

Doenças monogênicas ligadas ao cromossomo X

Hemofilia A (MIM 306700)

Apresentação de um caso

Probando III-4 (Figura 18.1), branco, 7 anos de idade. Aos 6 meses, apresentou hematomas e equimoses pela primeira vez. Atualmente, a queda espontânea da primeira dentição está ocorrendo sem hemorragia. Nunca sofreu extrações dentárias. As várias hemartroses que teve não deixaram sequelas. Aos 2 anos, um corte acidental em um dedo provocou hemorragia intensa que exigiu transfusão de sangue fresco, que a debelou. Desde então, tem recebido muitas transfusões. Exames laboratoriais revelaram: tempo de sangria, 150 s; tempo de coagulação, 90 min; prova do laço, negativa; retração do coágulo, 60%; plaquetas por mm^3 , 284.000; tempo de protrombina, 100%; consumo de protrombina, 17% (controle normal, 91%); tempo de recalcificação, 380 s (controle normal, 90 s); tempo de geração de tromboplastina, 25%.

Seu primo pelo lado materno (III-3, da Figura 18.1), com um ano de idade, já apresentou hematomas e equimoses, e hemartrose no joelho direito; nunca recebeu transfusão. Exames laboratoriais revelaram deficiências na coagulação semelhantes às observadas no propósito. Dois outros parentes, também pelo lado materno, foram referidos pela família como afetados, porém não foram testados.

Firmou-se o diagnóstico de hemofilia A.

Aspectos clínicos

A doença decorre da deficiência hereditária de um fator plasmático da coagulação sanguínea (Figura 18.2), o fator VIII, ou globulina anti-hemofílica. O defeito tem origem em mutações patogênicas (geralmente deleções) no gene *F8* em Xq28, que codifica o fator VIII da coagulação. Enquanto cerca de metade dessas mutações resultam em

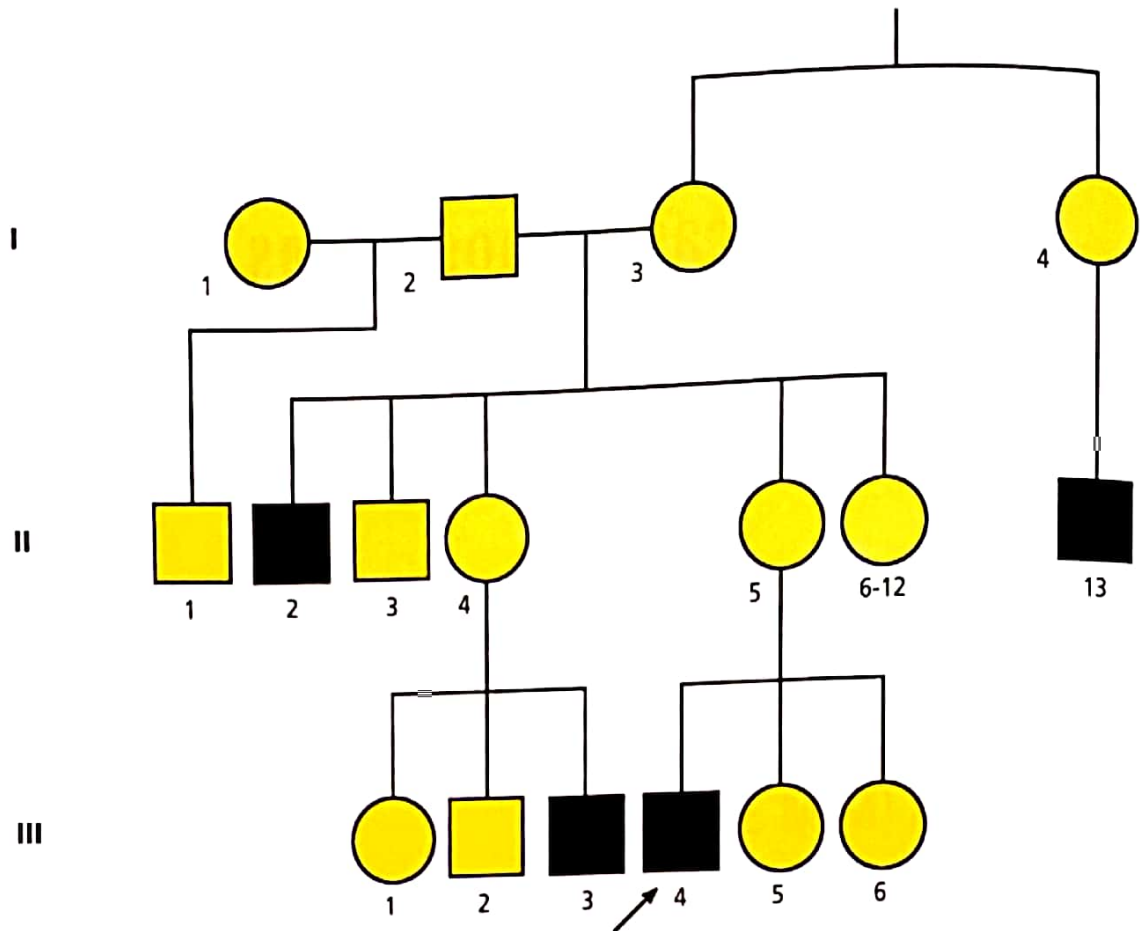


Figura 18.1 – Heredograma de uma família com vários casos de hemofilia A (gentileza do Dr. Israel Roisemberg, Seção de Genética, Instituto de Ciências Naturais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul).

atividade muito baixa (inferior a 1%) da globulina anti-hemofílica e o quadro clínico correspondente é relativamente grave, 10% resultam em quadros clinicamente moderados (globulina anti-hemofílica com cerca de 2 a 5% da atividade normal preservada) e 40% em casos classificados como leves (nos quais 6 a 30% da atividade normal do fator VIII estão preservados).

Clinicamente, a hemofilia A se caracteriza por hemorragias graves após traumatismos, por vezes insignificantes, e equimoses espontâneas. São raros, no entanto, sangramentos prolongados decorrentes de cortes ou feridas pequenos. Ao contrário do que sucede com defeitos de coagulação secundários a defeitos plaquetários, não há sangramentos de mucosas. Os indícios da doença manifestam-se ocasionalmente, em especial nos casos mais leves, pela primeira vez em operações cirúrgicas, por sangramento copioso. Os afetados geralmente não apresentam sangramento no primeiro ano de vida, mas, a partir do início da deambulação, são comuns as hemorragias intra-articulares (hemartroses), que costumam provocar limitação de movimentos e deformidades permanentes se não se fizer fisioterapia após o estágio agudo. As complicações mais graves são as hemorragias de cérebro, faringe e traqueia. As provas referentes a capilares e plaquetas e o tempo de protrombina dão resultados normais.

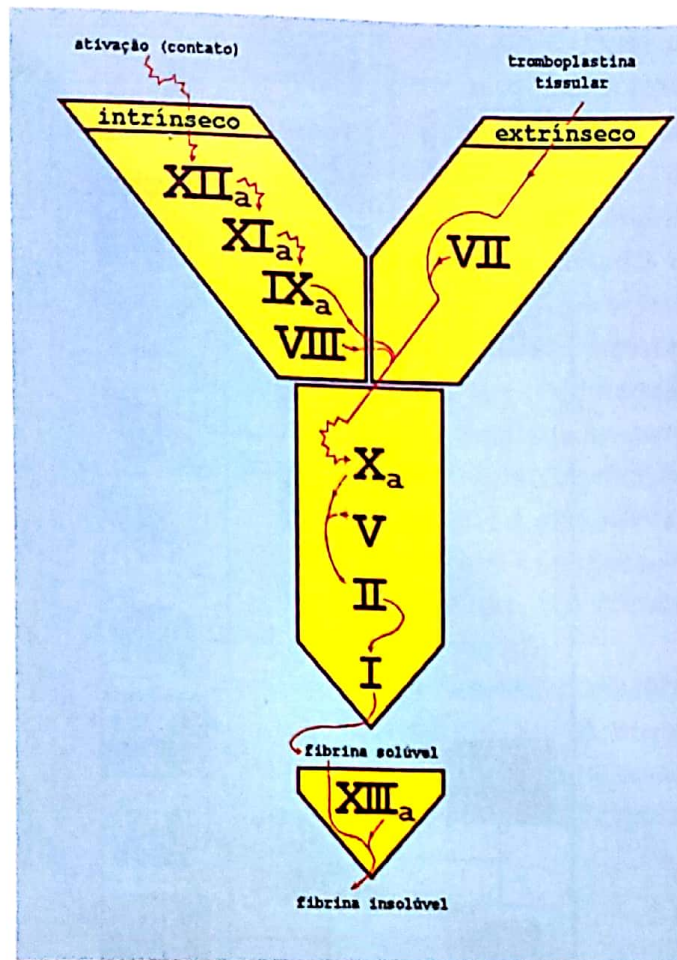


Figura 18.2 – Mecanismo da coagulação sanguínea. O índice a após o fator indica sua ativação (modificado de Bithell e Wintrobe, 1970).

Os tempos de coagulação e de recalcificação estão prolongados e os testes de consumo de protrombina e de geração de tromboplastina revelam atividade diminuída. Este último é o mais eficiente dos testes de rotina para o diagnóstico diferencial das hemofilias, porém o diagnóstico definitivo só se firma com a dosagem da atividade da globulina anti-hemofílica, ensaio que pode ser realizado mesmo em recém-natos, uma vez que essa proteína é incapaz de atravessar a barreira placentária.

Aspectos genéticos

A hemofilia A ou hemofilia clássica é condicionada por mutações recessivas em gene localizado no cromossomo X, o gene *F8*. Com raras exceções, a doença surge somente em indivíduos hemizigotos do sexo masculino. A Figura 18.3, baseada em um desenho do Professor Charles W. Cotterman, mostra o caso bem conhecido de segregação da doença na família real da Inglaterra e suas extensões na Alemanha, Rússia e Espanha. Claramente, a rainha Victoria, de linhagem nobre Saxe-Coburgo-Gotha, era heterozigota e transmitiu o alelo da doença a vários de seus descendentes.

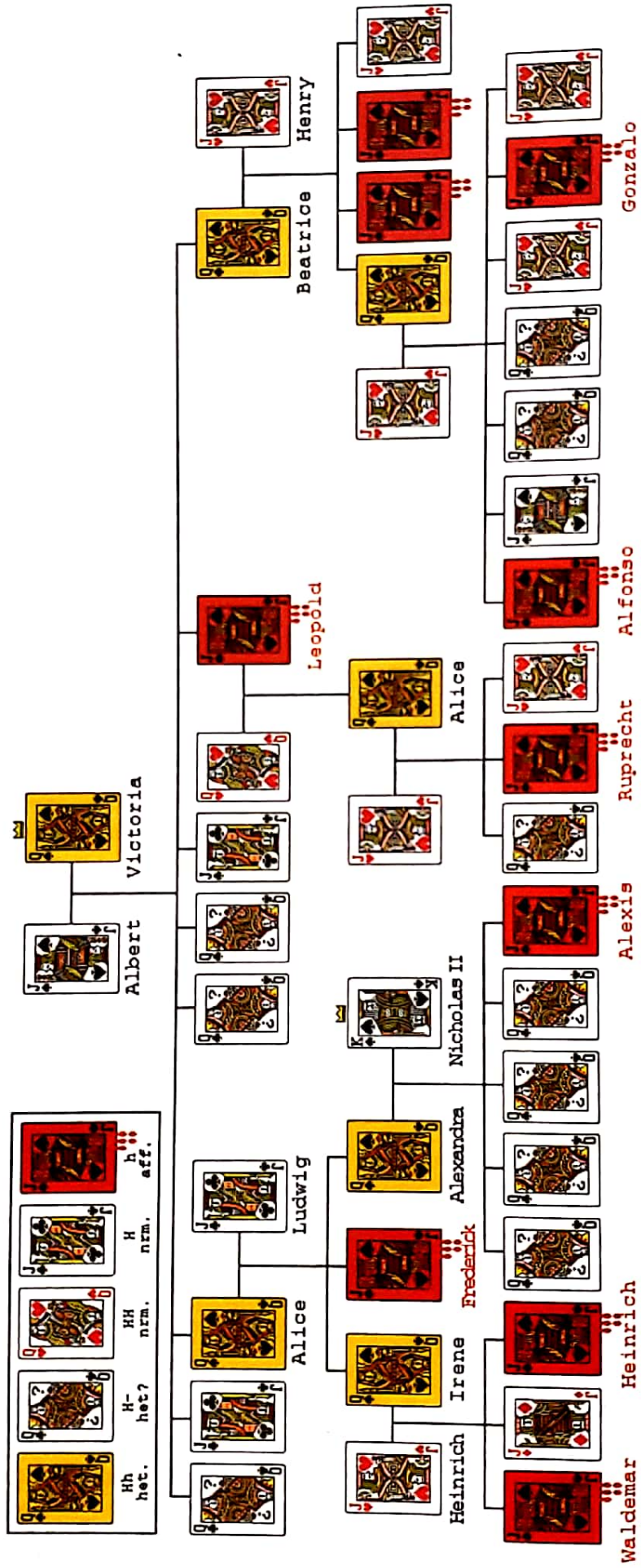


Figura 18.3 – Segregação de hemofilia A na família real da Europa. Os símbolos usados estão explicados na parte superior esquerda da ilustração (af. = afetado; het. = heterozigoto; nrm = normal).

São descritos poucos casos de mulheres homozigotas afetadas, com quadro clínico semelhante ao dos homens hemofílicos. Uma dessas pacientes era filha de um hemofílico casado com a irmã de outro hemofílico, a qual, com certeza, era heterozigota. Algumas homozigotas, por outro lado, resultaram de casamentos consanguíneos entre dois primos, um homem hemizigoto afetado e uma mulher heterozigota, ambos descendentes de avó heterozigota. Há também mulheres afetadas comprovadamente heterozigotas, o que se interpreta com base no efeito Lyon, ou seja, o quadro provavelmente decorra de elevada proporção de inativação do cromossomo X portador do alelo normal. Mais raramente, descreveram-se mulheres heterozigotas que exibiram o fenótipo porque eram portadoras de translocações equilibradas envolvendo o cromossomo X e partes de autossomos. Nessas mulheres, como o processo de inativação do cromossomo X pode se espalhar e inativar segmentos autossômicos (o que torna a célula inviável), observam-se somente células em que o cromossomo X envolvido na translocação é o ativo. Se houver alelo com mutação que acarrete hemofilia nesse cromossomo, a mulher manifestará o fenótipo da doença.

Detecta-se uma fração das mulheres heterozigotas, portadoras assintomáticas, testando-se a atividade da globulina anti-hemofílica, que se mostra reduzida. Testes moleculares de rastreamento das mutações mais frequentes ou estudos de ligação com marcadores moleculares polimórficos são empregados também para detectar heterozigotas nas genealogias dos indivíduos afetados.

Diagnóstico diferencial

Com exceção da doença de von Willebrand (frequência populacional da ordem de 1% em algumas populações da Europa do norte), comentada adiante, as demais doenças hereditárias de coagulação (Quadro 18.1) são raras, mesmo em conjunto, com prevalência de 1 afetado em 20.000 pessoas. A hemofilia A é responsável por mais de 80% desses casos; a hemofilia B, por 13%; a deficiência de fator XI, por 6%; e todas as demais por 1%.

Quadro 18.1 – Defeitos hereditários da coagulação classificados pelo tipo de herança

- Recessivos, ligados ao cromossomo X:
 - Hemofilia A ou deficiência do fator VIII
 - Hemofilia B, doença de Christmas ou deficiência do fator IX
- Autossômicos recessivos:
 - Afibrinogenemia congênita ou deficiência do fator I
 - Hipoprotrombinemia congênita ou deficiência do fator II
 - Para-hemofilia ou deficiência do fator V
 - Hipoproconvertinemia ou deficiência do fator VII
 - Deficiência do fator Stuart-Prower ou fator X
 - Hemofilia C ou deficiência do fator XI
 - Traço de Hageman ou deficiência do fator XII
 - Deficiência do fator XIII
- Autossômicos dominantes:
 - Doença de von Willebrand
 - Disfibrinogenemia congênita

Hemofilia B (MIM 306900)

Conhecida ainda pelo nome de doença de Christmas, decorre de mutações patogênicas no gene *F9* localizado em Xq27.1. O gene íntegro é responsável pela codificação do fator IX da coagulação. Também de herança recessiva ligada ao cromossomo X, suas manifestações são semelhantes às da hemofilia A, porém menos graves. Obtém-se o diagnóstico com a dosagem da atividade do fator IX que, nos afetados, geralmente é inferior a 5% do que é nos controles normais, embora uma atividade de 30% do normal (presente em casos leves da doença) já confirme o diagnóstico.

Hemofilia C ou deficiência do fator XI (MIM 612416)

Neste defeito hereditário da coagulação, é raro o sangramento aparentemente espontâneo, sendo comum após traumatismos, extrações dentárias e cirurgias. Primeiramente, a deficiência do fator XI foi classificada como autossômica dominante, de penetrância alta e expressividade variável. Depois, interpretou-se o defeito como condicionado por alelo incompletamente recessivo, por existirem pessoas com deficiência menor (heterozigotos com deficiência parcial e sem história hemorrágica) e outras com deficiência maior (homozigotos com sintomas clínicos). Estudos moleculares vieram demonstrar que os afetados são sempre portadores de mutações patogênicas no gene *F11* em 4q35.2, responsável pela codificação do fator XI da coagulação sanguínea (PTA ou antecedente da tromboplastina plasmática). Os portadores da deficiência são homozigotos ou heterozigotos compostos quanto a essas mutações, mas um certo número deles exibem a mutação em dose simples, com padrão de transmissão autossômico dominante. Esses casos de manifestação em heterozigotos seriam explicados pela estrutura dimérica circulante do fator XI e suas variantes mutantes, que poderiam originar heterodímeros e, por causa do efeito dominante-negativo, ter-se-ia a manifestação da deficiência mesmo com alelo mutado em dose simples.

Doença de von Willebrand (MIM 613160)

Existem pelo menos três tipos principais (I, II e III, resumidos adiante), distinguíveis entre si clínica, bioquímica e molecularmente, mas todos resultando de mutações patogênicas no gene *VWF* em 12p13.31, que codifica o fator de von Willebrand. Este é uma proteína de elevado peso molecular que desempenha um papel importante não só no mecanismo de adesão das plaquetas na coagulação sanguínea, como também participa ativamente como elemento de transporte do fator VIII da coagulação sanguínea (globulina anti-hemofílica). O quadro clínico inclui sangramentos mucocutâneos mais ou menos espontâneos (epistaxe e menorragia, hemorragias das mucosas nasal e uterovaginal, respectivamente) e hemorragias prolongadas após cirurgias e traumatismos. Há deficiência de fator VIII e tempo de sangramento prolongado, o que demonstra a existência de um duplo defeito, nas fases vascular e plaquetária da coagulação, diferenciando-se, assim, da hemofilia A. No tipo I, de herança autossômica dominante e responsável por 60 a 80% de todos os casos do defeito, a proteína VWF circulante

exibe uma deficiência quantitativa parcial e o quadro clínico associado costuma ser leve ou muito leve. O tipo II (10 a 30% de todos os casos do defeito) quase sempre está associado a quadro clínico mais pronunciado, mas geralmente moderado e resulta de mutações dominantes que originam anomalias qualitativas da molécula da proteína VWF. Existem vários subtipos dessa variante: em alguns, a capacidade de transporte do fator VIII está preservada, mas a capacidade de produzir adesão entre as plaquetas está comprometida; em outros, acontece exatamente o contrário. No tipo III, de ocorrência excepcionalmente rara na população e com quadro clínico muito grave, correspondente a uma deficiência quantitativa extrema da proteína VWF (da ordem de 1% ou menos); os afetados são homocigotos ou heterocigotos compostos quanto às mesmas mutações que se apresentam em heterocigose nos tipos I e II. A possibilidade de homocigose é aqui explicada pela frequência muito alta de heterocigotos quanto ao gene da doença de von Willebrand na população geral (da ordem de 1% em populações da Europa do norte).

Aconselhamento genético

Se a mãe de um afetado por hemofilia A ou B for heterocigota, o risco de recorrência será de 25%. Caso contrário, o risco será praticamente nulo, pois o afetado resultou de mutação nova. São heterocigotas todas as filhas de homens hemofílicos e as mulheres com dois ou mais filhos afetados, ou com um filho e um parente colateral afetados. As mães de pacientes isolados são portadoras prováveis, que devem ser submetidas a teste de detecção de heterocigose, a fim de se estimar o risco de recorrência.

Na impossibilidade de serem realizados testes moleculares ou estudos de ligação para rastrear a transmissão do X, os resultados dos testes hematológicos de heterocigose (dosagem da atividade do fator de coagulação) feitos na mãe e em suas filhas são combinados, pelo método de Bayes, entre si e com os dados do heredograma para se determinar a probabilidade de heterocigose e, daí, o risco de recorrência.

Distrofias musculares progressivas

Distrofia muscular tipo Duchenne (MIM 310200)

Apresentação de um caso

O menino da Figura 18.4 tem 8 anos. Desde pequeno, tropeçava e caía, e isso foi se tornando mais frequente com o passar do tempo. Atualmente consegue andar, porém de maneira precária, na ponta dos pés (marcha digitigrada), por déficit motor. O exame físico revela atrofia muscular difusa, patente em membros inferiores, tórax e cintura escapular (omoplatas aladas). Nota-se, ainda, aumento do volume das panturrilhas e acentuada lordose lombar. O resultado da dosagem de creatinoquinase (CK) no soro estava 30 vezes maior em relação ao normal. O paciente teve um tio materno que faleceu com a mesma doença. Firmou-se o diagnóstico de distrofia muscular progressiva (DMP) tipo Duchenne (DMD).

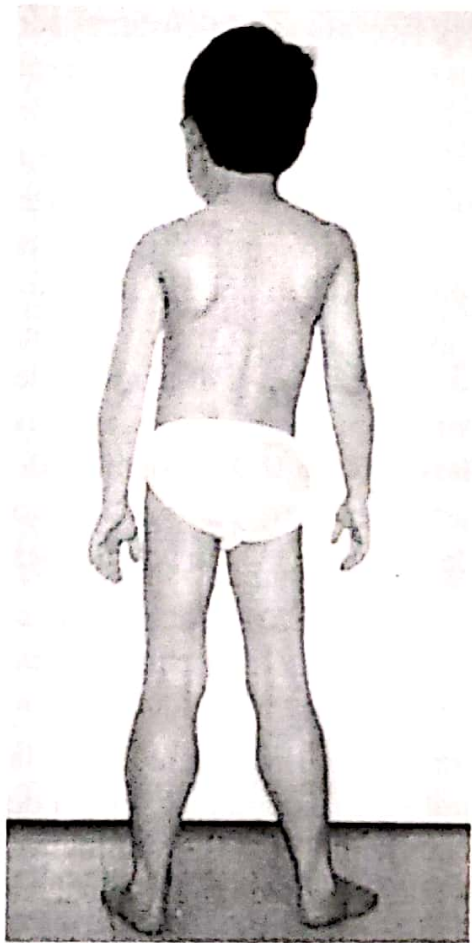


Figura 18.4 – Paciente com distrofia muscular tipo Duchenne (gentileza da Profa. Dra. Mayana Zatz, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo).

Aspectos clínicos

As distrofias musculares progressivas decorrem de lesão primária da fibra muscular. O tipo mais grave e mais comum é a distrofia muscular de Duchenne (DMD). Manifesta-se nos primeiros três a cinco anos de vida por andar desajeitado, equilíbrio precário, tendência à queda e dificuldade em correr e subir escadas. Já nessa época, as panturrilhas estão volumosas (pseudo-hipertrofia das panturrilhas), importante elemento de diagnóstico da doença, e que se deve, em parte, a edema e proliferação de tecido adiposo e conjuntivo. Posteriormente, instala-se hiperlordose lombar, resultante do comprometimento da musculatura dos glúteos e do tronco. Na DMD, o comprometimento muscular, que é rápido, progressivo e simétrico, inicia-se em membros inferiores e na cintura pélvica e atinge, em seguida, a cintura escapular e os membros superiores. Em fases intermediárias da doença, enquanto conseguem ainda deambular, os afetados, para se manterem em equilíbrio ao caminhar, aumentam sua base de sustentação e exageram os movimentos laterais da bacia, adotando a marcha anserina (ou de pato). Quando, mais tarde, os músculos de cintura pélvica, tórax e coluna vertebral são atingidos, os pacientes passam a apresentar o levantar miopático (manobra ou sinal de Gowers). Para se levantarem da posição de decúbito, executam uma série de manobras em que os membros superiores, ainda não comprometidos, desempenham parte ativa, tendendo a compensar a fraqueza

dos membros inferiores. Em estágios mais avançados da doença, sobrevêm achata-mento do tórax e atrofia muscular das partes proximais dos membros superiores. Contrações musculares e retrações fibrotendinosas instalam-se progressiva e rapida-mente, obrigando os afetados a andarem na ponta dos pés (equinismo). Por volta de 10 a 12 anos de idade, a doença já progrediu de tal modo que os indivíduos não podem mais andar, ficando no leito ou na cadeira de rodas. A morte sobrevém na segunda década, excepcionalmente na terceira, por comprometimento da musculatura respira-tória, aliado às deformidades de coluna vertebral e de tórax, que reduzem a ventilação pulmonar, precipitando infecções bacterianas recorrentes, principalmente bron-copneumonias, causa imediata de óbito mais frequente em DMD.

Descreve-se também, na criança, atraso do desenvolvimento motor. Metade dos afetados só consegue andar sem apoio após os 18 meses de idade. A musculatura car-díaca fica comprometida no final da doença, mas essa complicação não é séria, dada a inatividade física dos pacientes. Apenas 10% deles morrem de insuficiência cardíaca. Alguns têm retardo mental.

Não existe tratamento específico para a DMD, mas são fundamentais fisioterapia e terapia ocupacional para apoio psicológico aos afetados e suas famílias. Os pacientes se beneficiam de próteses ortopédicas que retardam o desenvolvimento das contraturas musculares e retrações fibrotendinosas dos membros inferiores, como também lhes permitem utilizar os grupos musculares proximais dos membros inferiores e da cintura pélvica ainda pouco comprometidos, prolongando, assim, seu período de deambulação útil. No início da década de 1980, observou-se, no Laboratório de Genética Humana (Zatz *et al.*, 1981, 1986), um afetado com DMD e nanismo hipofisário. Seu estado evoluía lentamente. Enquanto o paciente que tinha nanismo associado à DMD conse-guiu andar até os 19 anos, vários parentes também com DMD, embora mais jovens que o propósito, estavam em fase terminal ou já haviam falecido. Acertadamente, foi aven-tada a hipótese de que a falta de hormônio de crescimento (GH) estava diminuindo o ritmo de progressão da DMD nesse paciente. Posteriormente, foram descritos outros pacientes semelhantes, mas a relação entre a deficiência de GH e a redução do ritmo da evolução da DMD ainda é uma incógnita.

O diagnóstico da DMD baseia-se na evolução do quadro clínico e é confirmado por heredograma sugestivo de herança recessiva, ligada ao X. Quando o caso é iso-lado e está em fase inicial, dosa-se, no sangue, a enzima CK (creatinoquinase), que normalmente existe apenas nas fibras musculares, mas extravasa para a corrente circulatória à medida que as fibras musculares degeneram. Há níveis elevados dessa enzima, principalmente nas fases iniciais da doença, e já estão presentes, nos afeta-dos, desde o nascimento, muito antes de se instalarem os sinais clínicos. Com a progressão da doença, ocorre diminuição gradativa da musculatura esquelética e, como consequência, costuma-se observar um declínio acentuado desses níveis da enzima CK, que podem ser quase normais nos estágios finais. Essa enzima é muito importante para o diagnóstico diferencial entre DMD e outras miopatias, e níveis normais encontrados em um suspeito afastam definitivamente a hipótese de DMD. Exames relevantes para a confirmação do diagnóstico da DMD são a análise de DNA,

em busca de mutações do gene da proteína distrofina e o estudo da presença da proteína distrofina em biópsia muscular.

A DMD é a mais comum e grave das distrofias musculares progressivas. Sua incidência varia, em populações de origem predominantemente europeia, entre 1 afetado em 3.500 a 4.500 recém-nascidos de sexo masculino, mas sua prevalência na população geral é da ordem de apenas 3/100.000, o que reflete sua letalidade.

Aspectos genéticos

A Figura 18.5 ilustra a transmissão recessiva, ligada ao cromossomo X, da DMD. Os afetados são sempre do sexo masculino e ligam-se aos parentes afetados por intermédio de mulheres. Nesse heredograma, as mulheres I-2, II-1, II-2, II-3, III-2, IV-4, IV-6 e IV-8 são necessariamente portadoras heterozigotas da mutação.

A mulher IV-6, apesar de clinicamente normal, tem níveis elevados de CK. Cerca de 1/3 dos afetados por DMD resulta de mutação nova. Os 2/3 restantes são filhos de mulheres heterozigotas. Metade a dois terços das heterozigotas têm níveis elevados de CK, o que ocorre apenas em 5% das homozigotas para o alelo normal. A variação do teor dessas enzimas nas heterozigotas decorre de desvios aleatórios da taxa de inativação do cromossomo X portador do alelo patológico.

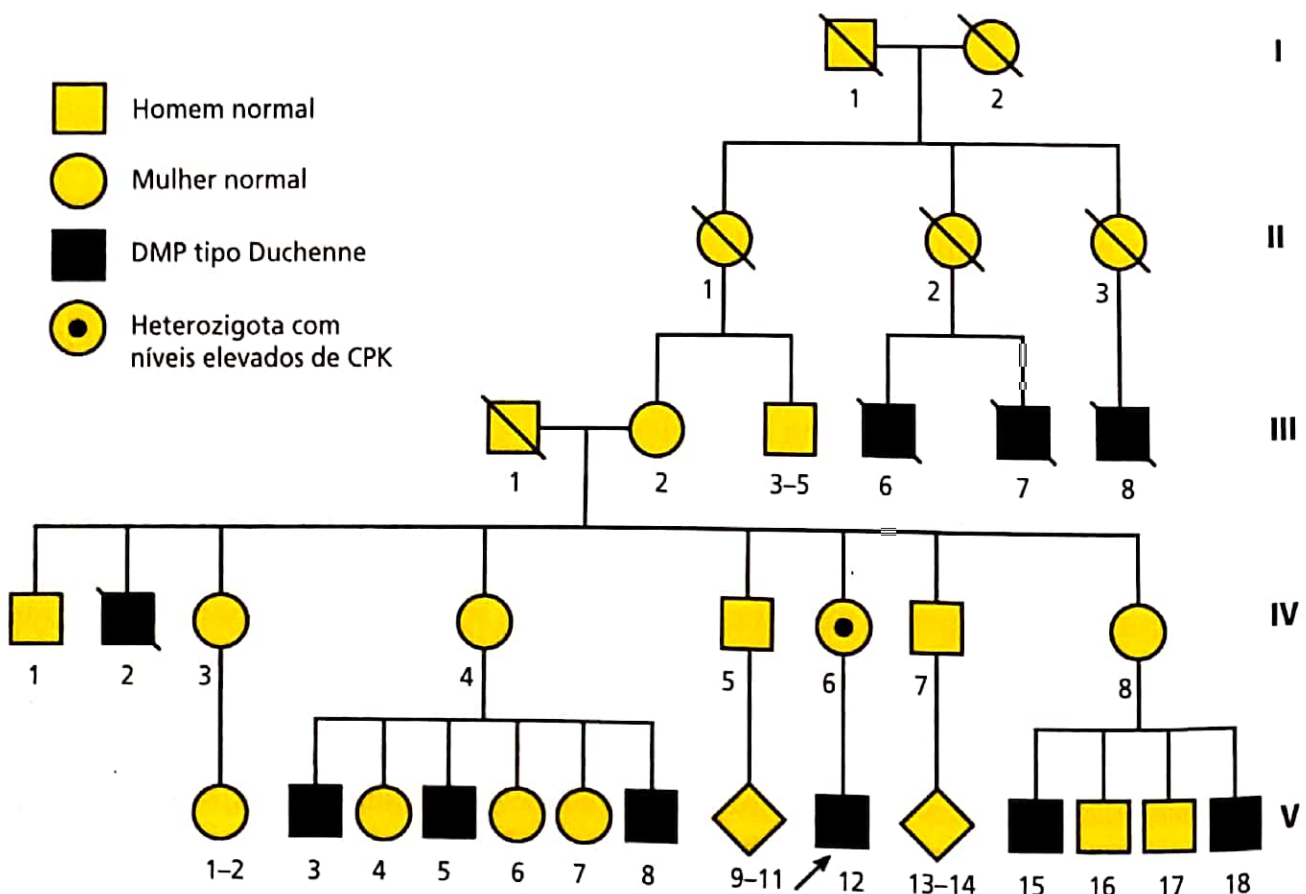


Figura 18.5 – Heredograma de uma família com vários casos de distrofia muscular tipo Duchenne (gentileza da Profa. Dra. Mayana Zatz, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo).

Aspectos moleculares

Muito raramente, surgem mulheres com quadro clínico típico de DMD. Em vários desses casos, observou-se que elas eram portadoras de translocação X/autossomo. Algumas dessas ocorrências foram estudadas no Laboratório de Genética Humana da USP (Zatz *et al.*, 1981). Em todas essas mulheres, o ponto de quebra no cromossomo X era o mesmo, e isso permitiu localizar o gene da DMD na região Xp21 (sua localização exata é Xp21.2-Xp21.1). Em 1987, o gene da DMD foi clonado, o que possibilitou estabelecer vários fatos interessantes, inclusive o seu tamanho gigantesco, estimado em aproximadamente 2.300 kb de DNA. Levando-se em conta essas dimensões, é fácil entender por que a taxa de mutação do gene da DMD foi estimada em cerca de 1/10.000, uma das mais altas já registradas na espécie humana. Após a identificação do loco gênico foi possível reconhecer o produto gênico do alelo normal da DMD, uma proteína encontrada normalmente na membrana da célula muscular, que recebeu o nome de distrofina e que tem peso molecular de aproximadamente 400 kDa. O gene é referido como *DMD*.

Bancos de dados confiáveis mostram que existem pelo menos 2.100 tipos diferentes de mutações, dentre as cerca de 2.400 já descritas. Desse total, cerca de 1.400 são grandes deleções, mais de 200 são grandes duplicações e quase 500 constituem rearranjos pequenos, dos quais cerca de 40% são mutações sem sentido (*nonsense*). Apesar dessa grande heterogeneidade de mutações, o defeito básico da DMD é a ausência de distrofina. Na distrofia tipo Becker (DMB), forma relativamente benigna alélica à DMD, 80% dos afetados apresentam deleções, cuja maioria corresponde a um número de nucleotídeos capaz de preservar o quadro de leitura dos códons, de tal modo que alguma quantidade de proteína funcional é produzida. Basicamente, as diferenças entre as distrofias de Duchenne e de Becker devem-se a que, na DMD, as mutações descritas (inserções e deleções) no DNA resultam em uma alteração grave do quadro de leitura dos códons do RNA mensageiro da distrofina (basta que essas duplicações e deleções comprometam um número de resíduos de nucleotídeos que não seja múltiplo de 3), com o aparecimento de códons de parada. Isso resulta na não produção da distrofina ou, então, na síntese de um produto proteico truncado não funcional (Figura 18.6).

Na DMB, por outro lado, as inserções e deleções de resíduos de nucleotídeos geralmente são múltiplas de três e não provocam alterações muito significativas no quadro geral de leitura do RNA mensageiro do gene, resultando em uma proteína que, apesar de defeituosa, mantém certo grau de capacidade funcional. De acordo com o defeito, o quadro clínico é muito variável, mas sempre mais benigno que o da DMD, levando à cadeira de rodas entre 16 e 60 anos de idade.

Diagnóstico diferencial

Conhecem-se mais de trinta formas de distrofias musculares progressivas (DMP). Em todas essas formas ocorrem fraqueza e degeneração muscular, porém elas diferem entre si quanto à idade de manifestação dos primeiros sinais e sintomas, velocidade de

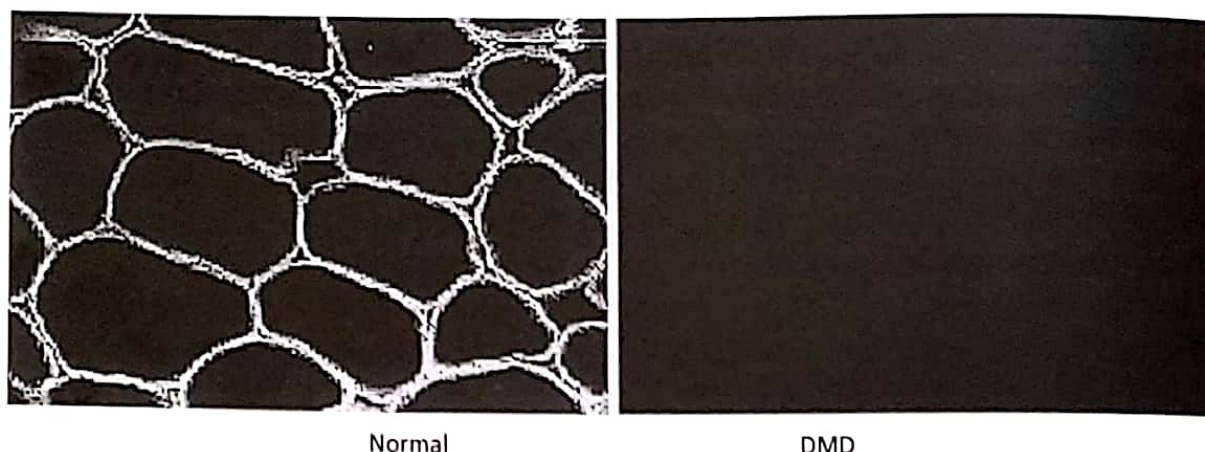


Figura 18.6 – Análise da distrofina por técnica de imunofluorescência: marcação da distrofina no sarcolema das fibras musculares normais e ausência de marcação em fibras musculares de paciente com distrofia tipo Duchenne (gentileza das Dras. Mayana Zatz e Mariz Vainzof, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo).

progressão, gravidade e localização preferencial das lesões, assim como quanto à presença de outros sinais (como miotonia, catarata, distúrbios na deglutição e fonação e hipogonadismo, típicos da distrofia de Steinert). São importantes para o diagnóstico de uma distrofia muscular progressiva: anamnese clínica e genética que, além de deixar clara a história natural da doença, pode ainda revelar outros afetados e evidenciar, eventualmente, o padrão de herança; exames clínico e neurológico; dosagem da enzima sérica creatinoquinase (CK), enzima normalmente existente na fibra muscular, mas que na maioria das distrofias musculares se encontra muito elevada no soro de afetados; análise de DNA; eletromiografia (EMG) e biópsia muscular, importantes porque permitem diferenciar as DMP de doenças musculares neurogênicas que podem ter quadro parecido, como é a amiotrofia espinhal juvenil (atrofia muscular hereditária de Kugelberg-Welander), condicionada por mecanismo autossômico recessivo. Neste caso, a eletromiografia não revela os potenciais diminuídos e de curta duração, característicos das distrofias miogênicas.

Os principais tipos de distrofias musculares progressivas hereditárias miogênicas, além da DMD, estão listados a seguir.

DMP tipo Becker (MIM 300376)

A incidência da DMB é 5 a 10 vezes menor que a da DMD (3 a 6 afetados em cada 100.000 nascimentos masculinos), com prevalência na população geral da ordem de 1/1.000.000. As mutações que levam ao quadro de DMB ocorrem também no gene *DMD*, da distrofina, em Xp21.2-Xp21.1 (existe um loco modificador mapeado em 12q21.31), ou seja, são alélicas das mutações que produzem o quadro de Duchenne. Os primeiros sinais da doença surgem mais tarde que na DMD. A idade de início varia em uma mesma família (5 a 15 anos). A evolução da DMB é mais lenta que a da DMD e muito variável. Os afetados sempre conseguem andar após os 16 anos de idade.

A longevidade média é superior a 40 anos. Os acometidos podem se reproduzir, ao contrário dos que têm DMD, e possuem um valor adaptativo de cerca de 70%. Portanto, o alelo da DMB pode ser transmitido à prole tanto por mulheres heterozigotas como por homens hemizigotos afetados. Estes têm filhos homens normais, porém todas as filhas são heterozigotas. Estima-se que somente 1/10 dos casos da doença resultem de mutações novas. A enzima CK também tem níveis elevados no soro de afetados e no de parte das heterozigotas certas. Como os grupos musculares atingidos e as complicações da doença são os mesmos da DMD, o diagnóstico diferencial entre as duas formas era problemático em casos isolados de início precoce. Com a análise de DNA e da distrofina, a distinção se tornou mais segura.

Além da DMD e da DMB, são também distrofias recessivas ligadas ao X a de Emery-Dreifuss (forma benigna de distrofia muscular com contraturas precoces), a miopatia escapuloperoneal descrita por Malry *et al.* e a síndrome de McLeod (associada à epilepsia e ao comprometimento do sistema nervoso central). Existe ainda uma forma de distrofia muscular de herança dominante ligada ao cromossomo X, limitada a mulheres. Listamos apenas as condições com as quais costuma ser feito o diagnóstico diferencial entre DMD e DMB.

DMP tipo fácio-escápulo-umeral (MIM 158900)

Mutações patogênicas no gene *FSHMD* em 4q35 são responsáveis por um quadro de deficiência motora dos músculos da face, cintura escapular e porção proximal dos membros superiores, em geral de instalação assimétrica e sem contraturas. A herança é autossômica dominante com penetrância quase completa e expressividade variável. A fraqueza muscular pode surgir na infância ou na fase adulta, geralmente na segunda década de vida. A evolução é lenta, com períodos estacionários. Cerca de 1/3 dos casos resultam de mutações novas. Apesar de rara (incidência ao redor de 1/250.000 nascimentos), é a forma de distrofia muscular progressiva mais frequente depois da DMD e DMB.

DMP tipo oculofaríngeo (MIM 164300)

Trata-se de uma forma extremamente rara de distrofia muscular, descrita apenas em isolados populacionais. É determinada por mutações patogênicas no gene *PABPN1* localizado em 14q11.2. Tem início tardio e evolução lenta. Também com herança autossômica dominante de expressividade variável, esta forma caracteriza-se por ptose palpebral e pelo comprometimento da musculatura ocular externa (oftalmoplegia) e faríngea (disfagia) e, frequentemente, da cintura escapular e membros superiores.

DMP tipo distal (MIM 604454)

Também conhecida pelo nome de miopatia distal de Welander, possui herança autossômica dominante e é causada por mutações em um gene mapeado em 2p13, mas ainda não identificado. Inicia-se, após a quarta década de vida, pelos segmentos distais

dos membros, com evolução tão lenta que parece não afetar a longevidade dos doentes. Existe outra DMP distal (miopatia de Miyoshi), autossômica recessiva, semelhante à miopatia de Welander, porém com idade de início mais baixa e evolução mais rápida, devida a mutações no gene *DYSF* que codifica a disferlina (localizado em 2p13.2, ou seja, nas proximidades do gene da miopatia de Welander que, apesar de mapear nessa região, não decorre de mutações no gene da disferlina). A condição é geneticamente heterogênea, já tendo sido identificados dois outros locos (um em 11p14.3, gene *ANOS* e outro em 10p, cujo gene ainda não foi identificado). Além destas formas (tardias), existe ainda uma distrofia muscular distal com início na infância.

Possuem o mesmo tipo de herança a miopatia escapulo-peroneal, uma distrofia muscular proximal de início tardio, uma ocular e a distrofia miotônica de Steinert, já citada anteriormente. Duas formas de distrofia tipo cinturas (descritas a seguir) também seguem padrão de herança autossômico dominante.

DMP tipo cinturas (MIM 159000 e outros)

Já foram descritas muitas formas distintas de DMD do tipo cinturas, pelo menos oito com herança autossômica dominante, e pelo menos 16 com herança autossômica recessiva. Ambos os sexos são afetados com igual frequência. Inicia-se pela cintura pélvica ou escapular e pode ser grave como a DMD, ou benigna e de evolução lenta.

As formas dominantes estão apresentadas em resumo na Tabela 18.1. Em uma das formas dominantes, determinada por gene localizado em 5q31 (gene *TTID*), o início é tardio (idade adulta) e os níveis de creatinoquinase estão elevados. Um outro conjunto de formas dominantes é conhecido como miopatias de Bethlem, determinadas por genes mapeados em 21q22.3 (genes *COL6A1* e *COL6A2*) e 2q37.3 (gene *COL6A3*). A variante determinada pelo gene localizado em 2q37 e com início na infância foi descrita em uma família franco-canadense.

Um resumo das formas recessivas com os respectivos genes identificados está na Tabela 18.2. Nas formas recessivas, a consanguinidade é frequente entre os pais dos afetados. Como nas formas dominantes, os níveis de CK estão elevados e existem

Tabela 18.1 – Formas autossômicas dominantes de distrofias musculares do tipo cinturas

Tipo	Localização cromossômica	Gene	MIM
LGMD1A	5q31	<i>TTID</i>	159000
LGMD1B	1q22	<i>LMNA</i>	159001
LGMD1C	3p25	<i>CAV3</i>	607801
LGMD1D	6q23	<i>CMD1F</i>	602067
LGMD1E	7q36	?	603511
LGMD1F	7q32	?	608423
LGMD1G	4q21	?	609115
LGMD1H	3p25-23	?	613530

Tabela 18.2 – Formas autossômicas recessivas de distrofias musculares do tipo cinturas

Tipo	Localização cromossômica	Gene	MIM
LGMD2A	15q15	<i>CAPN3</i>	253600
LGMD2B	2p13	<i>DYSF</i>	603009
LGMD2C	13q12	<i>SGCG</i>	253700
LGMD2D	17q12	<i>SGCA</i>	608099
LGMD2E	4q12	<i>SGCB</i>	604286
LGMD2F	5q33	<i>SGCD</i>	601287
LGMD2G	17q12	<i>TCAP</i>	601954
LGMD2H	9q31	<i>TRIM32</i>	254110
LGMD2I	19q13	<i>FKRP</i>	607155
LGMD2J	2q24	<i>TTN</i>	608807
LGMD2K	9q34	<i>POMT1</i>	609308
LGMD2L	11p14	<i>ANO5</i>	611307
LGMD2M	9q31	<i>FKTN</i>	611588
LGMD2N	14q24	<i>POMT2</i>	613158
LGMD2O	1p34	<i>POMGNT1</i>	613157
LGMD2Q	8q24	<i>PLEC1</i>	613723

formas graves, de instalação geralmente precoce e evolução rápida, como as determinadas por genes mapeados em 13q12 (gene *SGCG*), 17q21 (gene *SGCA*) e 4q12 (gene *SGCB*), dos tipos 2C, 2D e 2E, respectivamente. Outras têm idade de início muito variável, como as produzidas por genes já localizados em 15q (tipo 2A, gene *CAPN3*, que pode se instalar dos 3 aos 30 anos de idade), em 2p13 (tipo 2B, gene *DYSF*, que se inicia na adolescência ou idade adulta) e em 5q33 (tipo 2E, gene *SGCB*). O gene responsável por uma das formas recessivas, em 5q33, foi mapeado em 1996, no Brasil (Passos-Bueno *et al.*, 1996).

DMP tipo pseudo-Duchenne ou infantil (MIM 253700 e outros)

Distingue-se da DMD quase exclusivamente por ter herança autossômica recessiva e, portanto, por afetar também meninas. Existem pelo menos três variantes, mapeadas em 13q12 (também determinadas pelo gene *SGCG*), 17q12-21.33 e 4q12, todas relacionadas a defeitos estruturais em glicoproteínas (sarcoglicanos). Possuem herança recessiva a chamada miopatia dos quadríceps e uma forma congênita de distrofia muscular.

Modernamente, é incluída às distrofias musculares progressivas uma série de síndromes miopáticas, várias das quais com manifestações semelhantes às das distrofias tipo cinturas, com ou sem miastenia, associadas a outros defeitos e determinadas por mecanismo autossômico dominante ou recessivo.

Aconselhamento genético

Cerca de 1/3 dos casos de DMD resulta de mutações novas, em que o risco de recorrência é diminuto. Mas em 2/3 das ocorrências isoladas o propósito recebe a mutação de sua mãe e o risco de recorrência é, portanto, 25%. Para distinguir, dentre os casos isolados, os esporádicos (mutações novas) dos herdados, recorre-se à análise de DNA e aos níveis de CK na mãe e nas irmãs do propósito.

A maioria dos afetados por DMD possui uma deleção molecular no gene da distrofina. Portanto, o primeiro passo é verificar se o paciente tem uma deleção. Se positivo, analisa-se o DNA da mãe e de outras possíveis portadoras (irmãs, tias maternas, etc.) biologicamente aparentadas com o propósito. Se elas tiverem a mesma deleção, confirma-se que são heterozigotas e, por isso, com risco de 25% para futura prole. Não havendo a deleção, conclui-se que provavelmente se trate de uma mutação nova e, então, o risco de recorrência para a futura prole é baixo. Contudo, sabe-se que, em raros casos, a mãe do afetado pode ser um mosaico, isto é, não ter a deleção nas células sanguíneas, mas entre as células germinativas está presente a mutação e, assim, existe risco de recorrência significativo.

Se o afetado não tiver deleção detectada nos exames de DNA e as mulheres aparentadas com o probando tiverem níveis de CK normais, é importante distinguir entre DMD e outras formas autossômicas recessivas indistinguíveis clinicamente da distrofia de Duchenne, conhecidas pelo nome de “pseudo-Duchenne”. Para tanto, recorre-se à análise de distrofina no músculo. Se esta estiver ausente, firma-se o diagnóstico de DMD e, se presente, de “pseudo-Duchenne”. Em DMD, se a mãe e/ou irmãs tiverem níveis elevados de CK, sabe-se que o caso foi herdado. Entretanto, se os níveis forem normais, é difícil saber se a mãe é portadora ou não da mutação, pois, na prática, hoje, a triagem completa de mutações de ponto é ainda muito difícil, tendo em vista o tamanho gigantesco do gene.

Por outro lado, se o probando tiver uma das formas “pseudo-Duchenne”, com herança autossômica recessiva, o risco de que outra criança que o casal venha a ter seja afetada é 25%, independentemente do sexo. Ao contrário da DMD, no entanto, as irmãs do propósito têm risco desprezível de, vindo a ter uma criança, esta ser afetada, desde que não se casem com consanguíneos.

Os resultados bioquímicos (níveis de CK) podem ser combinados com os do heredograma (número de irmãos normais do propósito, por exemplo) pelo método estatístico de Bayes, que fornece a probabilidade global de heterozigose da mãe do propósito. Quando não existem outros irmãos e não há condições de determinação dos níveis da enzima, o risco de repetição da doença em um futuro irmão do afetado isolado é $R = 1/3 \times 0 + 2/3 \times 1/4 = 1/6$ ou, aproximadamente, 17%.

R. Levisky e M. Zatz (comunicação pessoal) formularam as seguintes regras práticas, de grande utilidade para o aconselhamento genético, em situações nas quais não se dispõe de exames moleculares, pois eliminam, muitas vezes, a necessidade de fazer cálculos:

- Mãe de dois ou mais afetados possui risco alto, na prática igual a 100%, de ser heterozigota, qualquer que seja o resultado da dosagem de CK (nesta situação, não é necessária a dosagem).

- Mãe de um afetado, que tenha um irmão ou outro colateral pelo ramo materno também afetado, tem a mesma chance de heterozigose do item anterior.
- Mãe com nível de CK normal e com apenas um filho afetado (caso isolado da doença na família) e uma filha com nível de CK elevado tem risco alto de ser heterozigota.
- Mãe de caso isolado de DMD que tenha um segundo filho com idade inferior à da manifestação da doença, porém com nível elevado de CK, tem risco alto de ser heterozigota.
- Em mães de um só afetado (caso isolado na família) sempre é necessário fazer a dosagem de CK, pois desta dependerá a estimativa do risco para uma segunda criança.
- Sempre é conveniente dosar CK em irmãs e tias de um ou mais afetados, para se estimar o risco de serem heterozigotas.

Outras doenças ligadas ao cromossomo X

Displasia ectodérmica hipo ou anidrótica ligada ao X ou síndrome de Christ-Siemens-Touraine (MIM 305100)

Existem mais de 150 síndromes hereditárias (autossômicas dominantes ou recessivas e ligadas ao X) que apresentam displasia ectodérmica, termo usado para designar defeitos de natureza morfogenética em estruturas de origem ectodérmica (cabelos, pelos, pele, unhas e dentes). Nas formas ligadas ao cromossomo X, os afetados hemizigotos costumam ser muito mais acometidos do que as mulheres heterozigotas, que exibem o defeito com expressividade muito variável (desde casos leves até muito graves).

A forma descrita a seguir é a forma clássica de displasia ectodérmica ligada ao X, determinada por mutações patogênicas no gene *EDA* (já chamado também de *ED1* ou *EDA1*) em Xq13.1, responsável pela codificação da proteína ectodisplasina. A grande maioria dos casos de displasia ectodérmica correspondem a essa forma, que ocorre com frequência populacional baixa, da ordem de 1/10.000 ou menos. Os afetados costumam manifestar hipoplasia e hipopigmentação da pele; cabelos finos, secos, escassos e claros; ponte nasal baixa, com nariz pequeno; fronte ampla e cristas supra-orbitais e lábios proeminentes; dentes em pequeno número (hipodontia) ou ausentes. As glândulas sudoríparas são hipoplásicas ou ausentes, defeito responsável pela incapacidade de produzir suor. Os pacientes, não podendo regular a temperatura do corpo pela sudorese, ficam sujeitos à hipertermia, que pode induzir retardo mental. Faringe, laringe, traqueia, brônquios e porção superior do esôfago não apresentam glândulas mucosas, o que acarreta dificuldade respiratória e infecções pulmonares. Eczema é frequente e, ocasionalmente, há distrofia das unhas, hipoplasia das glândulas mamárias e ausência de lágrimas. O tratamento consiste na prevenção de infecções por meio de vacinações, uso de próteses dentárias, limitação dos exercícios, banhos frios para debelar crises de hipertermia. Os pacientes são aconselhados a morar em lugares de clima mais frio ou temperado. O diagnóstico baseia-se na associação entre hipo-hidrose, hipodontia e hipotricose.

As mulheres heterozigotas não são muito afetadas, às vezes, apresentando hipodontia; mas grande parte delas tem redução do número de poros sudoríparos. Essas áreas onde faltam as glândulas sudoríparas podem ser evidenciadas por meio de testes simples de estimulação da sudorese.

Mutações no gene *EDA* produzem também uma condição descrita em pacientes asiáticos e caracterizada apenas por agenesia dentária ou hipodontia. Existe ainda uma forma muito rara de displasia ectodérmica ligada ao X associada à imunodeficiência, determinada por mutações patogênicas em outro gene (*IKBKF* ou *NEMO*), localizado em Xq28. Como já indicado, existem pelo menos 150 condições síndromicas hereditárias com displasia ectodérmica, algumas das quais, apesar de raras quando comparadas com a forma aqui descrita, são bastante semelhantes à síndrome de Christ-Siemens-Touraine. Por isso, o diagnóstico diferencial desse conjunto de doenças é, de certa maneira, complicado e trabalhoso, mas importante para que seja feito um aconselhamento genético adequado.

Incontinentia pigmenti, IP, incontinência pigmentar ou síndrome de Bloch-Sulzberger (MIM 308300)

Trata-se de um distúrbio da pigmentação da pele, geralmente associado a anomalias dos dentes e a defeitos esqueléticos, cardíacos, oculares (fibroplasia retroental) e cerebrais (convulsões e retardo mental). Surgem zonas hiperpigmentadas, formando padrões bizarros em tronco, membros e couro cabeludo, às vezes acompanhadas de alopecia. Os sinais surgem ao nascimento ou logo depois. O defeito é determinado por mutações patogênicas no gene chamado de *IKBKG* ou *NEMO*, em Xq28. Esta condição é conhecida como IP2 ou forma clássica de IP. Havia uma outra forma, em geral esporádica (IP1), que foi mapeada em Xp11 (hipomelanose de Ito). No entanto, modernamente, sugere-se que a hipomelanose de Ito represente apenas a manifestação de muitos tipos diferentes de mosaicismos cromossômico, estando associada a translocações X/autossomo, comprometendo a região p11; por isso, o termo IP1 não deve ser aplicado a esses casos, uma vez que se trata de condição distinta da IP.

A herança da *incontinentia pigmenti* é dominante ligada ao cromossomo X, quase sempre com letalidade pré-natal dos hemizigotos. Já foi descrito um caso de afetado masculino com forma hemizigota gravíssima da doença, que apresentava, além das lesões pigmentares, hemangiomas capilares, linfedema, imunodeficiência muito grave e osteopetrose. Ele foi a óbito com 2 anos e 7 meses de idade, apesar do acompanhamento médico-hospitalar excelente.

O defeito pigmentar das afetadas evidencia-se por ocasião do nascimento ou, então, se exterioriza sob a forma de inflamação generalizada da pele. Em pacientes com o defeito desenvolvido sob forma conspícua e plena, o padrão de pigmentação é extremamente bizarro, lembrando a textura de certos mármore. O fenótipo das afetadas é variável, como é de se esperar dada a inativação ao acaso de um dos cromossomos X. No entanto, muitas dessas mulheres afetadas têm desvio completo da inativação do cromossomo X quando são estudadas células do sangue. Isso levou alguns autores a postular em que as lesões decorreriam da eliminação das células que exibiam inicialmente o cromossomo X com a mutação ativo, as quais acabaram morrendo e foram, em seguida, substituídas por células com o cromossomo X com alelo normal ativo.

Raquitismo hipofosfatêmico resistente à vitamina D ou hipofosfatemia ligada ao cromossomo X (MIM 307800)

O defeito, de ocorrência rara na população (da ordem de 1/20.000 ou menos), possui herança claramente dominante ligada ao cromossomo X. Deve-se a mutações patogênicas no gene *PHEX* em Xp22.11, responsável pela síntese de um regulador de fosfato com homologia às endopeptidases. Essas endopeptidases ativam ou inativam diversos hormônios proteicos. Além de uma forma (HHRH) de raquitismo hipofosfatêmico hereditário com hipercalciúria, existem formas autossômicas dominantes e recessivas semelhantes à variante ligada ao X, de ocorrência extremamente rara na população. A forma aqui descrita é responsável por mais de 80% de todos os casos existentes do defeito. Surge nos primeiros dois anos de vida, com quadro clínico que inclui, em pacientes não tratados precocemente com doses maciças de vitamina D, fosfato inorgânico e irradiação UV, fragilidade e dores ósseas, atraso de crescimento e instalação rápida de um tipo de nanismo caracterizado por cabeça, pescoço e tronco de tamanhos normais, associados a membros curtos, deformados e com limitação de movimentos por comprometimento das grandes articulações (deformidades típicas de raquitismo). O diagnóstico é feito com a determinação de níveis baixos de fosfato inorgânico no soro ou no plasma e a falta de resposta terapêutica a doses de vitamina D suficientes para eliminar os sinais clínicos de raquitismo clássico, por deficiência dessa vitamina. Apesar dos avanços recentes na área da biologia molecular, o defeito básico ainda não é conhecido.

Há indicações de que a diminuição ou ausência de atividade da proteína reguladora *PHEX*, alterada na doença, redunde na falta de controle sobre substâncias responsáveis pelo controle da reabsorção de fosfatos no nível dos túbulos renais. Normalmente, os níveis de fosfatemia são mantidos pela reabsorção de cerca de 80% do total de fosfato filtrado pelos glomérulos. Intervêm nesse processo de reabsorção o hormônio da paratireoide (inibição) e a vitamina D (estimulação). Há indicações de que o produto do gene *PHEX* íntegro regule a atividade de uma proteína (FGF23 ou fator 23 do crescimento de fibroblastos) com funções endócrinas que normalmente participa da inibição da reabsorção de fosfato. Com a atividade aumentada devido à falência do produto do gene *PHEX*, a proteína FGF23 tem níveis elevados e isso redunde na inibição de transportadores de fosfato e conseqüente redução drástica da capacidade de reabsorção de fosfato pelos rins, levando à hipofosfatemia e desmineralização óssea, responsável pelo quadro esquelético (deformidades em crianças e osteomalacia em adultos). Curiosamente, os níveis de fosfato são igualmente baixos em afetados de ambos os sexos, mas a doença manifesta-se invariavelmente por lesões mais graves em homens hemizigotos afetados do que nas mulheres heterozigotas portadoras do gene mutado. Esse fato e a maior variação, observada nelas, da intensidade das manifestações, são interpretados como conseqüências da inativação de um dos cromossomos X. Como o alelo que causa doença é dominante e está localizado no cromossomo X, os homens afetados nunca têm filhos afetados, somente filhas heterozigotas. As mulheres heterozigotas, todavia, têm, em média, metade da prole de ambos os sexos afetada. O tratamento, como mencionado anteriormente, é feito com

base na suplementação de vitamina D e fosfatos em doses altas (apesar de a terapêutica conferir aos pacientes risco quase certo de complicações graves, como nefrocalcinose e hiperparatireoidismo). Os defeitos ósseos, se instalados, são corrigidos com órteses ou cirurgicamente.

Síndrome de Rett (MIM 312750)

A síndrome de Rett (SR) é uma grave encefalopatia progressiva, restrita ao sexo feminino. As meninas afetadas têm desenvolvimento normal até idade que varia de 6 a 18 meses e, então, gradualmente vão perdendo suas habilidades motoras e cognitivas e sua capacidade de comunicação. Também há desaceleração do crescimento craniano/cerebral e o aparecimento de movimentos estereotipados de mãos (como lavar, torcer ou aplaudir), ataxia, comportamento autista e outras disfunções neurológicas.

A doença tem frequência estimada entre 1/10.000 e 1/15.000 nascimentos femininos. A maioria dos casos são esporádicos, porém a concordância entre pares de gêmeas monozigóticas é muito alta (da ordem de 90%), ao contrário do que se observa praticamente em todos os pares de gêmeas dizigóticas estudados na literatura. Foram levantadas inúmeras hipóteses sobre a causa da síndrome, tendo-se sugerido inclusive, tão logo causas ambientais foram descartadas, que a síndrome poderia ser provocada por um alelo mutado dominante ligado ao X, letal em hemizigose. Essa hipótese foi confirmada no final da década de 1990, quando se concluiu que o loco da SR deveria estar na região Xq28; logo após foram identificadas mutações patogênicas nessa localização, mais especificamente no gene *MECP2*, responsável pela codificação da proteína *metil-CpG-binding protein 2* (MeCP2). Essa é uma das proteínas que se ligam especificamente ao DNA quando as bases citosinas estão metiladas, reprimindo a sua transcrição. A metilação das bases citosina do DNA é reconhecida por proteínas que reconhecem DNA metilado (MeCPs) que, por sua vez, recrutam outras proteínas que conduzem a aumento do grau de compactação da cromatina, reprimindo a transcrição de vários genes.

A natureza das mutações patogênicas identificadas nesse loco indica que elas resultam em perda total ou parcial da função da proteína, com consequente diminuição da repressão da transcrição de alguns genes. A SR é, portanto, uma doença genética causada por defeitos em uma proteína envolvida com a metilação do DNA e, por consequência, com processos de silenciamento da expressão gênica, incluindo os que ocorrem normalmente por ocasião da inativação do cromossomo X.

Aparentemente letal em hemizigose, a doença foi, no entanto, descrita em afetados masculinos portadores de cariótipo 47,XXY (Schwartzman *et al.*, 1999) ou 46,XX, e em portadores de mosaïcismo somático em que as células da linhagem minoritária possuíam mutações no gene *MECP2* em Xq28. Em alguns raros casos foram também descritos homens com encefalopatia muito grave e anormalidades neurológicas portadores de mutações no gene *MECP2*, mas nesse caso as mutações resultavam em perda parcial da função da proteína.

Algumas mutações em *MECP2* também foram descritas em crianças descritas como afetadas pela síndrome de Angelman sem alterações moleculares ou citogenéticas no loco 15q11-q13, características dessa síndrome, indicando uma certa sobreposição

entre as manifestações fenotípicas dessas duas síndromes. Foram ainda descritos quadros semelhantes aos da síndrome de Rett: a encefalopatia epilética infantil (EEE2), produzida por mutações no gene *CDKL5* em Xp23.13, e uma variante congênita causada por mutações dominantes em heterozigose no gene *FOXP1* em 14q13, responsável pela síntese de um repressor de transcrição.

Como nem todas as afetadas por síndrome de Rett apresentam mutação no gene *MECP2* em Xq28, foram definidos os sinais e sintomas cardinais que orientam o diagnóstico clínico da síndrome. São eles a regressão acompanhada de recuperação/estabilização limitada, perda de habilidades manuais intencionais e de linguagem falada, anomalias posturais e movimentos estereotipados das mãos.

Tendo em vista que a grande maioria dos casos é isolada, o risco de repetição de síndrome de Rett na irmandade de uma menina afetada é baixo, embora existam raríssimas situações em que a mutação foi herdada da mãe levemente afetada ou não afetada, em virtude de um padrão favorável de inativação do cromossomo X contendo a mutação em *MECP2*. Na maioria das vezes, no entanto, os pais não são portadores de mutação em *MECP2* e o risco de repetição é baixo, embora discretamente maior em relação ao da população normal, por causa da possibilidade da existência de mosaicismo gonadal.

Síndrome do cromossomo X frágil ou síndrome de Martin-Bell (MIM 300624)

A síndrome do cromossomo X frágil (Figura 18.7) é a segunda causa genética mais importante de deficiência mental, após a síndrome de Down. Sua incidência foi estimada entre valores que variam de 1 a cada 4.000 a 6.000 homens e ao redor de 1 a cada 8.000 a 9.000 mulheres. Estudos citogenéticos e moleculares de amostras de retardados mentais de escolas ou instituições indicaram que a síndrome está presente entre 1 e 5% dos meninos afetados. Em amostras selecionadas por história familiar, presença de macrorquidia (aumento do volume dos testículos) ou pelo retardo mental de causa desconhecida, esta porcentagem é ainda mais elevada. Esses dados indicam que é altamente recomendável o estudo molecular de indivíduos com retardo mental de causa desconhecida, pois a pesquisa da mutação da síndrome do cromossomo X frágil pode vir a revelar famílias com alto risco de repetição do quadro em parentes dos afetados.

As características clínicas mais importantes dos homens afetados pela síndrome do X frágil são retardo mental e macrorquidia. O grau de retardo mental é extremamente variável, desde afetados com retardo mental profundo até mesmo aqueles com inteligência limítrofe, mas o retardo mental grave parece ser o mais frequente. Entre as mulheres que exibem o quadro da síndrome, em geral o comprometimento intelectual é menos grave do que o apresentado pelos homens afetados, se manifestando como retardo leve ou quadro de inteligência limítrofe.

Apesar de ser uma manifestação clínica frequente, a macrorquidia não está presente em todos os afetados. Cerca de 80% dos indivíduos adultos exibem essa característica, mas entre crianças e adolescentes, ela é menos frequente (25 e 50%, respectivamente). A macrorquidia aparentemente não resulta de alterações endócrinas (os níveis hormonais



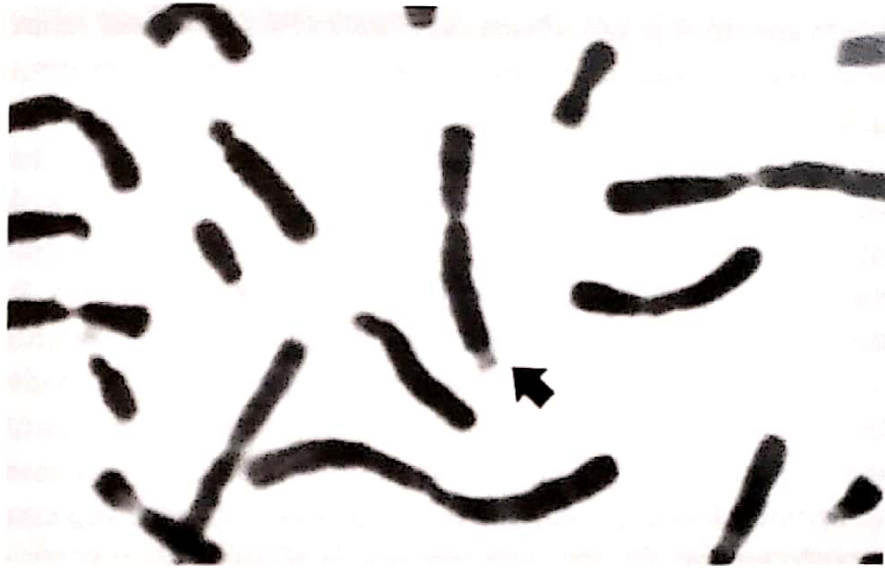
Figura 18.7 – Pacientes com a síndrome do X frágil (Mingroni Netto, 1995).

são normais) e, sim, é consequência do aumento do espaço entre os túbulos seminíferos, devido a edema intersticial.

Outras características clínicas podem estar presentes nos afetados: face alongada e estreita; frontal alto e proeminente; cristas supraorbitais proeminentes; orelhas grandes e em abano; palato alto; queixo proeminente; hipoplasia da porção média da face; perímetro cefálico aumentado e displasia do tecido conjuntivo (hipoplasia da cartilagem auricular, hiperextensibilidade das articulações, pele elástica, prolapso de válvula mitral e dilatação do arco aórtico).

A síndrome do X frágil recebeu tal denominação porque o cromossomo X dos afetados apresenta um sítio frágil (FRAXA) na extremidade distal do braço longo (Figura 18.8) em uma proporção das células estudadas.

Os sítios frágeis são falhas cromossômicas, ou cromatídicas, que surgem sempre no mesmo ponto do cromossomo, como falha de sua coloração, em um mesmo indivíduo ou família. Existem vários sítios frágeis descritos, porém os únicos claramente associados à doença foram os sítios frágeis do cromossomo X. Uma característica geral dos sítios frágeis é o fato de não serem visualizados em todas as células de indivíduos portadores e de dependerem de manipulação do meio de cultura para se manifestar. O X frágil, por exemplo, é folato-sensível e a frequência de células que o manifestam varia de 4 a 50% das células estudadas em homens afetados. De modo geral, é possível diagnosticar os homens afetados pelo estudo cromossômico, mas esse diagnóstico pode falhar se não forem obedecidas rigorosas condições de cultura de células para maximizar a probabilidade de detecção do sítio frágil. Devem ser estudadas, pelo menos, 100 células em meios de cultura específicos para tal propósito. O estudo citogenético de mulheres afetadas é ainda mais dificultado pelas baixas



978-85-4120-161-2

Figura 18.8 – Cromossomo X frágil (gentileza da Dra. Angela Maria Vianna Morgante, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo).

frequências de fra(X) que podem apresentar ou, então, pela total ausência de manifestação do sítio frágil em algumas delas. Atualmente, as técnicas moleculares de detecção da mutação da síndrome do X frágil são as preferidas, pois consomem menos tempo do que o estudo cromossômico e são muito mais eficazes.

Expansão de trinucleotídeos e a herança peculiar da síndrome

Embora mostre um padrão típico de herança ligada ao cromossomo X, desde a primeira família descrita em 1943, notaram-se, nas genealogias com a síndrome, homens intelectualmente normais que transmitiram a mutação aos seus descendentes. Muitas outras famílias com o mesmo fenômeno foram descritas, indicando que o gene alterado tem penetrância incompleta no sexo masculino. De fato, estudos de segregação da mutação revelam penetrância de 80% no sexo masculino.

A alta frequência de manifestação do retardo mental entre as mulheres heterozigotas (cerca de 35% delas) indica que a síndrome do X frágil não pode ser considerada uma característica recessiva, mas sim dominante de penetrância incompleta (ao redor de 80%), cuja manifestação em mulheres deve depender também do processo de inativação de um dos cromossomos X. A penetrância do retardo mental entre as filhas dos homens transmissores normais é praticamente zero. Entre as filhas de heterozigotas normais, essa penetrância fica ao redor de 35%. Já na prole de heterozigotas afetadas, a penetrância do alelo mutado é de 100%, no sexo masculino e de aproximadamente 50%, no feminino.

Essas características genéticas incomuns, difíceis de serem explicadas por padrões mendelianos convencionais de herança, atraíram a atenção dos pesquisadores e muitas foram as especulações para tentar explicar as peculiaridades da herança, que só foram compreendidas após a caracterização molecular da mutação que causa a síndrome.

O gene da síndrome do X frágil, chamado *FMRI* (*FRA*X mental retardation 1), tem 38 kb de comprimento e possui 17 éxons. Na região 5', o gene exibe uma repetição de trinucleotídeos (CGG) que é transcrita no RNA mensageiro correspondente, mas não é traduzida no polipeptídeo. As mutações que podem levar à síndrome do cromossomo X frágil correspondem a expansões anormais dessas repetições de trinucleotídeos. Nas pessoas normais, esses trinucleotídeos se repetem 6 a 50 vezes; nas pessoas afetadas pela síndrome do X frágil, as trincas se repetem mais de 200 vezes (podendo chegar a milhares de vezes); nos portadores assintomáticos da mutação, os trinucleotídeos se repetem entre 50 e 200 vezes. As pessoas normais portadoras de expansões repetidas de 50 a 200 vezes são chamadas de portadoras da pré-mutação e geralmente não exibem o quadro clínico da síndrome. Indivíduos possuidores de expansões grandes, com mais de 200 trincas, são portadores da chamada de mutação completa e são esses que podem manifestar o retardo mental.

A partir de alelos do gene *FMRI* com número normal de repetições e dos alelos com a pré-mutação é transcrito RNAm funcional. Nos indivíduos afetados, isto é, com a mutação completa, este RNAm não é detectado. No início de vários genes (inclusive do *FMRI*) existe uma alta concentração relativa de dinucleotídeos CG e a essas regiões se dá o nome de Ilha CpG. Em mulheres normais, os genes que estão ativos no cromossomo X ativo apresentam essa sequência rica em CG (Ilha CpG) desmetilada e no cromossomo X inativo os genes inativos têm essa sequência metilada. No cromossomo X dos homens normais, sempre ativo, as Ilhas CpG estão desmetiladas. No gene *FMRI* com a mutação completa, entretanto, a ilha CpG fica anormalmente metilada (mesmo no cromossomo X ativo), tornando o gene incapaz de transcrever. Desse modo, não há produção da proteína correspondente ao gene *FMRI*.

A proteína codificada pelo gene *FMRI* já foi identificada e se chama FMRP, mas sua função exata ainda não é completamente conhecida. Por tal motivo não se sabe por que sua ausência resulta na síndrome do X frágil. Existem indícios de que o produto do gene seja uma proteína reguladora da tradução de vários tipos de RNAm e que ele possa interagir com esses RNA, com possível papel no seu processamento, transporte e, possivelmente, na regulação de algumas etapas da sua tradução. A função de repressor da tradução do RNAm é a mais bem conhecida no momento.

A clonagem do gene *FMRI*, em 1991 e o conhecimento da alteração (número de repetições de trinucleotídeos CGG) tornaram possível, pela análise do DNA, a identificação dos portadores da pré-mutação com fenótipo normal dos portadores da mutação completa e também o diagnóstico pré-natal dos fetos que têm a mutação completa.

As filhas de homens portadores da pré-mutação recebem o gene praticamente inalterado e não manifestam retardo mental. Mas quando a mulher é a portadora da pré-mutação, esta pode ser transmitida aos descendentes, com aumento no número de repetições do trinucleotídeo CGG. Portanto, a mulher portadora pode ter crianças com a pré-mutação, em geral maior do que a sua própria pré-mutação, ou com a mutação completa. Como as trincas têm tendência a se expandir cada vez mais, quanto maior for o número de repetições da portadora, maior é o risco de ela vir a ter criança afetada. Quando a mulher é portadora de mutação completa, os filhos de sexo masculino que receberem a mutação receberão sempre uma mutação completa e serão sempre

afetados. Entre as mulheres portadoras que recebem a mutação completa, cerca 50% serão afetadas pelo retardo mental, provavelmente devido à inativação do X.

Além disso, em uma mesma família, as expansões das pré-mutações tendem a crescer à medida que são transmitidas pelas mulheres de geração para geração, ou seja, as mulheres de gerações mais recentes têm risco maior de vir a ter crianças afetadas.

Embora classicamente os portadores da pré-mutação tenham sido classificados como assintomáticos, observou-se nesses indivíduos incidência maior de certos fenótipos, quando comparados com a população em geral. As mulheres portadoras da pré-mutação têm maior probabilidade de apresentar menopausa precoce, ou seja, antes dos 40 anos de idade. Em um importante estudo que resultou de um consórcio colaborativo internacional, ficou caracterizado que cerca de 16% das mulheres com a pré-mutação manifestam menopausa precoce. Percebeu-se ainda, entre os portadores da pré-mutação com idade acima de 50 anos, a instalação de alguns sintomas neurológicos, como marcha atáxica, tremor intencional e declínio cognitivo. A esse conjunto de manifestações fenotípicas deu-se o nome de FXTAS (*fragile X-associated tremor/ataxia syndrome*) e se estima que podem ocorrer em cerca de 20 a 30% dos homens com a pré-mutação.

Como os indivíduos com a pré-mutação são capazes de transcrever RNAm e produzir a proteína FMRP, deduz-se que esses sintomas não devem ser devidos à falta da proteína, mas talvez decorram da produção de RNAm anormal, com repetições expandidas. Atualmente, aventam-se modelos baseados na toxicidade do RNA mensageiro anormal e na sua capacidade de sequestrar anormalmente fatores relacionados ao processamento de outros RNA para explicar os quadros clínicos de indivíduos com pré-mutação.