVB, LOPEZ DE MUNAIN A, FARDEAU M, MANGEAT P, BECKMANN JS, LEFRANC G. Calpain 3 deficiency is associated with myonuclear apoptosis and profound perturbation of the I κ B α /NF- κ B pathway in limb-girdle muscular dystrophy type 2. *Nature Medicine*, 5:503-511, 1999.
- BASHIR R, BRITTON S, STRATCHANT, KEERS S, VAFIADAKI E, RICHARD I, MARCHAN S, BOURG N, ARGOV Z, SADEH M, MAHJNEH I, MARRONI G, PASSOS-BUENO MR, MOREIRA ES, ZATZ M, BECKMANN JS, BUSHBY K. A novel mammalian gene related to the *C. elegans* spermatogenesis factor fer-1 is mutated in patients with limb-girdle muscular dystrophy type 2B (LGMD2B). *Nature Genetics*, 20:37-42, 1998.
- BECKMANN JS, RICHARD I, HILLAIRE D, BROUX O, ANTIGNAC C, BOIS E, CANN H, COTTINGHAM JR RW, FEINGOLD N, FEINGOLD J, KALIL J, LATHROP GM, MARCADET A, MASSET M, MIGNARD C, PASSOS-BUENO MR, PELLERAIN N, ZATZ M, DAUSSET J, FARDEAU M, COHEN D. A gene for limb-girdle muscular dystrophy maps to chromosome 15 by linkage. *C R Acad Sci Paris*, t. 312, série III, 1991, pp 141-148.
- BEN OTHMANE KM, BEN HAMIDA MA, PERICAK-VANCE C, BEN HAMIDA S, BLEL SC, CARTER AM, BOWCOCK K, PETRUHKIN TC, GILLIAM AD, ROSES F, HENTATI JM, VANCE. Linkage of Tunisian autosomal recessive Duchenne-like muscular dystrophy to the pericentromeric region of chromosome 13q. *Nature Genet*, 2:315-317, 1992.
- BONNEMANN CGR, MODI S, NOGUCHI Y, MIZUNO M, YOSHIDA E, GUSSONI EM, MCNALLY DJ, DUGGAN C, ANGELINI

- EP. HOFFMAN E, OZAWA LM, KUNKEL. β -sarcoglycan (A3b) mutations cause autosomal recessive muscular dystrophy with loss of the sarcoglycan complex. *Nature Genetics*, 11:266-273, 1995.
- BONNEMANN C, PASSOS-BUENO MR, MCNALLY EM, VAINZOF M, MOREIRA ES, MARIE SK, PAVANELLO RCM, NOGUCHI S, OZAWA E, ZATZ M, KUNKEL L. Genomic screening for β -sarcoglycan mutations: missense mutations may cause severe limb-girdle muscular dystrophy type 2E (LGMD2E). *Hum Molec Genet*, 5(12):1953-1962, 1996.
- BUSHBY K. Making sense of the limb-girdle muscular dystrophies. *Brain*, 122:1403-1420, 1999.
- EMERY, AEH. Duchenne muscular dystrophy, 2nd ed. Oxford University Press, Oxford and New York, 1993, pp 25-45.
- ERVASTI JM, CAMPBELL KP. Membrane organization of the dystrophin-glycoprotein complex. *Cell*, 66:1-20, 1991.
- GOMES RR, TORRES AFB, VAINZOF M, CERQUEIRA A, PASSOS-BUENO MR, ZATZ M. Association of specific mutations and severe mental retardation in Duchenne patients. *Am J Hum Genet*, 56(4): Supl A298, 1999.
- HOFFMAN EP, FISCHBECK KH, BROWN RH, JOHNSON M, MEDORI R, LOIKE JD, HARRIS JB, WATERSTON R, BROOKE M, SPECHT L, KUPSKY W, CHAMBERLAIN J, CASKEY T, SHAPIRO F, KUNKEL LM. Characterization of dystrophin in muscle-biopsy specimens from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy. *N Engl J Med*, 318:1363-1368, 1998.
- HOFFMAN EP, BROWN RH, KUNKEL LH. Dystrophin: the Protein Product of the Duchenne Muscular Dystrophy Locus. *Cell*, 51:919-928, 1987.
- KOENIG M, HOFFMAN EP, BERTELSON CJ, MONACO AP, FEENER C, KUNKEL LM. Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals. *Cell*, 50:509-517, 1987.
- KOENIG M, BEGGS AH, MOYER M, SCHERPF S. The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy: Correlation of severity with type of deletion. *Am J Hum Genet*, 45:498-506, 1989.
- LIM LE, DUCLOS F, BROUX O, BOURG N, SUNADA Y, ALLAMAND V, MEYER J, RICHARD I, TOMÉ F, FARDEAU M, MOOMAW C, SLAUGHTER C, JACKSON CE, BECKMANN JS, CAMPBELL KP. (β -sarcoglycan (43 DAG): Characterization and involvement in a recessive form of limb-girdle muscular dystrophy linked to chromosome 4q12. *Nature Genetics*, 11:257-265, 1995.
- LIDOV HGW, SELIG S, KUNKEL LM. Dp 140: a Novel 140 kDa CNS Transcript from the Dystrophin Locus. *Hum Molec Genet*, 4(3):329-335, 1995.
- LIDOV, HGW, KUNKEL LM. Dp 140: Alternatively Spliced Isoforms in Brain and Kidney. *Genomics*, 45:132-139, 1997.
- LINDLÖF M, KIURU A, KAARIAENIN H, KALIMO H, LANG H, PIHKO H, RAPOLA J, SOMER H, SOMER M, SAVONTES ML, DE LA CHAPELLE A. Gene Deletions in X-linked Muscular Dystrophy. *Am J Hum Genet*, 44:496-503, 1989.
- LIU J, AOKI M, ILLA I, WU C, FARDEAU M, ANGELINI C, SER-RANO C *et al.* Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb-girdle muscular dystrophy. *Nat Genet*, 20:31-36, 1998.
- LUNT PW, JARDINE PE, KOCH MC, MAYNARD J, OSBORN M, WILLIAMS M, HARPER PS, UPADHYAYA M. Correlation between fragment size at D4f104S and age at onset or at wheelchair use with a possible generational effect accounts for much phenotypic variation in 4q35-facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD). *Hum Molec Genet*, 4:951-958, 1995.
- MCNALLY E, PASSOS-BUENO MR, BONNEMANN C, VAINZOF M, MOREIRA ES, LIDOV HGW, OTHMANE KB, DENTON PH, VANCE JM, ZATZ M, KUNKEL LM. Mild and severe muscular dystrophy caused by a single α -sarcoglycan mutation. *Am J Hum Genet*, 59:1040-1047, 1996.
- MONACO A, BERTELSON C, LIECHTIGALLATI SHM, KUNKEL LM. An Explanation for the Phenotypic Differences Between Patients Bearing Partial Deletions of the DMD locus. *Genomics*, 2:90-95, 1998.
- MOREIRA ES, VAINZOF M, MARIE SK, SERTIÉ A, ZATZ M, PASSOS-BUENO MR. The seventh form of autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy (LGMD2G) is mapped at 17q11-12. *Am J Hum Genet*, 61:151-159, 1997.
- MOREIRA ES, VAINZOF M, MARIE SK, NIGRO V, ZATZ M, PASSOS-BUENO MR. A first missense mutation in the δ -sarcoglycan gene associated with a severe phenotype and frequency of limb-girdle muscular dystrophy type 2F (LGMD2F) among Brazilian sarcoglycanopathies. *J Med Genet*, 35:951-953, 1998.
- MOREIRA ES, WILTSHIRE TJ, GEORGINE FAULKNER G, ANTJE NILFOROUSHAN A, MARIZ VAINZOF M, SUZUKI OT, VALLE G, REEVES R, ZATZ M, PASSOS-BUENO MR, JENNE DE. Limb-Girdle muscular dystrophy type 2G (LGMD2G) is caused by mutations in the gene encoding the sarcomeric protein telethonin. *Nature Genetics*, 24:163-166, 2000.
- NIGRO V, MOREIRA ES, PILUSO G, VAINZOF M, BELSITO A, POLITANO L, PUCA AA, PASSOS-BUENO MR, ZATZ M. The 5q autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy (LGMD2F) is caused by a mutation in the (δ -sarcoglycan gene. *Nat Genet*, 14:195-196, 1996. *Neuromuscular Disorders*, 9:I-VIII, 1999.
- PASSOS-BUENO MR, LIMA MABO, ZATZ M. Estimate of germinal mosaicism in Duchenne muscular dystrophy. *J Med Genet*, 27:727-728, 1990.
- PASSOS-BUENO MR, BAKKER E, KNEPPERS ALJ, TAKATA RI, RAPAPORT D, DEN DUNNEN JT, ZATZ M, VAN OMMEN GJB. Mosaicism for Duchenne muscular dystrophy mutations: New recurrence risk estimates based on the deletion site in the gene. *Am J Hum Genet*, 51:1150-1155, 1992.
- PASSOS-BUENO MR, WIJMENGA C, TAKATA R, MARIE SKN, VAINZOF M, PAVANELLO RCM, HEWITT JE, BAKKER E, CARVALHO A, AKIYAMA J, FRANTS RR, ZATZ M. No evidence of genetic heterogeneity in Brazilian facioscapulohumeral muscular dystrophy families (FSHD) with 4q markers. *Human Molecular Genetics*, (5):557-562, 1993.
- PASSOS-BUENO MR, VAINZOF M, MARIE SK, ZATZ M. Half the dystrophin gene is apparently enough for a mild clinical course: confirmation of its potential use for gene therapy. *Hum Molec Genet*, 3:919-922, 1994.
- PASSOS-BUENO MR, MOREIRA ES, VAINZOF M, CHAMBERLAIN J, MARIE SK, PEREIRA L, AKIYAMA J, ROBERDS SL, CAMPBELL KP, ZATZ M. A common missense mutation in three unrelated Brazilian families with a relatively mild form of autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy. *Hum Molec Genet*, 4:1163-1167, 1995.
- PASSOS-BUENO MR, MOREIRA ES, VAINZOF M, MARIE SK, ZATZ M. Linkage analysis in autosomal recessive muscular dystrophy (AR LGMD) maps a sixth form to 5q33-34 (LGMD2F) and indicates that there is at least one more subtype of ARLGMD. *Hum Molec Genet*, 5:815-820, 1996.
- PASSOS-BUENO MR, MOREIRA ES, MARIE SK, BASHIR R, VASQUEZ L, LOVE DR, VAINZOF M, IUGHETTI P, OLIVEIRA JR, BAKKER E, STRACHAN T, BUSHBY K, ZATZ M. Main clinical features for the three mapped autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies and estimated proportion of each form in 13 Brazilian families. *J Med Genet*, 33:97-102, 1996.
- PASSOS-BUENO MR, VAINZOF M, MOREIRA ES, ZATZ M. The seven autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies (LGMD): from lgmd2a to lgmd2g. *Am J Med Genet*, 82:392-398, 1999.
- RAPAPORT D, PASSOS-BUENO MR, BRANDÃO L, LOVE D, VAINZOF M, ZATZ M. Apparent association of mental retardation and specific patterns of deletions screened with probes cf56a e cf23a in Duchenne muscular dystrophy. *Am J Med Genet*, 39:437-441, 1991.
- RAPAPORT D, PASSOS-BUENO MR, TAKATA RI, CAMPIOTTO, S, EGGERS S, VAINZOF M, MAKOVER A, NUDEL U, YAFFE D, ZATZ M. A deletion including the brain promoter of the Duchenne muscular dystrophy gene is not associated with mental retardation. *Neuromuscular Disorders*, 2:117-120, 1992.
- RICHARD I, BROUX O, ALLAMAND V, FOUGEROUSSE F, CHIANNILKULCHAIN, BOURG N, BRENGUIER L, DEVAUD

- C, PASTURAUD P, ROUDAUT C, HILLAIRE D, PASSOS-BUENO MR, ZATZ M, TISHFIELD JA, FARDEAU M, JACKSON CE, COHEN D, BECKMANN J. Mutations in the proteolytic enzyme calpain 3 cause limb-girdle muscular dystrophy type 2A. *Cell*, 81:27-40, 1995.
- RICHARD I, ROUDAUT C, SAENZ A, POGUE R, GRIMBERGEN JEMA, ANDERSON LVB, BELEY C, COBO A-M, DIEGO C, EYMARD B, GALLANO P, GINJAAR HB, LASA A, POLLITT C, TOPALOGLU H, URTZIBERIA JÁ, VISSER M, VAN DER KOOI A, BUSHBY K, BAKKER E, LOPEZ DE MUNAIN A, FARDEAU M, BECKMANN JS. Calpainopathy—a survey of mutations and polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 64:1524-1540, 1999.
- ROBERDS SL, LETURCQ F, ALLAMAND V, PICCOLO F, JEANPIERRE M, ANDERSON RD, LIM LE, LEE JC, TOMÉ FMS, ROMERO NB, FARDEAU M, BECKMANN JS, KAPLAN JC, CAMPBELL KP. Missense mutations in the adhalin gene linked to autosomal recessive muscular dystrophy. *Cell*, 78:625-633, 1994.
- SPENCER MJ, TIDBALL JG, ANDERSON LVB, BUSHBY K, HARRIS JB, PASSOS-BUENO MR, SOMMER H, VAINZOF M, ZATZ M. Absence of calpain 3 in a form of limb-girdle muscular dystrophy (LGMD2A). *J Neurol Sci*, 146:173-178, 1997.
- SUMITA D, VAINZOF M, CAMPIOTTO S, CERQUEIRA A, CANOVAS M, PASSOS-BUENO MR, ZATZ M. Absence of correlation between skewed X-inactivation in blood and serum creatine-kinase (CK) levels in Duchenne/Becker female carriers. *Am J Med Genet*, 356-361, 1998.
- TAKATA R. *Estudos de deleções moleculares com sondas de cDNA ao longo do gene da distrofina*. Memória de Mestrado, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1995.
- VAINZOF M, MOREIRA ES, FERRAZ G, PASSOS-BUENO MR, MARIE SK, ZATZ M. Further evidences for the organization of the four sarcoglycans proteins within the dystrophin-glycoprotein complex. *European Journal of Human Genetics*, 7:(2) 251-254, 1999.
- VAINZOF M, PASSOS-BUENO MR, CANOVAS M, MOREIRA ES, PAVANELLO RCM, MARIE SK, ANDERSON LVB, BONNEMAN CG, MCNALLY E, NIGRO V, KUNKEL LM, ZATZ M. The sarcoglycan complex in the six autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. *Hum Molec Genet*, 5(12):1963-1970, 1996.
- VAINZOF M, PASSOS-BUENO MR, PAVANELLO RCM, MARIE SK, OLIVEIRA ASB, ZATZ M. Sarcoglycanopathies are responsible for 68% of severe autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy in the Brazilian population. *J Neurol Sciences*, 164:44-49, 1999.
- VAINZOF M, PASSOS-BUENO MR, TAKATA RI, PAVANELLO RCM, ZATZ M. Intrafamilial variability in dystrophin abundance correlated with difference in the severity of the phenotype. *J Neurol Sci*, 119:38, 1993a.
- VAINZOF M, PASSOS-BUENO MR, TAKATA RI, PAVANELLO RCM, ZATZ M. Is the maintenance of the C-terminus domain of dystrophin enough to ensure a milder Becker muscular dystrophy phenotype? *Human Molecular Genetics*, 2(1) 39-42, 1993b.
- VAINZOF M, PAVANELLO RCM, PAVANELLO I, HOFFMAN EP, PASSOS-BUENO MR, RAPAPORT D, ZATZ M. Dystrophin immunostaining in muscles from patients with different types of muscular dystrophy: a Brazilian study. *J Neurol Sci*, 98:221-233, 1990.
- VAINZOF M, PAVANELLO RCM, PAVANELLO IF, PASSOS-BUENO MR, RAPAPORT D, HSI CT, ZATZ M. Dystrophin Immunostaining in Muscles from Patients with Different Types of Muscular Dystrophy: a Brazilian Study. *J Neurol Sciences*, 98:221-223, 1990.
- VAN DER MAAREL *et al.* Comunicação pessoal, 2000.
- VAN DEUTEKOM, JCT. *Ph.D. Thesis*, University of Leiden, Leiden, Netherlands, 1996.
- WEILER T, GREENBERG CR, ZELINSKI T, NYLEN E, COGHLAN G, CRUMLEY MJ, FUJIWARA TM *et al.* A gene for autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy in Manitoba Hutterites maps to chromosome region 9q31-33: evidence for another limb-girdle muscular dystrophy locus. *Am J Hum Genet*, 63:140-147, 1998.
- WIJMENGA C., FRANTS RR, BROUWER OF, MOERER P, WEBER JL, PADBERG GW. Location of fascioscapulohumeral muscular dystrophy gene on chromosome 4. *Lancet*, 336:651-653, 1990.
- WIJMENGA C, HEWITT JE, SANDKUIJL LA, CLARK LN, WRIGHT TJ, DAUWERSE HG, GRUTER AM, HOFKER MH, MOERER P, WILLIAMSON R, VAN OMMEN G-JB, PADBERG GW, FRANTS RR. Chromosome 4q DNA rearrangements associated with fascioscapulohumeral muscular dystrophy. *Nature Genetics*, 2:26-30, 1992.
- ZATZ M, MARIE SK, CERQUEIRA A, VAINZOF M, PAVANELLO RCM, PASSOS-BUENO MR. The fascioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD1) gene affects more severely and more frequently males than females. *Am J Med Genet*, 77:155-161, 1998.
- ZATZ M, MARIE SK, PASSOS-BUENO MR, CAMPIOTTO S, CERQUEIRA A, VAINZOF M, WIJMENGA C, PADBERG G, FRANTS R. High proportion of new mutations and possible anticipation following genetic molecular studies in Brazilian fascioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD) families. *Am J Hum Genet*, 56:99-105, 1995.
- ZATZ M, LANGE K, SPENCE MA. Frequency of Duchenne Muscular Dystrophy Carriers. *Lancet*, 1:759, 1977.
- ZATZ M, FROTA-PESSOA O, LEVY JA, PERES CA. Creatine-phosphokinase (CPK) activity in relatives of patients with X-linked muscular dystrophies: a Brazilian study. *J Genet Hum*, 24(2):153-168, 1976.
- ZATZ M, VAINZOF M, PASSOS-BUENO MR. Serum Creatine-Kinase (Ck) In Progressive Muscular Dystrophies. In: *Methods in Molecular Medicine* (in press), 2000.
- ZATZ M, VIANNA-MORGANTE AM, CAMPOS P, DIAMENT AJ. Translocation (X; 6) in a female with Duchenne muscular dystrophy: implications for the localization of the DMD locus. *J Med Genet*, 18(6):442-447, 1981.
- ZATZ M, LEVISKY RB, LEVY JA, VALENTE BO, GIANOTTI M, FROTA-PESSOA O. Clinical symptoms in a female carrier of Duchenne muscular dystrophy. *J Genet Hum*. 21(4):297-305, 1973.

MIOPATIAS HEREDITÁRIAS

1. Como se caracterizam clinicamente as distrofias musculares dos tipos Duchenne e Becker?
2. Que tipos de mutações podem causar essas distrofias?
3. Como mutações de um mesmo gene produzem os quadros da distrofia Duchenne, mais grave, e da Becker, menos grave?
4. Uma mulher clinicamente normal teve uma criança que apresenta um quadro clínico compatível com o da distrofia muscular progressiva tipo Duchenne.
 - a) Que passos devem ser seguidos para a confirmação ou não dessa hipótese diagnóstica?
 - b) Confirmando-se o diagnóstico, como pode ser estimado o risco de recorrência da distrofia na irmandade do afetado?
5. Um casal teve um menino com distrofia muscular progressiva muito grave, com início dos sinais aos três anos de idade. A análise da distrofina mostrou um padrão normal.
 - a) Que diagnóstico você sugere para esta criança?
 - b) Qual o risco de que outra criança que o casal venha a ter seja igualmente afetada?
 - c) Qual o risco para a prole de uma tia materna dessa criança, que está casada com um indivíduo não consanguíneo?
 - d) Se o menino afetado dessa família tivesse distrofia do tipo Duchenne, o risco para a tia materna seria dessa mesma grandeza?