

EDUARDO LUIS DE AQUINO NEVES

**Investigação clínica, neurofisiológica e genética
da doença de Charcot-Marie-Tooth tipo 2 de
herança dominante**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de: Neurologia
Orientador: Prof. Dr. Fernando Kok

São Paulo
2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Neves, Eduardo Luis de Aquino

Investigação clínica, neurofisiológica e genética de doença de Charcot-Marie-Tooth tipo 2 de herança dominante / Eduardo Luis de Aquino Neves. -- São Paulo, 2011.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Neurologia.

Orientador: Fernando Kok.

Descritores: 1.Doença de Charcot-Marie-Tooth 2.Piramidal 3.Eletromiografia

USP/FM/DBD-045/11

Dedicatória

A Carla, minha esposa, companheira e colega,
que desde o início esteve comigo nesta
caminhada.

A meu querido filho, Felipe, que sempre me
inspirou e esteve ao meu lado
incondicionalmente.

A meus pais Ruy e Silvia, que sempre me
inspiraram e estimularam minha jornada.

Agradecimento

Ao Dr. Fernando Kok pela sua dedicação, disposição e confiança demonstradas durante minha jornada. Sempre colocando seus conhecimentos e sua objetividade à disposição, foi de fundamental importância na minha orientação científica.

Agradecimentos

Ao Dr. José Augusto Barreto Filho e Dr. Carlos Frederico Souza Lima, que souberam me dar o incentivo tão necessário no início deste projeto.

Ao Dr. Roberto Cesar pelo exemplo a ser seguido.

Ao Dr. Ozir Scarante por despertar o gosto pela investigação científica.

A meus sogros Roberto e Marilene pela confiança e estímulo sempre renovados.

A Jô pela sua ajuda indispensável na realização deste projeto.

A minha colaboradora Neide pelo apoio.

SUMÁRIO

Listas

Resumo

Summary

1.	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Manifestações clínicas da doença de CMT.....	6
1.2	Alterações neurofisiológicas - Eletroneuromiográficas.....	11
1.3	Classificação da doença Charcot-Marie-Tooth.....	14
1.4	Padrões de transmissão.....	15
1.5	Alterações genético-moleculares da CMT.....	15
1.5.1	Correlação clínico-genética.....	19
2.	OBJETIVOS.....	23
3.	CASUÍSTICA E METODOLOGIA.....	25
3.1	Casuística.....	26
3.1.1	População estudada.....	26
3.2	Métodos.....	27
3.2.1	Avaliação clínica.....	27
3.2.2	Avaliação eletroneuromiográfica.....	28
3.2.3	Aplicação escore CMTNS.....	30
3.2.4	Estudo genético-molecular.....	31
3.2.5	Critérios diagnóstico de CMT.....	31
3.2.6	Locais em que foram realizadas as investigações.....	32
4.	RESULTADOS.....	33

4.1	Avaliação clínica.....	34
4.2	Padrão de transmissão.....	41
4.3	Investigação neurofisiológica: eletroneuromiográfica.....	41
4.4	Aplicação do escore CMTNS.....	44
4.5	Avaliação genético-molecular: estudo de ligação.....	47
5.	DISCUSSÃO.....	48
6.	CONCLUSÕES.....	58
7.	ANEXOS.....	60
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
9.	Apêndice	

LISTA DE ABREVIATURAS:

AD	Autossômico dominante.
AR	Autossômico recessivo.
CMAP	Potencial de ação muscular composto.
CMT	Charcot-Marie-Tooth
CMTNS	Escore neuropatia Charcot-Marie-Tooth.
CMTX	Charcot-Marie-Tooth ligado ao cromossomo X.
ENMG	Eletroneuromiografia.
GARS	Gene glicil-tRNA sintetase
GDAP1	Gene proteína 1 diferenciação-associada gangliosídeo induzida
HMSN	Neuropatia sensitivo e motora hereditária.
HNPP	Neuropatia hereditária com susceptibilidade à compressão
HSPB8	Gene proteína do choque térmico B1
KIF1B	Gene cinesina 1 B
LD	Latência distal.
LMNA	Gene laminina A/C
MFN2	Gene mitofusina 2
MPZ	Gene proteína zero da mielina
MUAP	Potencial de ação unidade motora.
NEFL	Gene neurofilamento de cadeia leve
PDIC	Polirradiculoneuropatia desmielinizante inflamatória crônica
QST	Teste quantitativo sensitivo.
RAB7	Gene proteína RAS-relacionada
SNAP	Potencial de ação de nervo sensitivo.
VCM	Velocidade de condução motora.

LISTA DE SIGLAS:

mV	milivolts
μ V	microvolts

LISTA DE ANEXOS:

ANEXO A - Termo de consentimento aprovado pela FMUSP.....	61
ANEXO B - CMTNS.....	64
ANEXO C -Alterações genéticas na CMT.....	65
ANEXO D - Pacientes pesquisados com CMT.....	66
ANEXO E - Classificação genética das neuropatias hereditárias.....	67

LISTA DE APÊNDICES:

Apêndice A - Avaliação clínica dos integrantes da família.....	79
Apêndice B - Avaliação clínica dos portadores de CMT2.....	80
Apêndice C - Estudo eletroneuromiográfico dos portadores de CMT2.....	81

LISTA DE FIGURAS:

Figura 1. Heredograma família com CMT2.....	35
---	----

LISTA DE TABELAS:

Tabela 1 - Início da doença CMT2 por gerações.....	37
Tabela 2 - Dados neurofisiológicos dos pacientes com CMT2.....	43
Tabela 3 - Aplicação do CMTNS em pacientes com CMT2.....	45
Tabela 4 - Início da doença x CMTNS.....	46

LISTA DE QUADROS:

QUADRO 1-Bases moleculares da doença de Charcot-Marie-Tooth tipo 2..	17
QUADRO 2-Avaliação clínica dos pacientes com CMT2.....	40

RESUMO

NEVES, ELA. Investigação clínica, neurofisiológica e genética de doença de Charcot-Marie-Tooth tipo 2 de herança dominante.[Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011. 79p.

A doença de Charcot-Marie-Tooth (CMT) caracteriza-se por comprometimento dos nervos periféricos de predomínio distal, tendo curso clínico variável. Observa-se quadro de evolução lenta de atrofia e fraqueza distal em membros inferiores, seguidos por diminuição da sensibilidade. Os reflexos estão em geral abolidos, mas podem estar exaltados e acompanhados de sinal de Babinski. É frequente o encontro de atrofia do terço distal das pernas, de *pes cavos* e de deformidades em artelhos. A doença de CMT pode ser classificada, com o auxílio da eletroneuromiografia, em desmielinizante (CMT1) ou axonal (CMT2). A CMT1 possui velocidade de condução motora do nervo mediano < 38 m/s e a CMT2 > 38 m/s. A CMT1 é de herança autossômica dominante, e a CMT2 pode ser de herança dominante ou recessiva. A CMT2 é geneticamente heterogênea e conhecem-se até o momento 13 loci associados a essa condição, com nove genes identificados. O objetivo deste estudo é investigar do ponto de vista clínico, neurofisiológico e genético uma família com muitos portadores de CMT2. A família multigeracional que apresenta CMT2 é procedente de Tobias Barreto, SE. Foi feita avaliação neurológica de 50 indivíduos e eletroneuromiografia em 22 pacientes. Com dados da avaliação clínica e eletroneuromiográfica foi aplicado o escore

que avalia a gravidade da doença, o CMTNS. Para o estudo genético, foram coletadas 42 amostras de sangue de indivíduos afetados e de familiares não afetados. Entre os 50 indivíduos avaliados, 30 tinham sinais clínicos de neuropatia sensitivo-motora de predomínio distal. Paresia dos músculos distais foram os sinais clínicos mais precoces. Redução da sensibilidade superficial e profunda foi detectada nos segmentos distais. O sinal de Babinski estava presente em 14 indivíduos. A eletroneuromiografia demonstrou alterações compatíveis com polineuropatia axonal sensitiva e motora. O estudo genético demonstrou que, nesta família, CMT2 não está ligada a nenhum dos loci já conhecidos para esta condição, mas o locus do gene responsável não foi identificado até o momento. Em conclusão, as características clínicas e neurofisiológicas dessa família não diferem significativamente das observadas em outras formas de CMT, exceto pela alta prevalência de sinal de Babinski, e nossos resultados indicam a existência de um novo locus para CMT2.

Palavras-chave: Doença de Charcot-Marie-Tooth. Piramidal. Eletromiografia.

SUMMARY

NEVES, ELA - Clinical, genetics and neurophysiological investigation of Charcot Marie Tooth disease type 2 of dominant inheritance. São Paulo, 2011. Thesis (PhD) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease is characterized by predominantly distal peripheral neuropathy with variable clinical course. Initial presentation is of a slowly progressive distal atrophy and weakness in lower limbs, followed by sensory compromise. Reflexes are usually abolished, but might be brisk and accompanied by Babinski sign. It is frequent to find distal atrophy of lower limbs, pes cavus and toe deformities. Electromyography can recognize two patterns of CMT: demyelinating (CMT1), which has a conduction median nerve velocity < 38 m/s and axonal (CMT2), with velocity > 38 m/s. CMT1 is inherited as an autosomal dominant trait, and CMT2 might be transmitted as an autosomal dominant or recessive. CMT is genetically heterogeneous, and, up to now, 13 loci have been recognized and nine genes identified. The aim of this study was to conduct an investigation of clinical, genetics and neurophysiological investigation of a multigenerational family with several individuals with CMT2 and to characterize phenotype, neurophysiological pattern and genetic basis of this condition. Fifty individuals were clinically evaluated and nerve conduction velocity studies and distal muscular activity in lower limbs using concentric needle were performed in 22 patients. A blood sample was collect from 42 individuals, in order to perform linkage analysis. Thirty, among the 50 evaluated individuals, had clinical signs of predominately distal sensory motor neuropathy. Distal muscle paresis was an early clinical sign. Reduction of superficial and deep sensory was detected distally. Babinski sign was present in 14 affected individuals. Neurophysiological study was characteristic of axonal sensory-motor neuropathy. Linkage analysis demonstrated that in this family, CMT2 was not linked to any

already known loci for this condition, but the responsible gene locus was not identified so far. In conclusion, clinical and neurophysiological characteristics of this family did not differ substantially from other forms of CMT, except by the high prevalence of Babinski sign. Our study also suggests the presence of a new locus for CMT2.

Keywords: Charcot-Marie-Tooth Disease. Pyramidal. Electromyography.

1.INTRODUÇÃO.

A doença de Charcot-Marie-Tooth é a afecção neurológica geneticamente determinada mais comum em todo o mundo, com prevalência estimada de 37/100.000 indivíduos (KLEIN; DYCK, 2005). Caracteriza-se por comprometimento dos nervos periféricos de predomínio distal e seu curso clínico é bastante variável, havendo grande diversidade na velocidade de progressão e no grau de incapacidade que acaba por determinar. Faz parte do grupo das neuropatias hereditárias, que são classificadas de acordo com a população de neurônio ou axônio predominantemente acometida. Neuropatia sensitivo-motora hereditária (HMSN), em que a fraqueza muscular predomina sobre os déficits sensitivos; neuropatia motora distal hereditária (HMN), em que ocorrem alterações motoras com discretas alterações sensitivas e neuropatia autonômica sensitiva hereditária (HSAN) quando há predomínio de alterações sensitivas e autonômicas distais (DYCK; KLEIN, 2005; BARISIC *et al.*, 2008). O termo doença de Charcot-Marie-Tooth (CMT) é amplamente utilizado como sinônimo de HMSN, principalmente entre os geneticistas (DYCK; KLEIN, 2005; NICHOLSON, 2006).

Descrita inicialmente no final do século 19 por ¹J.M. CHARCOT e P. MARIE na França e ²H.H. TOOTH na Inglaterra como uma síndrome que reunia, na realidade, uma variedade de doenças que manifestavam clinicamente atrofia muscular peroneal. Descrições anteriores têm sido relatadas, porém a apresentação mais clara desta condição foi feita por

¹ *Sur une forme particulière d'atrophie musculaire progressive, souvent familiale, débutant par les pieds et les jambes et atteignant plus tard les mains.* Revue médicale, Paris, 1886

² *The peroneal type of progressive muscular atrophy.* Dissertation, London. H.K. Lewis, 1886

estes autores (HARDING; THOMAS, 1980). A doença foi definida como um lento processo degenerativo causando fraqueza e atrofia, afetando pés, pernas e mais tardiamente mãos. Deixava claro o envolvimento precoce de músculos inervados pelos nervos peroneais e que as alterações sensitivas eram tardias e menos graves. Enfatizava o fato de ocorrer em mais de um membro da família e ter início na infância ou adolescência. Na opinião de CHARCOT, tratava-se de uma mielopatia, porém TOOTH sugeriu que o problema estava nos nervos periféricos (HARDING; THOMAS, 1980).

Desde a descrição inicial, vários autores tentaram agrupar melhor as síndromes que cursavam com atrofia peroneal progressiva, entre eles GOMBAULT e MALLET (1889), DEJERINE e SOTTAS (1896), HOFFMANN (1912) e ROUSSY e CORNIL (1921). DEJERINE e SOTTAS já haviam descrito em 1896 a presença de hipertrofia de nervos em seus pacientes. Em 1967, THOMAS e LASCELLES descreveram que a presença de neuropatia hipertrófica era consequente da proliferação celular concêntrica ao redor da fibra nervosa, causada pelo processo de desmielinização segmentar e remielinização, e que era observada em uma série de doenças hereditárias e adquiridas, e que, portanto, não era específica da doença de DEJERINE e SOTTAS. A primeira estratégia bem sucedida na tentativa de classificar melhor as doenças que cursavam com atrofia muscular peroneal veio dos trabalhos de HENRIKSEN, GILLIATT e THOMAS (1957) que encontraram grave lentificação da velocidade de condução motora nos seus pacientes com atrofia muscular peroneal. A partir de então, DYCK e LAMBERT (1968) deram os primeiros passos para a primeira grande classificação da atrofia muscular peroneal,

comparando os dados obtidos nas medidas de condução dos seus pacientes e familiares com as alterações vistas nas biópsias de nervos destes pacientes. Eles então definiram dois grandes grupos: o primeiro, que demonstrava importante redução da velocidade de condução e apresentava, no exame patológico, um processo de desmielinização-remielinização de nervos, alguns com alterações hipertróficas. E o segundo grupo, com degeneração neuronal no exame anátomo-patológico e velocidade de condução normal ou levemente reduzida no estudo neurofisiológico. Este segundo grupo ainda foi subdividido em doença de CMT neuronal, atrofia muscular espinhal progressiva do tipo CMT e paraplegia espástica hereditária com atrofia muscular peroneal (HARDING; THOMAS, 1980). Em 1978, os estudos de BRADLEY já demonstravam um grupo definido de pacientes com velocidade de condução intermediária, que atualmente a maioria dos autores já aceita como um grupo à parte da doença de CMT.

Em 1980, HARDING e THOMAS assumiram a grande tarefa de agrupar melhor estes pacientes com atrofia muscular peroneal. Por meio de um estudo clínico e neurofisiológico com grande número de pacientes, eles puderam identificar dois grandes grupos de pacientes com doença de CMT que poderiam ser diferenciados por meio do estudo da condução motora do nervo mediano. A partir desses dados, estabeleceram o valor de 38 m/s como o limite entre esses dois grupos. Aqueles que apresentavam valores abaixo de 38 m/s demonstravam alterações patológicas compatíveis com doença desmielinizante. Aqueles com valores acima de 38 m/s

apresentavam alterações compatíveis com degeneração axonal (HARDING; THOMAS, 1980). Desde então, esses critérios persistem para o reconhecimento dos dois grandes grupos, já agora denominados de doença de CMT desmielinizante ou tipo 1 (CMT1) e doença de CMT axonal ou tipo 2 (CMT2) (DAVIS *et al.*, 1978; GEMIGNANI; MARBINI, 2001). A partir da descrição inicial até o presente momento, podemos identificar duas fases importantes no entendimento da doença de CMT: a diferenciação em dois grandes grupos baseada nos dados eletrofisiológicos, e a classificação de subtipos de CMT de acordo com a identificação dos loci e genes envolvidos.

De acordo com a natureza da lesão do nervo periférico, a doença de CMT pode ser dividida em dois grandes grupos: desmielinizante (CMT1) e axonal (CMT2) (HARDING; THOMAS, 1980; DYCK; KLEIN, 2005). Outras subdivisões são baseadas no padrão de transmissão e nas alterações genético-moleculares. A depender da mutação ocorrida e do gene envolvido, o produto gênico poderá ser uma proteína estrutural ou funcional de fundamental importância na célula de Schwann, responsável pela produção da mielina, ou no axônio (DYCK; KLEIN, 2005). Em alguns casos, um mesmo gene pode sofrer mutações que causarão neuropatia desmielinizante ou axonal. Do ponto de vista clínico, as duas formas são similares, porém o comprometimento da CMT2 costuma ser mais brando, com alterações da sensibilidade mais tardias e não cursa com hipertrofia de nervos, como observado na CMT1. A doença de CMT2 é bem menos frequente que CMT1, embora seja possível que CMT2 seja subdiagnosticada. Em conjunto, estima-se que a CMT tenha uma

prevalência de 20-40/100.000, enquanto a de CMT2 é de 3-12/100.000 (DAVIS *et al.*, 1978; GEMIGNANI; MARBINI, 2001;).

Os avanços obtidos com os estudos em genética molecular permitiram identificar uma variedade de alterações em um número cada vez maior de genes responsáveis pela doença CMT. Ainda, um mesmo gene, a depender da mutação sofrida, pode manifestar diferentes fenótipos. Essa heterogeneidade genética é responsável pelo grande número de subtipos de CMT, o que torna a classificação da doença de CMT cada vez mais complexa.

1.1 Manifestações clínicas da doença de CMT.

A doença de CMT causa fraqueza e atrofia progressiva, inicialmente em músculos distais dos membros inferiores, podendo posteriormente atingir membros superiores, com deformidades nos pés, perda de sensibilidade distal e redução dos reflexos tendinosos (HARDING; THOMAS, 1980; THOMAS *et al.*, 1997). Esse é o quadro clínico típico de uma doença de nervos periféricos de lenta evolução e que acomete predominantemente as porções distais das fibras sensitivas e motoras mais longas. Caracteristicamente nos portadores de CMT, as alterações motoras são mais precoces e mais acentuadas do que as sensitivas (HARDING; THOMAS, 1980; MUGLIA *et al.*, 2001). Habitualmente, os indivíduos acometidos percebem as alterações motoras na infância ou adolescência,

sendo as queixas sensitivas, na maioria das vezes, tardias. A fraqueza muscular de segmentos distais é usualmente expressada como dificuldade para correr e pular ou como ocorrência de quedas frequentes. No caso da CMT2, a idade de início é bastante variável e muitas vezes difícil de ser estabelecida, observando-se registros de início dos sintomas até na quinta década de vida em algumas famílias (MUGLIA *et al.*, 2001). A evolução lentamente progressiva faz com que haja demora no reconhecimento da incapacidade motora, e, na maioria das vezes, só há procura por assistência médica quando ocorre comprometimento de segmentos médios ou proximais dos membros inferiores ou quando já há outros familiares acometidos.

Especialmente entre portadores de neuropatia desmielinizante, é frequente o encontro de atrofia do terço distal das pernas, conferindo o aspecto de *perna de cegonha* ou *taça de champagne* invertida, de *pes cavus* ou pés planos, deformidades dos artelhos em martelo. Presença de *pes cavus*, é talvez o sinal clínico mais sugestivo de CMT. É provavelmente causado pela fraqueza e atrofia de músculos distais inervados pelo nervo peroneal (VINCI; PIERELLI, 2002; VINCI *et al.*, 2006). Embora possam ser vistos em outras doenças que acometem distalmente nervos motores, é na doença de CMT que podemos identificá-los mais frequentemente. No entanto, as alterações motoras podem já estar presentes, mesmo antes de observarmos aumento da concavidade dos pés. Quando o início da doença começa na idade adulta é mais provável o paciente apresentar “pés caídos”, devido à paresia dos tibiais anteriores, do que *pes cavus*. Da

mesma forma, o aparecimento de *pes cavus* sugere início precoce da doença (NICHOLSON, 2006).

A doença de CMT é uma doença predominantemente de nervos periféricos, em que as alterações motoras prevalecem. Nas fases iniciais e nos casos mais brandos as alterações motoras são percebidas em músculos distais inervados pelos peroneais, isto porque a degeneração na doença CMT é comprimento-dependente. Durante exame físico, observa-se quadro de fraqueza iniciada em segmentos distais dos membros inferiores, geralmente com início da primeira até a terceira década de vida (HARDING; THOMAS, 1980). A evolução é lenta e pode ser quase imperceptível nos primeiros anos da doença (HARDING; THOMAS, 1980). Paresia do extensor curto dos dedos e do músculo tibial anterior são sinais precocemente encontrados durante o exame. Com a evolução do quadro, podemos identificar paresia em segmentos mais proximais como pernas e, mais raramente, coxas. A depender da gravidade do quadro podemos ulteriormente identificar paresia também em músculos das mãos e até nos segmentos proximais dos membros superiores. Nos membros superiores, a região tenar e os interósseos dorsais da mão são os músculos mais frequentemente envolvidos. Na maioria das vezes, embora seja difícil definir com precisão quais músculos distais estão acometidos nos membros superiores, dificuldades na atividade diária em relação a tarefas manuais podem ser referidas. O envolvimento de nervos cranianos é raro, mas há descrições de famílias com paresia da corda vocal e surdez associada à CMT (DYCK *et al.*, 1994; VERHOEVEN *et al.*, 2006; BARISIC *et al.*, 2008). O

envolvimento de nervo frênico resultando em dificuldade na fonação e respiração, foi também visto em algumas famílias (DYCK *et al.*, 1994; BARISIC *et al.*, 2008; SEVILLA *et al.*, 2008). Redução e até abolição dos reflexos são a regra, embora em algumas formas de CMT possamos encontrar reflexos exaltados e até presença de sinal de Babinski (HARDING; THOMAS, 1980; MICHELS *et al.*, 2005; ZHU *et al.*, 2005; CHUNG; *et al.*, 2006; BARISIC *et al.*, 2008).

As alterações sensitivas na doença de CMT merecem uma consideração à parte. Não é comum portadores de CMT apresentarem sintomas sensitivos positivos ou dores do tipo neuropática, embora CARTER *et al.*, em 1998, tenham observado a ocorrência dessas manifestações em até 71 % dos casos em sua série (GEMIGNANI *et al.*, 2004). Em todos os indivíduos com suspeita de CMT, ainda que não haja uma queixa consistente de alterações sensitivas, deve-se procurar, durante o exame clínico, essas alterações, principalmente em segmentos distais. As alterações sensitivas podem apresentar-se algum tempo depois das manifestações motoras, dificultando a definição diagnóstica de CMT, tendo em vista a possibilidade de doença do neurônio motor inferior, como, por exemplo, a neuropatia motora distal hereditária. As anormalidades sensitivas na CMT2 decorrem principalmente de uma perda mais acentuada de fibras grossas mielinizadas ($A\alpha$), quando comparada com as fibras finas mielinizadas ($A\delta$) e fibras não mielinizadas (C) (KLEIN; DYCK, 2005). Sensibilidade profunda (vibratória) e superficial (dolorosa) são as primeiras a sofrer alterações. O estudo cuidadoso e sistemático de segmentos distais

dos pés e dos dedos dos pés pode ser bastante útil nas fases iniciais da doença.

Mais raramente, podem ser encontrados sinais adicionais tais como tremor de ação, atrofia óptica, surdez, alterações pupilares e úlcera nos pés (SEEMAN *et al.*, 2004; LAWSON *et al.*, 2005; BARISIC *et al.*, 2008). Em algumas famílias, são descritos indivíduos portadores de CMT que apresentam sinais piramidais sob a forma de reflexos tendinosos exaltados e presença do sinal de Babinski, porém sem espasticidade (HARDING; THOMAS, 1980; ZHU *et al.*, 2005; LAWSON *et al.*, 2005; BARISIC *et al.*, 2008). A presença desses sinais adicionais muitas vezes não é bem entendida, porém pode sugerir um subtipo específico de CMT com alteração genética única.

Surdez tem sido descrita em algumas famílias com CMT, porém parece não haver apenas um único locus gênico envolvido (LAWSON *et al.*, 2003; PAPADAKIS *et al.*, 2003; SEEMAN *et al.*, 2004; LAWSON *et al.*, 2005; BARISIC *et al.*, 2008). Em uma avaliação entre portadores de CMT2 com mutação do gene da mitofusina, 58% dos afetados demonstravam perda auditiva neurosensorial (LAWSON *et al.*, 2005)

São descritos distúrbios de sono em portadores de CMT, principalmente do tipo 1 (DEMATTEIS *et al.*, 2001; ABOUSSOUAN; LEWIS, 2007; DZIEWAS *et al.*, 2008). Apneia do sono, síndrome das pernas inquietas e movimento periódico dos membros são as alterações mais relatadas (DEMATTEIS *et al.*, 2001; ABOUSSOUAN; LEWIS, 2007).

1.2 Alterações Neurofisiológicas - Eletroneuromiográficas.

De acordo com a natureza da lesão do nervo periférico, a doença de CMT pode ser dividida em desmielinizante (CMT1) ou axonal (CMT2). Do ponto de vista clínico, as duas formas são indistinguíveis. Com o auxílio do estudo eletroneuromiográfico, é possível, no entanto, diferenciar as neuropatias desmielinizantes das axonais: nas primeiras, a velocidade de condução é inferior a 38 m/s, enquanto nas segundas ela é superior a 38m/s (HARDING; THOMAS, 1980; DUMITRU, 1995; MUGLIA *et al.*, 2001; KIMURA, 2001; DYCK, 2005; ENGELFRIED *et al.*, 2006). Alguns autores ainda acrescentam as formas intermediárias, com velocidades de condução motora do mediano entre 30 e 40 m/s (NICHOLSON; MYERS, 2006; SEVILLA *et al.*, 2008).

O estudo eletroneuromiográfico dos portadores de CMT do tipo 1 apresenta alterações compatíveis com neuropatia desmielinizante com acometimento de fibras sensitivas e motoras, simétrica e de predomínio distal. O processo de desmielinização é uniforme, diferenciando-as das neuropatias adquiridas a exemplo da polirradiculoneuropatia desmielinizante inflamatória crônica (PDIC), que causa desmielinização segmentar. Nestas últimas, podemos encontrar a presença de bloqueios de condução, o que não ocorre na doença de CMT1. Na doença de CMT1, a neurocondução demonstra importante redução das velocidades de condução de nervos motores e sensitivos. A redução da velocidade de condução nervosa nos casos de CMT1 pode variar amplamente, a depender

do gene acometido. Valores entre 10 e 38 m/s podem ser encontrados nos casos de CMT1 (HARDING; THOMAS, 1980; BARISIC *et al.*, 2008). As latências distais, principalmente dos nervos motores, apresentam-se prolongadas. A redução das amplitudes dos potenciais de ação composto (CMAP) é mais intensa nos nervos peroneais; no entanto, a depender do estágio da doença, os nervos medianos e ulnares já podem apresentar redução dos CMAPs. É frequente, já nos primeiros exames realizados, a não obtenção de resposta motora dos nervos peroneais (BARISIC *et al.*, 2008). As latências das ondas-Fs, quando obtidas, podem apresentar prolongamentos acima de 125 % do limite superior da normalidade, denotando alto grau de desmielinização. Ausência precoce do Reflexo -H é a regra nesses casos. Durante estudo muscular, com eletrodos de agulha, podemos observar alterações neurogênicas dos potenciais de ação muscular (PAM) das unidades motoras, principalmente dos músculos distais dos membros inferiores. Essas alterações neurogênicas dos PAM são identificadas pelo aumento da amplitude e da duração dos potenciais. Embora a natureza da lesão seja primariamente desmielinizante, degeneração axonal costuma acontecer posteriormente, o que justifica a presença de padrão neurogênico em músculos distais e a importante redução dos CMAPs durante o estudo de neurocondução dos nervos peroneais (DUMITRU, 1995; BARISIC *et al.*, 2008). Observamos redução do padrão de recrutamento das unidades motoras em quase todos os músculos distais dos membros inferiores. Quando o estudo é realizado nos primeiros anos de evolução da doença, a presença de sinais de instabilidade de membrana, tais como

ondas positivas e fibrilações, podem aparecer em músculos distais e até nos tibiais anteriores. Alguns nervos hipertrofiados podem ainda sofrer lesão por compressão no nível do túnel do tarso, túnel do carpo ou cotovelo e demonstrar sinais agudos de desnervação muscular.

O estudo eletroneuromiográfico dos pacientes que apresentam CMT2 demonstra a presença de polineuropatia acometendo de forma simétrica e predomínio distal o axônio das fibras sensitivas e motoras. Não há redução significativa das velocidades de condução, sendo, por definição, a velocidade de condução motora do nervo mediano superior a 38 m/s. Leve redução das velocidades de condução e redução das amplitudes dos CMAPs são as alterações mais observadas. Tendo em vista que a maioria dos pacientes só realiza o estudo eletroneuromiográfico tardiamente, podemos não obter a resposta motora em alguns nervos, principalmente os peroneais. A redução das CMAPs pode ser vista em quase todos os nervos, porém nos nervos distais ela é mais evidente. O estudo eletromiográfico com agulha demonstra predomínio de potenciais de ação muscular com características neurogênicas crônicas. Aumento da duração e das amplitudes dos PAM são alterações eletromiográficas que identificam o dano axonal. Quando comparada com neuropatias axonais adquiridas, observamos a presença de poucos potenciais polifásicos na CMT2, sugerindo redução na capacidade de reinervação muscular. Durante avaliação do padrão de recrutamento das unidades motoras, observamos importante rarefação dos PAM, principalmente em músculos distais dos membros inferiores (DUMITRU, 1995).

1.3 Classificação da doença Charcot-Marie-Tooth.

Inicialmente a classificação de CMT obedecia à classificação neurofisiológica descrita por DYCK e LAMBERT em 1968, que resultou nas formas CMT tipo 1, 2, 3 e 4. Além da CMT1 e CMT2, já distintas por apresentarem velocidade de condução do nervo mediano < 38 m/s e > 38 m/s respectivamente, a CMT3 também é conhecida como doença de Dejerine - Sottas, em que a velocidade de condução está extremamente reduzida. O tipo 4 refere-se a CMT desmielinizante, com padrão de transmissão autossômica recessiva (HARDING; THOMAS, 1980; NICHOLSON, 2006). Após se reconhecer que diferentes mutações em um mesmo gene poderiam resultar em diferentes apresentações clínicas, a classificação adotada passou a incluir subtipos de CMT de acordo com as alterações genético-moleculares (NICHOLSON, 2006; BARISIC *et al.*, 2008).

1.4 Padrões de transmissão.

De acordo com o tipo de herança, as CMT1 é de herança autossômica dominante e a CMT2 é transmitida como um caráter dominante ou recessivo (HARDING; THOMAS, 1980b; KLEIN; DYCK, 2005; BARISIC *et al.*, 2008). As formas de herança ligada ao X são conhecidas como CMTX, e as formas autossômicas recessivas desmielinizantes são denominadas CMT4.

A penetrância de CMT2 é habitualmente completa, porém há grande variação na idade de início dos sintomas. Não se observa fenômeno de antecipação.

1.5 Alterações genético-moleculares da CMT.

A primeira forma de doença de CMT a ser mapeada foi a CMT1A, em 1989 (BERGER *et al.*, 2002; KLEIN; DYCK, 2005; NICHOLSON, 2006; BIENFAIT *et al.*, 2007; BARISIC *et al.*, 2008). Desde então, a descoberta de novos *loci* e novos genes envolvidos com a CMT não para de aumentar, havendo mais de 50 *loci* cromossômicos e mais de 33 genes identificados (NICHOLSON, 2006). Embora existam muitos genes envolvidos, apenas uma pequena porção de subtipos de CMT apresentam fenótipos distintos.

Tanto a CMT1 como a CMT2 são geneticamente heterogêneas, i.e., já foram identificados diversos genes e *loci* que estão associados a

essas condições (YOSHIOKA; DYCK, 1996; KLEIN; DYCK, 2005). Estima-se que 60 % dos casos de CMT seja do tipo 1 e de 20 a 40% de CMT do tipo 2 (BARISIC *et al.*, 2008). Formas de herança ligada ao X (CMTX) seriam responsáveis por 10 a 25% de todos os casos de CMT. A forma CMTX é a segunda forma mais comum entre as CMT desmielinizantes (BARISIC *et al.*, 2008). A CMT4 é muito rara.

Para a CMT1, já foram localizados cinco loci e identificados os genes a ele associados: cerca de 70 a 80% dos casos são decorrentes de duplicação do gene *PMP22*, e 5 a 10% são causados por mutação no gene *MPZ* (KLEIN; DYCK, 2005); mutações nos três genes restantes (*ERG2*, *LITAF* e *NEFL*) são bastante raras. Acredita-se que a duplicação de *PMP22* esteja presente em 1/3.300 indivíduos.

Conhecem-se até o momento treze loci associados a CMT2, sendo que apenas nove genes foram identificados até o momento (ZÜCHNER; VANCE, 2006; BARISIC *et al.*, 2008) (Quadro 1). Quatro dos treze loci estão relacionados a formas de herança recessiva, e alguns foram identificados em apenas uma família (gene *KIF1B* e os loci de CMT2B2, CMT2G, CMT2H e CMT2L). O gene *MFN2* (CMT2A) é o que mais frequentemente está associado à CMT axonal, acometendo de 10 a 27 % dos casos de CMT2 (MUGLIA *et al.*, 2001; VINCE *et al.*, 2001; LAWSON *et al.*, 2005; ZÜCHNER; VANCE, 2006; NICHOLSON, 2006). Anteriormente à descoberta da mutação do gene *MFN2*, foi descrita a mutação do gene *KIF1B* como responsável por CMT2 (CMT2A1) (ZAO *et al.*, 2001). Essa mutação foi vista apenas em uma família japonesa, não sendo mais encontrada em outras famílias.

QUADRO 1. Bases moleculares da doença de CMT2.

Nome	Gene	Locus	Produto gênico	Padrão de herança
CMT2A	<i>KIF1B</i>	1p36.2	Proteína similar a cinesina- KIF1B	AD
CMT2A	<i>MFN2</i>	1p36.2	GTPase transmembrana MFN2	AD
CMT2B	<i>RAB7</i>	3q21	Proteína relacionada a Ras Rab-7	AD
CMT2B1	<i>LMNA</i>	1q21.2	Laminina A/C	AR
CMT2B2	Não identificado	19q13.3	Não identificado	AR
CMT2C	Não identificado	12q23-q24	Não identificado	AD
CMT2D	<i>GARS</i>	7p15	Sintetase do RNAt de glicina	AD
CMT2E	<i>NEFL</i>	8p21	Neurofilamento de cadeia leve	AD
CMT2F	<i>HSPB8</i>	7q	Proteína de choque termico beta 1	AD
CMT2G	Não identificado	12q12-q13.3	Não identificado	AD
CMT2H	Não identificado	8q21	Não identificado	AR
CMT2I/J	<i>MPZ</i>	1q22	Proteína P zero da mielina	AD
CMT2K	<i>GDAP1</i>	8q13-q21.1	Proteína associada à diferenciação induzida por gangliosídeo 1	AR
CMT2L	Não identificado	12q24	Não identificado	AD

Legenda: AD: autossômico dominante; AR: autossômico recessiva

A função do produto dos genes envolvidos com a CMT2 é bastante variável: os dos genes *KIF1B* e *RAB7* estão envolvidos com o transporte axonal; o de *MFN2* com a arquitetura e o processo de fusão das mitocôndrias; e *GARS* com a ligação da glicina ao seu RNA transportador (HARDING; THOMAS, 1995; KLEIN; DYCK, 2005; MICHELS *et al.*, 2005; MEGGOUH *et al.*, 2006; BALOH *et al.*, 2007).

CMT2B apresenta grave envolvimento sensitivo com aparecimento de ulceração nos pés (BARISIC *et al.*, 2008). O tipo CMT2C refere-se à neuropatia axonal autossômica dominante associada a envolvimento laríngeo. O tipo CMT2D apresenta fenótipo típico, com envolvimento precoce de músculos das mãos (IONASESCU *et al.*, 1996; NICHOLSON, 2006; BARISIC *et al.*, 2008).

As formas de CMT ligadas ao cromossomo X são chamadas de CMTX e devem ser excluídas em famílias multigeracionais em que há transmissão de pai para filho. É causada pela mutação do gene *GJB1*, que codifica a proteína conexina 32 e apresenta moderada redução das velocidades de condução, estando assim na forma intermediária entre as neuropatias desmielinizantes e axonais (NICHOLSON, 2006). Recentemente, foram também descritas alterações em sistema nervoso central relacionadas à conexina 32 (CHUNG *et al.*, 2006; BIENFAIT *et al.*, 2007; BARISIC *et al.*, 2008).

1.5.1 Correlação clínico-genética.

A forma CMT1A, de herança de caráter autossômico dominante, é causada por duplicação de região do cromossomo 17p11.2-p12, que engloba o gene *PMP22*, compreendendo mais de 90 % dos casos de CMT1 (BARISIC *et al.*, 2008). Pode ser observada hipertrofia de nervos em até 25 % dos casos e perda auditiva em 5 % (BARISIC *et al.*, 2008). O estudo de condução desses pacientes demonstra grande redução da velocidade de condução, com o nervo mediano motor apresentando velocidades entre 15 a 30 m/s. Habitualmente, manifestações clínicas aparecem antes dos dez anos, e já com cinco anos de doença observamos importante redução da velocidade de condução. Embora seja uma neuropatia primariamente desmielinizante, durante sua evolução ocorre perda axonal, com redução das amplitudes dos potenciais de ação. A forma CMT1B é causada por mutação do gene *MPZ*, que codifica a proteína integrante da mielina P zero. Ocorre em menos de 5 % dos casos de CMT1 e também apresenta a clássica forma de CMT, porém com maior acometimento sensitivo. Quando ocorre na primeira década de vida, apresenta velocidades de condução motora abaixo dos 20 m/s (BARISIC *et al.*, 2008). As formas CMT1C, D e F são bastante raras. A forma de neuropatia hereditária com susceptibilidade à compressão (HNPP) é causada por uma deleção na região 17p12, onde se encontra o gene *PMP22*. O quadro clínico é de neuropatia focal recorrente desmielinizante. Mononeuropatia súbita, assimétrica, indolor, perdurando dias ou meses

pode ser a manifestação mais comum. O estudo neurofisiológico pode demonstrar leve redução da velocidade de condução do mediano e presença de bloqueios de condução em áreas de compressão (BARISIC *et al.*, 2008).

A CMT2A é a forma de CMT axonal mais prevalente, sendo responsável por aproximadamente 20 % das CMT axonais (ZÜCHNER; VANCE, 2006). É causada pela mutação do gene *MFN2*, localizado no cromossomo 1p36, que codifica a mitofusina, GTPase envolvida na fusão da mitocôndria (KIJIMA *et al.*, 2005; ZÜCHNER; VANCE, 2006; BALOH *et al.*, 2007; NEUSCH *et al.*, 2007, DEL BO *et al.*, 2008; BARISIC *et al.*, 2008). A forma CMT2A apresenta o fenótipo típico das neuropatias hereditárias axonais autossômicas dominantes (VERHOEVEN *et al.*, 2006; BARISIC *et al.*, 2008; BANCHS *et al.*, 2008; BROCKMANN *et al.*, 2008). Alguns pacientes com CMT2A apresentam sinais piramidais (ZHU *et al.*, 2005; DEL BO *et al.*, 2008) e perda auditiva foi descrita em algumas famílias (LAWSON *et al.*, 2005). Neurofisiologicamente, esses pacientes apresentam discreta redução da velocidade de condução motora, porém com importante redução das amplitudes dos potenciais de ação. A forma CMT2B é causada pela mutação do gene *RAB7*, localizado no cromossomo 3q13-q22, e clinicamente é caracterizado por neuropatia axonal com alterações motoras, porém com importante déficit sensitivo, hiperkeratose e presença de ulcerações nos pés (LAWSON *et al.*, 2005; MEGGOUH *et al.*, 2006; BARISIC *et al.*, 2008). A forma CMT2C, com gene não identificado, está associada ao acometimento de músculos proximais, que podem envolver

diafragma e cordas vocais. A forma CMT2D, causada por mutação do gene *GARS*, localizado no cromossomo 7p15, afeta precocemente e mais gravemente músculos das mãos e, com menos intensidade, músculos dos membros inferiores (IONASESCU *et al.*, 1996; DEL BO *et al.*, 2006). As demais formas de CMT2 são bastante raras.

A forma CMTX, desmielinizante dominante, é causada pela mutação do gene *GJB1*, que codifica a proteína conexina 32. Os homens são mais gravemente afetados e não existe transmissão de pai para filho. Os sintomas iniciam antes dos dez anos de idade, e os músculos das mãos apresentam importante atrofia (BARISIC *et al.*, 2008). Surdez, envolvimento do sistema nervoso central e alterações visuais podem fazer parte do quadro. As velocidades de condução motora apresentam valores intermediários entre a CMT desmielinizante e axonal (30-40 m/s para homens afetados e 30-50 m/s para mulheres afetadas) (BARISIC *et al.*, 2008).

A forma CMT3, também conhecida como síndrome Dejerine-Sottas, é causada pela mutação do gene *PMP22* e apresenta quadro clínico de polineuropatia desmielinizante, de instalação precoce e com velocidades de condução extremamente reduzidas (<15 m/s) (BARISIC *et al.*, 2008). Alterações hipertróficas em nervos também podem ser observadas. Hipotonia pode ser encontrada já nos primeiros meses de vida.

A CMT4 refere à polineuropatia desmielinizante autossômica recessiva. Mutações no gene *GDAP1* são relacionados à CMT4A, que costuma

se manifestar precocemente e estar associada a retardo no desenvolvimento motor (BARISIC *et al.*, 2008).

O tipo HMSN V está relacionado à polineuropatia axonal, autossômica dominante com sinais piramidais e espasticidade. A forma HMSN VI apresenta polineuropatia axonal, dominante, com atrofia óptica. Mutações no gene MFN2 também têm sido descritas nesta forma.

2. OBJETIVOS

Esse trabalho tem como objetivos investigar, do ponto de vista clínico, neurofisiológico e genético, uma família que apresenta muitos indivíduos portadores de CMT2, com o intuito de:

- a. Caracterizar o fenótipo clínico.
- b. Determinar as características neurofisiológicas, com ênfase nos achados mais prevalentes e mais precocemente encontrados.
- c. Realizar estudo de ligação, procurando-se averiguar se essa forma de CMT2 está ligada a algum dos 13 loci já conhecidos.

3.CASUÍSTICA E METODOLOGIA.

3.1 Casuística

3.1.1 População estudada.

Esse estudo objetiva investigar do ponto de vista clínico, genético e neurofisiológico uma grande família multigeracional que apresenta neuropatia transmitida com um padrão de herança autossômico dominante. Essa família reside no município de Tobias Barreto, situado a 180 km de Aracaju, Sergipe, que tem população estimada em 57 mil habitantes. Investigação preliminar sugeriu a presença de vários indivíduos portadores de neuropatia periférica de predomínio motor. Foi estimado, por meio de relatos de familiares, fotografias, descrição de deficiências físicas e observação clínica *in loco*, que vários indivíduos dessa família poderiam apresentar uma doença neuromuscular hereditária. Não identificamos situações ambientais, coexistência de doenças nem outros fatores que pudessem contribuir para a existência dessa doença neuromuscular.

3.2 Métodos.

3.2.1 Avaliação clínica.

Após avaliação preliminar e realização do heredograma com identificação dos possíveis portadores de CMT entre os familiares, foi iniciada avaliação clínico-neurológica individualizada. Todos os indivíduos que participaram integralmente do estudo assinaram o termo de consentimento, previamente aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da FMUSP (Anexo A). Na anamnese, foram incluídos questionamentos sobre idade de início dos sintomas, presença de sintomas motores e sensitivos, necessidade de auxílio para andar, perda auditiva e visual, presença de outras doenças e uso de medicamentos (Apêndice A). Após avaliação clínica geral, os integrantes da família foram submetidos a exame neurológico com ênfase para alterações neuromusculares, e os dados obtidos foram registrados na ficha de exame. Foi dada especial atenção a possíveis alterações tróficas nos pés, pernas e mãos, alterações do equilíbrio e marcha, presença de escoliose e de movimentos anormais. Realizou-se palpação de trajetos nervosos para avaliar a presença de hipertrofias. A avaliação da força muscular dos membros inferiores incluiu os músculos extensor do hálux, extensor curto dos dedos, tibial anterior, gastrocnêmios, quadríceps da coxa e iliopsoas; nos membros superiores,

compreendeu o primeiro interósseo dorsal da mão, flexor dos dedos, extensor comum dos dedos, extensor radial do carpo, bíceps, tríceps e deltoide (Apêndice B). A avaliação de sensibilidade superficial foi testada com agulha, e a sensibilidade profunda foi testada com diapasão de 128 Hz, comparando os segmentos distais com os proximais, em membros inferiores e superiores. Os indivíduos que apresentassem alterações neurológicas compatíveis com o acometimento do sistema nervoso periférico durante exame físico eram encaminhados para realizar estudo eletroneuromiográfico (Apêndice C). Foram excluídos portadores de diabetes, etilistas, os indivíduos que apresentassem lesões em pele sugestivas de hanseníase, usuários de medicações que pudessem causar neuropatias e os que não concordaram em assinar o termo de consentimento.

3.2.2 Avaliação Eletroneuromiográfica

Os indivíduos selecionados pelo exame clínico para realização de estudo neurofisiológico foram encaminhados para laboratório de neurofisiologia clínica em Aracaju-SE, onde foi realizada eletroneuromiografia. O estudo eletroneuromiográfico foi realizado utilizando equipamento Vinking Quest (Nicolet) 9.0. Os registros foram obtidos de acordo com a metodologia convencional descrita por Oh (Oh J, 1993), utilizando estimulador e eletrodos de superfície durante o estudo da

neurocondução. Os parâmetros dos potenciais de ação, tais como latências distais (LD), amplitudes dos potenciais de ação (CMAP e SNAP) e velocidades de condução, dos nervos sensitivos e motores, foram avaliados nos membros inferiores e em pelo menos um membro superior. Foram avaliados os nervos surais, peroneais, tibial posterior, mediano e ulnar. Os nervos sensitivos surais foram registrados com eletrodo ativo colocado no maléolo lateral do tornozelo e estimulado 9 a 11 centímetros proximal ao ponto de captação. Os nervos motores medianos e ulnares foram estimulados ortodromicamente proximal ao cotovelo e no punho, com registros no abductor breve do polegar e abductor do quinto dedo, respectivamente. Da mesma forma, os nervos tibiais e peroneais foram estimulados no joelho e em tornozelo, enquanto os registros foram feitos no abductor do hálux e extensor curto dos dedos, respectivamente. As amplitudes dos potenciais de ação foram medidas do pico da onda negativa à linha de base nos nervos motores e pico a pico nos nervos sensitivos. Estudo do reflexo-H com captação em gastrocnêmios foi realizado bilateralmente. O estudo eletromiográfico com agulha concêntrica avaliou os músculos extensor curto dos dedos, tibial anterior, gastrocnêmios, vasto medial e primeiro interósseo dorsal, desde que os voluntários suportassem bem possíveis desconfortos. A temperatura permaneceu controlada e não era inferior a 33°C.

2.2.3 Aplicação do Charcot-Marie-Tooth Neuropathy Scale (CMTNS)

Os indivíduos que apresentavam alterações clínicas e neurofisiológicas compatíveis com CMT, foram submetidos à avaliação da gravidade da doença por meio de escore direcionado para CMT, o CMTNS, descrito por SHY *et al.* (SHY *et al.*, 2005). Esse escore é composto por sintomas sensitivos e motores, em membros inferiores e superiores, questionados ao portador de CMT; alterações sensitivas e motoras em membros inferiores e superiores observadas durante exame físico; e alterações da neurocondução de nervos sensitivos e motores obtidos durante eletroneuromiografia. Portanto, havendo apenas a necessidade da avaliação clínica e avaliação eletrofisiológica para se obter o CMTNS. A cada alteração observada em um desses domínios, era atribuída uma pontuação, sendo o máximo de 36 pontos para aqueles que apresentavam maior gravidade da doença de CMT (Anexo B). De acordo com a pontuação do CMTNS, os pacientes abaixo de 10 pontos seriam classificados como leves, entre 11 e 20 pontos seriam os moderados e acima de 21 pontos os casos considerados graves (SHY *et al.*, 2005).

3.2.4 Estudo genético-molecular.

Para caracterização genética dessa forma de CMT2, coletou-se 10 ml de amostra de sangue de 42 indivíduos, incluindo os clinicamente afetados e alguns de seus irmãos não afetados.

Utilizando-se marcadores polimórficos situados na vizinhança dos treze *loci* associados a CMT2, conduziu-se a um estudo de ligação. Esse estudo está sendo finalizado no Centro de Pesquisas do Genoma Humano, Instituto de Biociências da USP.

3.2.5 Critérios diagnósticos

O diagnóstico de doença CMT é feito diante da suspeita clínica de neuropatia hereditária de predomínio motor, iniciada habitualmente nas duas primeiras décadas de vida, de lenta evolução, com exame neurológico compatível com doença do sistema nervoso periférico com predomínio das alterações motoras sobre as sensitivas, na presença de alterações tróficas em pernas e pés (2ND WORKSHOP OF THE EUROPEAN CMT CONSORTIUM, 1998; GEMIGNANI; MARBINI, 2001; KLEIN; DYCK, 2005). O estudo eletroneuromiográfico deve ser compatível com polineuropatia sensitiva e motora, simétrica de predomínio distal. Utilizando os critérios de HARDING

e THOMAS de 1980, nos casos de CMT2, o padrão eletroneuromiográfico deve sugerir natureza axonal por apresentar velocidade de condução do nervo mediano motor acima de 38 m/s. A biópsia de nervo não foi realizada devido à indisponibilidade deste recurso no Estado onde os pacientes foram avaliados.

3.2.6 Locais em que foram realizadas as investigações

1. Avaliação clínica e neurológica:

Ambulatório de Neurologia do Hospital de Cirurgia Dr. Osvaldo Leite, Aracaju, SE.

Associação dos portadores de Charcot-Marie-Tooth, Tobias Barreto-SE.

2. Estudo neurofisiológico dos indivíduos afetados:

Laboratório de Neurofisiologia - CEMG. Centro de saúde Prof. José Augusto Barreto, sala 507. Aracaju, SE.

3. Estudo de ligação, para localizar o gene responsável por essa forma de CMT2:

Centro de Estudos do Genoma Humano, Instituto de Biociências da USP, São Paulo, SP.

4. RESULTADOS.

4.1 Avaliação clínica.

Foram identificados 139 integrantes da família em estudo, distribuídos em cinco gerações (Figura 1). Trinta e cinco foram definidos como afetados pela doença de CMT por meio de história clínica e exame clínico. Seis indivíduos já falecidos tinham história de deficiência motora sugestiva de CMT, sendo que quatro deles tinham filhos portadores de CMT. Dezesete indivíduos foram classificados como provavelmente afetados; embora apresentassem história clínica bastante sugestiva de CMT, não foram avaliados pelo examinador. Desses, seis têm filhos portadores de CMT. Doze indivíduos avaliados, embora filhos de portadores de CMT, não apresentavam quadro clínico de CMT até o presente momento. Houve apenas um caso de união consanguínea, III-31 e III-32, em que apenas III-32 apresentava sintomas clínicos de CMT.

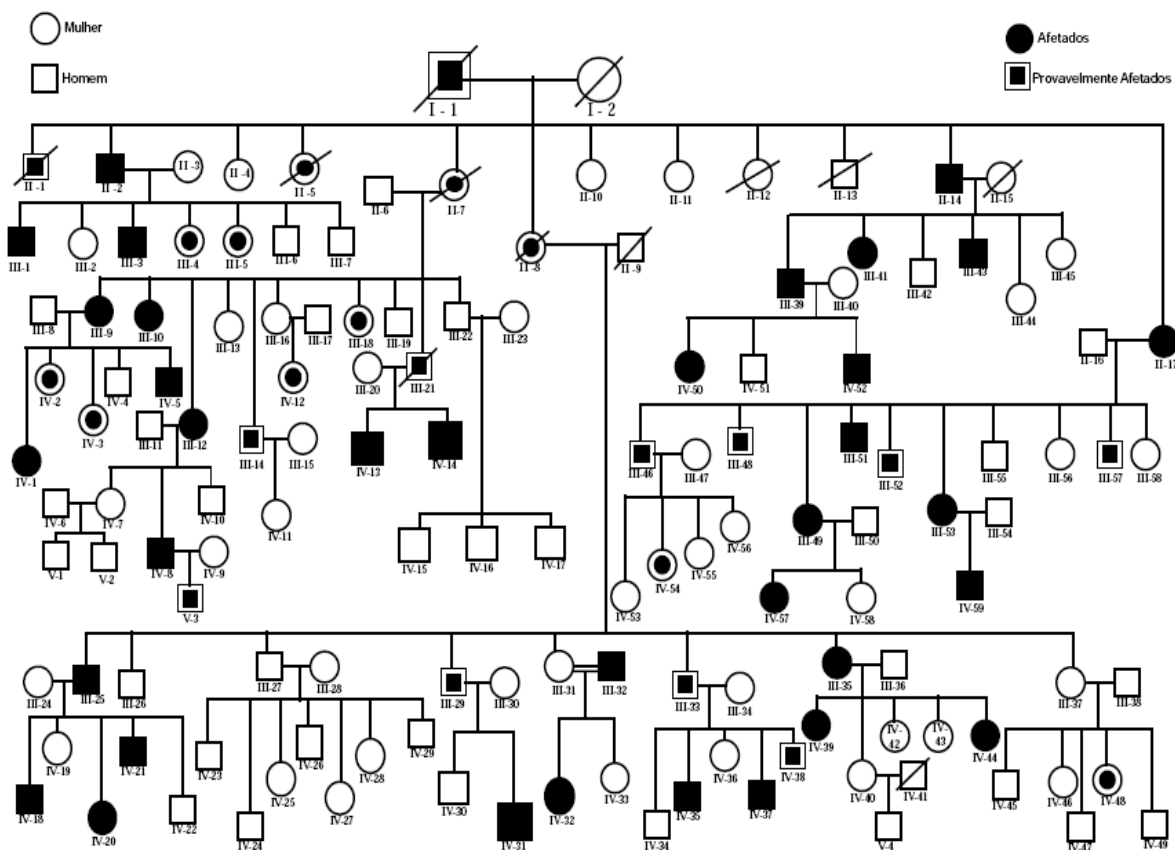


Figura 1 - Heredograma da família com CMT2 que foi investigada neste estudo. Círculo = mulher; quadrado = homem; símbolo aberto = não afetado; símbolo preenchido = afetado; símbolo parcialmente preenchido = provavelmente afetado; símbolo cortado = falecido.

Dos trinta e cinco portadores de CMT que foram avaliados, trinta (quinze do sexo feminino) concluíram toda investigação clínica e foram incluídos neste estudo. Os pacientes apresentavam idade que variava entre 3 a 75 anos, dos quais nove tinham até 13 anos. A idade de início da doença apresentou grande variação, com manifestação na primeira década de vida em quatorze pacientes da IV e V geração e manifestação na segunda ou terceira década de vida em seis pacientes da III geração (Tabela 1). Observamos, nos dois pacientes da V geração, V-3 e V-4, início do quadro clínico, manifestado através de quedas frequentes e dificuldade para correr, já aos 3 anos de idade. Quatro pacientes não reconheciam apresentar quaisquer déficits. Em crianças, quedas frequentes foram as alterações referidas como primeiro sinal da doença. Nos adolescentes e adultos, dificuldade para correr foi considerada como manifestação inicial da doença. Não foram relatadas dores neuropáticas. Todos os pacientes que relataram espontaneamente dores em membros inferiores apresentavam importantes alterações tróficas nos pés. Não houve queixas de déficit auditivo em pacientes abaixo de 55 anos de idade.

Tabela 1 - Início da doença CMT2 por gerações.

INDIVÍDUOS II GERAÇÃO	INÍCIO	INDIVÍDUOS III GERAÇÃO	INÍCIO	INDIVÍDUOS IV GERAÇÃO	INÍCIO	INDIVÍDUOS V GERAÇÃO	INÍCIO
II- 14	53 anos	III- 39	16 anos	IV-14	7 anos	V- 3	3 anos
II- 2	40 anos	III- 51	5 anos	IV-8	9 anos	V-4	3 anos
		III- 10	12 anos	IV- 13	5 anos		
		III- 9	14 anos	IV-31	9 anos		
		III- 49	37 anos	IV-44	6 anos		
		III- 12	10 anos	IV-32	10 anos		
		III- 35	30 anos	IV-39	6 anos		
		III- 25	30 anos	IV-5	13 anos		
		III- 14	14 anos	IV-59	5 anos		
		III- 41	7 anos	IV-50	6 anos		
				IV-52	8 anos		
				IV-14	15 anos		
				IV-57	12 anos		
				IV-20	8 anos		
				IV-18	19 anos		
				IV-54	7 anos		

Exame neurológico: Os achados clínicos estão resumidos no Quadro 2. Todos os pacientes deambulavam sem auxílio de órteses ou andadores, exceto os pacientes III-10 e III - 41, que já apresentavam importante prejuízo da marcha, e apenas conseguiam deambular com auxílio de andador. Os irmãos IV-13 e IV-14 apresentavam grande alteração do equilíbrio, com marcha bastante alterada, porém conseguiam deambular sem auxílio. Estes são sobrinhos da paciente III-10, e todos neste núcleo familiar apresentam uma forma mais grave de CMT, com presença de piramidalismo associado. Piramidalismo, aqui descrito como reflexos exaltados e presença de sinal de Babinski, estava presente em 14 pacientes, sendo bilateral em nove deles. Nenhum dos sujeitos apresentava espasticidade. Atrofia em membros inferiores estava presente em 23 pacientes (76 %) e atrofia acometendo mãos em 19 dos indivíduos (63 %). A atrofia estava restrita até o terço distal das pernas nos membros inferiores e em mãos nos membros superiores, exceto nos pacientes III-10, III-14, IV-8, IV-44, IV-52, IV-57 e II-14, que apresentavam atrofia também em antebraço, e IV-13 e IV-14, nos quais a atrofia atingia braços. Nenhum dos pacientes apresentava grau de atrofia maior em membros superiores quando comparados aos membros inferiores. Aumento da concavidade dos pés estava presente em 21 pacientes (70 %). Pés planos foram observados em 6 indivíduos. Paresia do tibial anterior foi a anormalidade clínica mais constante, estando presente em 28 pacientes (93 %). Apenas dois pacientes não apresentavam paresia do tibial anterior: II-2 e V-3, tendo este último sido avaliado com somente 6 anos de idade. Todos os pacientes, exceto V-4

e o V-3, em que, devido à baixa idade, não foi possível avaliação adequada, apresentavam redução da sensibilidade superficial e profunda em porções distais dos membros inferiores.

Hipoestesia dolorosa e vibratória foram identificadas também em dedos das mãos em 16 pacientes. As alterações vistas nos reflexos tendinosos, foram mais evidentes no reflexo aquileu. Treze pacientes apresentavam abolição do reflexo aquileu bilateralmente. Os pacientes IV-44, III- 51, IV-50 e III-10 apresentam reflexos exaltados. Os demais pacientes tinham reflexos aquileus normais. Os pacientes IV-13, IV-14, IV-44, IV-5, IV-57, III-14 e III-10 apresentavam reflexos patelares exaltados. Não foram vistos sinais adicionais outros, tais como paresia diafragmática e de corda vocal, escoliose, tremor, pupila de Adie, neurite óptica e ulcerações em região plantar.

Quadro 2 - Avaliação clínica dos pacientes com CMT2.

Paciente	Idade (anos)	Início (anos)	Deambula	Atrofia	Pes cavus	Sinais Piramidais	Paresia de Tibial anterior	Reflexo aquileu	Sensibilidade *
II – 2	75	40	sim	não	Não		não	Presentes	Reduzida
II – 14	74	53	sim	mãos e pernas	Sim		sim	Ausente	Reduzida
III – 9	46	14	sim	mãos e pernas	Sim		sim	Ausente	Reduzida
III – 10	48	12	não	mãos e pernas	Não	bilateral	sim	Exaltados	Reduzida
III – 12	51	10	sim	mãos e pés antebraços e pernas	Não		sim	Ausente	Reduzida
III – 14	36	14	sim	mãos e pés	Sim		sim	Presentes	Reduzida
III – 25	47	30	sim	mãos e pés	Não		sim	Presente	Reduzida
III – 35	41	30	sim	mãos e pés	Não	bilateral	sim	Presente	Reduzida
III – 39	44	16	sim	pernas	Sim		sim	Ausente	Reduzida
III – 41	45	7	auxílio	mãos e pernas	Sim		sim	ausentes	Reduzida
III – 49	43	37	sim	não	Não		sim	presente	Reduzida
III – 51	37	5	sim	não	Sim		sim	exaltado	Reduzida
IV – 1	23	15	sim	não	Sim		sim	presente	Reduzida
IV – 5	18	13	sim	mãos e pernas	Sim	bilateral	sim	ausente	Reduzida
IV – 8	28	9	sim	pernas	Sim		sim	ausente	Reduzida
IV – 13	13	5	sim	pés e mãos	Sim	bilateral	sim	ausente	Reduzida
IV – 14	12	7	sim	mãos e pernas	Não	direita	sim	ausente	Reduzida
IV -18	19	19	sim	não	Sim	direita	sim	presentes	Reduzida
IV – 20	13	8	sim	mãos e pernas	Sim	bilateral	sim	presente	Reduzida
IV – 31	11	9	sim	pernas	Sim		sim	ausente	Reduzida
IV – 32	16	10	sim	pernas	Sim	bilateral	sim	presente	Reduzida
IV – 39	7	6	sim	mãos e pés	Sim	esquerda	sim	presente	Reduzida
IV – 44	11	6	sim	mãos e pernas	Sim	bilateral	sim	exaltado	Reduzida
IV – 50	13	6	sim	mãos e pernas	Sim	bilateral	sim	exaltado	Reduzida
IV – 52	11	8	sim	mãos e pernas	Sim	bilateral	sim	ausente	Reduzida
IV- 54	20	7	sim	pés e mãos	Sim		sim	ausentes	Reduzida
IV – 57	14	12	sim	mãos e pés	Sim	direita	sim	presente	Reduzida
IV – 59	10	5	sim	mãos e pés	Sim	esquerda	sim	presente	Reduzida
V- 3	6	3	sim	não	Não		não	ausente	
V – 4	3	3	sim	não	Não		sim	presente	

Legenda: CMTNS: escore neuropatia Charcot-Marie-Tooth. TA: tibial anterior.

* sensibilidade superficial-dolorosa e profunda-vibratória.

4.2 Padrão de transmissão.

Esta família apresenta uma forma de CMT com transmissão autossômica dominante, como pode ser visto no heredograma. A presença de transmissão pai-para-filho descarta a possibilidade de CMT ligado ao X (BARISIC *et al.*, 2008).

4.3 Investigação Neurofisiológica: Eletroneuromiografia.

Foi realizada eletroneuromiografia (ENMG) em 26 indivíduos, 22 dos quais apresentavam clínica de CMT, e quatro eram filhos de portadores dessa condição. Esses últimos, embora apresentassem exame físico normal, tinham queixas clínicas mal definidas, e a ENMG revelou presença de síndrome do túnel do carpo em dois, radiculopatia crônica L5 à direita em um e neuropatia peroneal traumática no último indivíduo. Os achados eletroneuromiográficos estão resumidos na Tabela 2. Todos os 22 pacientes com CMT apresentaram alterações neurofisiológicas compatíveis com neuropatia axonal de predomínio motor e maior acometimento distal, exceto a paciente IV - 39. O achado neurofisiológico mais consistente foi a redução das amplitudes dos potenciais de CMAPs. Os nervos peroneais foram os que apresentaram maiores reduções dos CMAPs. Dos 22 pacientes, nove apresentaram ausência de resposta motora distal ou inexcitabilidade

dos nervos peroneais, e o restante, exceto os pacientes IV-20, IV - 39 e III-49, redução dos CMAPs. Velocidade de condução motora estava levemente reduzida apenas em dez dos 22 pacientes. A menor velocidade de condução do nervo mediano foi de 46 m/s, vista no paciente IV-14. As latências motoras distais não apresentaram grandes alterações. No estudo da condução sensitiva, também a redução dos SNAPs foi o achado mais frequente, principalmente nos nervos surais. Apenas os pacientes IV- 39, IV-50 e IV-32 não demonstraram alterações da neurocondução sensitiva. A eletromiografia com agulha concêntrica demonstrou estar anormal em doze pacientes. O achado mais constante foi redução do padrão de recrutamento das unidades motoras, vistas nos músculos extensor curto dos dedos e tibial anterior.

Tabela 2 - Estudo neurofisiológico de pacientes com CMT2.

Paciente	Idade	Lado D/E	Mediano Motor Amp. / CV	Ulnar Motor Amp. / CV	Peroneal Motor Amp. / CV	Tibial motor Amp. / CV	Mediano Sensitivo Amp./CV	Ulnar sensitivo Amp. / CV	Sural sensitivo Amp. / CV	Onda-F Ulnar
II - 14	73	D	Inexc.	3.7 / 56	inexc.	Inexc.	6.1 / 48	NO	NO	28.9
		E	Inexc.		inexc.	Inexc.		NO	NO	
III - 14	36	D		1.2 / 58	inexc.	Inexc.		4 / 51	4.0 / 47	
		E			inexc.	Inexc.			3.0 / 43	
III - 25	47	D	Inexc.	5.0 / 51	1.5 / 45	1.1 / 47	13 / 54	NO	4.0 / 45	29.8
		E			0.4 / 37	0.9 / 49			3.0 / 51	
III - 35	41	D	1.1 / 50		1.4 / 49	5.7 / 41	33 / 61		3.0 / 48	
		E			0.6 / 52	2.4 / 48			3.0 / 44	
III - 41	41	D	Inexc.	1.8 / 52	inexc.	Inexc.	14 / 53	7.0 / 56	2.0 / 46	30.3
		E	Inexc.	2.7 / 39	inexc.	Inexc.	26 / 52	9.0 / 57	2.0 / 42	
III - 49	43	D	6.5 / 53	8.2 / 61	3.6 / 36	5.1 / 46		18 / 54	4.0 / 44	
		E			3.8 / 34	4.5 / 44			NO	
IV - 5	18	D	Inexc.	7.2 / 58	0.9 / 35	1.5 / 37		4.0 / 58	NO	
		E			0.2 / 32	0.9 / 43			NO	
IV - 8	28	D	Inexc.	0.4 / 46	inexc.	Inexc.	NO		2.5 / 43	
		E	Inexc.		inexc.	Inexc.	NO		2.6 / 39	
IV - 13	13	D	Inexc.	0.2 / 46	0.6 / 43	0.3 / 49	NO	NO	2.3 / 44	
		E			0.9 / 41	0.3 / 37			2.6 / 49	
IV - 14	12	D	0.2 / 46		0.8 / 47	1.5 / 49	NO		3.6 / 45	
		E			0.1 / 45	2.1 / 41			3.0 / 52	
IV - 18	19	D	9.9 / 56		2.1 / 45	11.1 / 50	12 / 53	7 / 47	7.0 / 47	
		E			1.4 / 40	15.1 / 51			8.0 / 46	
IV - 20	13	D	0.2 /	2.4 / 54	4.2 / 45	4.0 / 43	43 / 50	36 / 61	2.4 / 40	32.8
		E	2.6 / 50		3.0 / 45	5.5 / 43			1.5 / 40	
IV - 31	11	D	4.3 / 53		2.1 / 45	12.2 / 48			7.0 / 46	
		E			2.1 / 44	10.0 / 48			4.6 / 50	
IV - 32	15	D			1.9 / 46	7.5 / 43			10.2 / 47	
		E			1.7 / 49	8.2 / 41			9.6 / 42	
IV - 39	7	D		5.8 / 58	3.1 / 52	6.2 / 47		20 / 52	14.0 / 50	
		E			4.1 / 48	7.4 / 58			12.0 / 44	
IV - 44	16	D	Inexc.	Inexc.	2.0 / 40	2.2 / 45		1.9 / 47	6.0 / 53	
		E			Inexc.	3.3 / 45			4.0 / 48	
IV - 50	12	D	3.6 / 56		1.2 / 37	6.8 / 40	NO	23 / 53	13.0 / 43	
		E			2.5 / 44	6.6 / 45			12.1 / 43	
IV - 52	10	D			1.3 / 40	2.3 / 42			5.1 / 42	
		E			1.2 / 40	1.9 / 40			6.2 / 43	
IV - 54	20	D		2.0 / 52	0.1 / 37	3.0 / 39	29 / 48	20 / 48	8.0 / 42	
		E			Inexc.	1.3 / 38			7.0 / 42	
IV - 57	14	D	0.2 / 53	1.9 / 63	Inexc	4.5 / 43		11 / 54	6.0 / 50	
		E			0.6 / 37	2.4 / 36			8.0 / 47	
IV - 59	9	D	5.1 / 51		1.4 / 42	9.4 / 48			5.4 / 41	
		E			1.6 / 40	9.1 / 46			5.6 / 40	
V - 3	6	D			1.9 / 45	10.2 / 43			8.0 / 50	
		E			2.1 / 41	10.8 / 43			8.2 / 50	

Legenda: Valores de referência: Dumitru, 1995. Amp.= amplitude, VC= velocidade condução. E= esquerdo. D= direito. NO: não obtido. Inexc.: inexcitável. Em negrito valores anormais.

4.4 Aplicação do CMTNS.

O CMTNS foi aplicado em 21 pacientes e pode ser melhor visto nas Tabelas 3 e 4. Os pacientes apresentaram variação de 6 a 26 pontos. Dos 21 pacientes, cinco apresentavam leve incapacidade (escore até 10). Eram eles: IV-32, IV-39, III-49, IV-54 e IV-59. Os pacientes IV-50, IV-57, IV-52, IV-5, IV-44, IV-18, III-35, IV-20, IV-8, II-14 e III-25 apresentavam moderada incapacidade (escore entre 11 e 20). Os pacientes IV-13, IV-14, III-41, III-14 e III-10 com incapacidade acentuada ou grave (escore > 21). A média do escore na III geração foi de 17,16 pontos (variação de 6 a 26 pontos). Na IV geração a média foi de 13,9 pontos (variação de 6 a 25 pontos). Embora a pontuação média seja maior na III geração, o tempo de evolução da doença também foi bem maior na III geração, aproximadamente 21 anos na III geração e 7 anos na IV geração.

Tabela 3 – Aplicação do CMTNS em pacientes com CMT2.

PACIENTE ID	IDADE	ESCORE	TEMPO DE INÍCIO CMT
II - 14	75	18	35 anos
III - 10	48	26	36 anos
III - 14	36	22	22 anos
III - 25	47	16	17 anos
III - 35	41	12	11 anos
III - 41	45	21	37 anos
III - 49	43	6	6 anos
IV - 5	18	13	5 anos
IV - 8	28	16	19 anos
IV - 13	13	25	8 anos
IV - 14	12	23	5 anos
IV - 18	19	11	Nega sintomas
IV - 20	13	12	5 anos
IV - 32	16	9	6 anos
IV - 39	7	6	1 ano
IV - 44	11	17	5 anos
IV - 50	13	11	7 anos
IV - 52	11	14	3 anos
IV - 54	20	10	13 anos
IV - 57	14	14	2 anos
IV - 59	10	9	5 anos

Número total: 21 pacientes realizaram CMTNS. Média idade: 25.66 ANOS.

Média escore: 14.8 pontos

Variação: Mínimo: 06
Máximo: 26

Classificação: Leve: 5 pacientes
Moderado: 11 pacientes
Grave: 5 pacientes

Tabela 4 - Início da doença x tempo de evolução x CMTNS.

	II GERAÇÃO	III GERAÇÃO	IV GERAÇÃO	V GERAÇÃO
MÉDIA IDADE		43,33 anos	14,63 anos	
VARIAÇÃO DA IDADE		36 a 48 anos	7 a 28 anos	
MÉDIA IDADE INÍCIO	46,5 anos	17,5 anos	9,06 anos	3 anos
VARIAÇÃO IDADE INÍCIO	40 a 50 anos	5 a 37 anos	5 a 19 anos	3 anos
MÉDIA DE ANOS COM A DOENÇA		21,5 anos	7 anos	
MÉDIA ESCORE CMTNS		17,16	13,91	
VARIAÇÃO ESCORE CMTNS		6 a 26	6 a 25	

4.5 Avaliação genético-molecular: Estudo de ligação.

O estudo de ligação demonstrou não haver ligação dos membros desta família com todos os *loci* já descritos para CMT2, o que exclui também o gene *MFN2*, que codifica a proteína mitofusina, a forma mais frequente de CMT2 de herança dominante.

5. DISCUSSÃO.

Charcot-Marie-Tooth é um grupo geneticamente heterogêneo de neuropatias hereditárias ocorrendo com a mais alta prevalência dentre as doenças neurológicas geneticamente determinadas. A doença de CMT do tipo 1 é a forma mais frequente, correspondendo a aproximadamente 60 % (BARISIC *et al.*, 2008) de todos os casos de CMT. A doença de CMT2, a segunda mais frequente, apresenta maior heterogeneidade genética em relação à CMT1. Nas duas últimas décadas, a CMT2 vem despertando grande interesse devido à descoberta de vários loci e genes a ela relacionados (NICHOLSON, 2006). Atualmente, a CMT2 possui nove genes identificados e quatro loci sem gene conhecido. A presença de algumas características fenotípicas pode sugerir o envolvimento de determinado gene, porém somente um estudo molecular permitirá confirmar qual o gene ou locus envolvido.

Estudamos uma família multigeracional, provavelmente a maior já descrita no Brasil, com 35 portadores de CMT2 com transmissão autossômica dominante. O estudo incluiu a descrição dos aspectos clínicos, visando à caracterização fenotípica dos indivíduos afetados dessa família, descrição dos achados eletroneuromiográficos e o estudo genético-molecular. A presença de indivíduos acometidos pela doença CMT em cinco gerações permitiu a coleta de várias amostras de sangue para extração do DNA e realização do estudo de ligação.

Trinta indivíduos que apresentavam história clínica e exame físico compatíveis com CMT completaram integralmente o estudo clínico. Dezesesseis destes indivíduos são da IV geração. Embora não seja

amplamente aceita a existência de fenômeno de antecipação na doença de CMT, nesta família em especial, observamos início da doença mais precoce e com maior gravidade nos indivíduos das gerações mais recentes, fato já observado por outros autores (KOVACH *et al.*, 2002; STEINER *et al.*, 2008). Esta possível antecipação, que, no momento, representa a principal preocupação dos familiares, pode ser justificada pelo início da doença mais precoce nos afetados da IV geração e pela presença de maior incapacidade nesses indivíduos. Fatores que poderiam contribuir para uma falsa idéia de antecipação seriam: (1) o acesso mais fácil e mais precoce aos indivíduos da IV geração, devido ao maior esclarecimento a respeito da doença por parte do nosso grupo, e (2) a própria variabilidade na expressão fenotípica, já tão descrita nos portadores de CMT (MARQUES *et al.*, 1999). Quanto ao acesso mais fácil das gerações IV e V, pesa o argumento de que eles deveriam ter um quadro clínico mais brando, já que estariam em fase precoce da doença. No entanto, a avaliação da gravidade da doença por meio do CMTNS demonstrou que dez indivíduos da geração IV já apresentam escore elevado. A IV geração, que apresenta uma média de sete anos de evolução da doença, já demonstra uma média de 13,9 pontos no CMTNS, considerado incapacidade moderada. A III geração, com média de evolução da doença de 21,5 anos, apresenta média de CMTNS um pouco mais alta, 17,1 pontos, também considerado incapacidade moderada. Portanto, embora não se possa afirmar que exista fenômeno de antecipação nessa família, podemos constatar que, nos indivíduos da IV geração, a doença se manifesta mais precocemente e com evolução mais grave

quando comparada com a III geração. A avaliação dos indivíduos das gerações V e VI poderá contribuir para esclarecer a questão.

Por definição, a doença de CMT apresenta sintomas sensitivos menos proeminentes que as alterações motoras. Dor neuropática e outros sintomas sensitivos positivos em geral não têm sido encontrados em famílias com CMT (KLEIN; DYCK, 2005). Diferentemente dos achados de CARTER em 1998 (GEMIGNANI *et al.*, 2004), que demonstrou que aproximadamente 71 % dos indivíduos avaliados apresentavam sintomas sensitivos positivos, incluindo dor neuropática, nenhum dos indivíduos avaliados nessa família apresentou dor neuropática. Quando presentes, as queixas sensitivas eram compatíveis com dores nociceptivas, na maioria das vezes de aparecimento tardio e, provavelmente, decorrentes das deformidades osteomusculares. Este mesmo achado foi também observado por PADUA (PADUA *et al.*, 2008).

As alterações tróficas vistas em pés, pernas e mãos dos indivíduos da família em estudo, são típicas de doença de CMT. Atrofias em segmentos proximais de membros superiores e inferiores foram vistas em poucos casos, justamente aqueles que apresentavam maior incapacidade. Os músculos inervados pelo nervo peroneal foram de fato os mais fracos e atróficos nos membros inferiores; nos membros superiores os interósseos da mão e músculos da região ténar foram os mais comprometidos. A presença de aumento da concavidade dos pés, tão característico da doença de CMT, esteve ausente em um terço dos pacientes dessa família.

A avaliação dos reflexos tendinosos identificou indivíduos com arreflexia e também com reflexos exaltados. Provavelmente a baixa prevalência de arreflexia distal neste grupo de pacientes seja decorrente do acometimento de vias do sistema nervoso central, o que é reforçado pela presença do sinal de Babinski em alguns desses indivíduos. Nesses casos, embora a neuropatia tenda a levar a redução de reflexos tendinosos, o acometimento de vias piramidais poderia contribuir com exaltação dos reflexos, causando um resultado final de manutenção, aparente, dos reflexos tendinosos.

A presença de piramidalismo, com sinal de Babinski e hiperreflexia, mas sem espasticidade, tem sido descrita em várias outras famílias com CMT (HARDING; THOMAS, 1980; GEMIGNANI; MARBINI, 2001; VUCIC *et al.*, 2003; Zhu *et al.*, 2005). O que diferencia CMT2 com piramidalismo e CMTV (ou HMSNV) é a presença de espasticidade, obrigatória neste último. VUCIC encontrou CMT com piramidalismo em 9 % das famílias por ele estudadas e, por meio de estudo de ligação, demonstrou que a presença de CMT com sinal de Babinski era geneticamente distinta de todas as formas conhecidas de CMT2 (VUCIC *et al.*, 2003). Entretanto, em algumas famílias com CMT2 por mutação da mitofusina, encontram-se indivíduos com piramidalismo. Na família em estudo, observamos a presença de piramidalismo em 46 % dos indivíduos, que por sua vez apresentavam maior incapacidade física. Provavelmente a maior incapacidade desses pacientes não seria explicada pelo acometimento do sistema nervoso central responsável pelo piramidalismo

e, sim, porque nesses pacientes observamos uma progressão mais acentuada da atrofia, atingindo músculos proximais dos membros superiores e inferiores. Levando-se em consideração que a maior incapacidade física na doença de CMT está relacionada ao maior contingente de fibras nervosas em processo de degeneração axonal e ao acometimento de segmentos proximais, podemos concluir que esses pacientes que apresentam piramidalismo e atrofia em segmentos proximais são acometidos por CMT que apresenta uma expressão fenotípica mais agressiva. Esta variabilidade na expressão clínica entre indivíduos da mesma família também é uma característica da CMT.

A avaliação clínica foi compatível com CMT em todos os indivíduos afetados. O exame clínico neurológico, direcionado para doenças neuromusculares, mostrou-se instrumento imprescindível no diagnóstico de CMT. As alterações motoras iniciais foram mais bem identificadas avaliando-se músculos inervados pelo nervo peroneal, tais como extensor curto dos dedos e tibial anterior. A simples solicitação para bater o pé no chão sem levantar o calcanhar podia evidenciar claramente aqueles que apresentavam paresia do músculo tibial anterior e, possivelmente, eram portadores de CMT. Este simples teste foi útil, tendo em vista que a paresia do tibial anterior foi um sinal clínico mais prevalente que a presença de alterações tróficas nos pés nesta população em estudo. O fenótipo descrito nos pacientes desta família é compatível com CMT2 clássica, associada a sinais piramidais. Mutação do *MFN2* poderia ser a causa mais provável da doença nessa família, por ser o local de mutação mais prevalente na CMT

axonal e por causar CMT2 com fenótipo clássico e, ainda, em alguns casos, por apresentar sinais piramidais. No entanto, o estudo de ligação excluiu tal possibilidade.

O estudo da condução motora e sensitiva mostrou-se anormal em todos os indivíduos avaliados, exceto IV-39. Em todos os casos anormais, o estudo da neurocondução foi compatível com neuropatia sensitiva e motora de natureza axonal. A redução das amplitudes dos potenciais de ação motores dos nervos peroneais mostrou ser o achado neurofisiológico mais precoce e mais frequentemente encontrado. Esses achados também se coadunam com as alterações clínicas vistas em fase inicial da doença de CMT. As velocidades de condução sensitiva e motora mostraram-se normais ou levemente reduzidas, indicando o padrão visto nas neuropatias axonais e excluindo a possibilidade de CMT1 e CMT intermediário, de acordo com a classificação proposta por HARDING e DYCK. Muitos pacientes já apresentavam ausência de resposta motora dos nervos peroneais, quando captados no extensor curto dos dedos, em estágios iniciais da doença, ou seja, até cinco anos após o início. O estudo da morfologia dos potenciais de ação das unidades motoras (MUAPs) durante eletromiografia com agulha não mostrou ser de grande ajuda, mesmo quando realizado em músculos distais, tendo em vista que as alterações da neurocondução foram mais precoces e mais específicas em relação à CMT1. O estudo eletroneuromiográfico não demonstrou singularidades quando comparado a outras famílias com CMT2. Ele foi imprescindível no diagnóstico de CMT axonal, diferenciando-a da CMT1. Também, a ENMG forneceu dados que

compõem o CMTNS, traduzindo o estágio da perda axonal em que se encontra determinado indivíduo portador de CMT.

A escolha do CMTNS como forma de avaliar grau de incapacidade foi importante na classificação das formas leves, moderadas e graves. Nas duas formas de CMT, desmielinizante e axonal, os déficits clínicos produzidos pela doença se correlacionam melhor com a perda axonal que ambas acabam por produzir. Então, podemos concluir que todas as formas de CMT causam uma degeneração axonal comprimento-dependente, que é o fator responsável pelos déficits motores e sensitivos. O CMTNS procura avaliar justamente a perda axonal que a doença acaba por determinar com o passar do tempo, tanto em segmentos distais quanto proximais nos membros inferiores e superiores. A reunião de dados que incluem sintomas e sinais clínicos sensitivos e motores vistos no exame em membros inferiores e superiores, associada aos dados da neurocondução sensitiva e motora do nervo mediano ou ulnar, parece ser uma boa estratégia para avaliar a perda axonal tanto nas formas desmielinizantes como nas formas axonais. Como já foi ressaltado antes, a perda de uma função clinicamente avaliada é mais bem correlacionada com a degeneração axonal que com o dano a mielina. Isso é verdadeiro mesmo nas formas primariamente desmielinizantes de CMT. No domínio referente aos dados neurofisiológicos, são avaliadas as amplitudes dos potenciais de ação sensitivos e motores do nervo mediano ou ulnar. As amplitudes dos potenciais de ação sensitivos e motores se correlacionam diretamente com a quantidade de axônios eletricamente preservados que ainda conseguem conduzir o impulso

elétrico. Portanto, todos os parâmetros avaliados durante a aplicação do CMTNS visam identificar e quantificar os danos axonais causados pela doença, que é o que melhor explica as incapacidades que os pacientes acabam por apresentar. Dentre várias maneiras já descritas para avaliar o grau de incapacidade na doença de CMT, esta nos parece a mais próxima de traduzir o real dano causado pela CMT. Embora a maioria das publicações em que foi utilizado o CMTNS tenha avaliado mais casos de CMT1 que CMT2, nosso estudo demonstrou que, mesmo nos casos de CMT2, é possível obter uma boa correlação entre a gravidade da doença e a classificação de acordo com o escore CMTNS. A aplicação do escore é rápida e passível de ser realizada em todos os locais onde possa ser feita avaliação clínica neurológica e estudo da neurocondução, não havendo necessidade de equipamentos mais sofisticados, a exemplo do teste quantitativo sensitivo (QST).

Nos pacientes da família que fez parte deste estudo, não houve correlação direta entre idade do paciente, idade relatada como início da doença e pontuação no CMTNS. Isso possivelmente decorre da variabilidade na expressão clínica, típica da doença de CMT, mesmo entre indivíduos de uma mesma família. Alguns pacientes, ainda adolescentes e com início dos sintomas há menos de dez anos, já apresentavam escore acima de 20 no CMTNS. Outros, já na quinta década de vida e com mais de vinte anos de doença, tinham CMTNS menor que 20.

A estratégia adotada para avaliação genética desta forma de CMT2 foi inicialmente a realização de estudo de ligação para verificar se

havia ligação com os *loci* já descritos para CMT2. Não se detectou ligação com nenhum dos 13 *loci* já descritos para CMT2, o que indica estarmos diante de uma nova forma de CMT2 autossômica dominante. O estudo genético seguirá na tentativa de identificar inicialmente o *locus* envolvido.

6.CONCLUSÕES

Nesta investigação de uma família multigeracional, em que foram estudados 30 indivíduos afetados por CMT2 de herança autossômica dominante, pode-se concluir que:

1. O fenótipo encontrado foi compatível com CMT clássica, tendo no entanto como característica clínica mais distintiva a presença de sinais piramidais, observada em 46 % dos indivíduos avaliados clinicamente. Além disso, encontramos nas gerações mais recentes mais indivíduos com formas graves da doença do que nas primeiras gerações que foram estudadas.
2. O estudo eletroneuromiográfico foi compatível com a presença de polineuropatia sensitiva e motora simétrica de natureza axonal e de predomínio distal. A aplicação do escore de neuropatia de Charcot-Marie-Tooth (CMTNS), que combina dados clínicos e neurofisiológicos, mostrou que 23,8 % dos indivíduos estudados apresentavam forma grave da doença, 52,3 % forma média e 23,8 % forma leve.
3. O estudo genético mostrou que não existe ligação entre o fenótipo observado nesta família e quaisquer dos 13 loci que até o momento foram identificados como estando associados a CMT2, devendo-se desta forma tratar-se de uma nova forma de CMT, o que aumenta ainda mais a heterogeneidade genética desta condição.

ANEXOS:

ANEXO A - Termo de consentimento aprovado pela Comissão de
Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da FMUSP.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE:(.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :SEXO: M F

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA INVESTIGAÇÃO CLÍNICA, NEUROFISIOLÓGICA E GENÉTICA DE DOENÇA DE CHARCOT-MARIE-TOOTH TIPO 2 DE HERANÇA AUTOSSÔMICA DOMINANTE.

PESQUISADOR : .EDUARDO LUIS DE AQUINO NEVES.

CARGO/FUNÇÃO: MÉDICO-NEUROLOGISTA.. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 2.105 (SE)...

UNIDADE DO HCFMUSP: .

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO RISCO MAIOR

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : 02 ANOS

continua

continuação

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

O senhor está sendo convidado a participar da pesquisa científica sobre a doença de Charcot-Marie que causa neuropatia sensitivo-motora hereditária, presente em muitos integrantes da sua família. A doença em questão causa lesão dos nervos das pernas e braços, pode ser transmitida de pais para filhos, e na maioria das vezes tem evolução progressiva. A lesão dos nervos causa fraqueza nas pernas, atrofia nos pés e mãos e dificuldade para andar quando em estágio avançado. A pesquisa tem o objetivo identificar os integrantes da família que já apresentam os primeiros sintomas, estabelecer o grau de comprometimento dos portadores, caracterizar a forma como a doença está sendo transmitida entre os familiares e a identificação genética da causa da doença nesta famílias em particular. Para realização da pesquisa será necessário o exame clínico-neurológico daqueles que apresentam sinais e sintomas sugestivos da doença, e a realização de estudo dos nervos através do exame de eletroneuromiografia. Este exame permite confirmar a existência de lesão dos nervos. O exame é realizado com estimulação dos nervos das pernas e mãos através de pequenos estímulos elétricos -choques elétricos - e com a colocação de eletrodos em agulha descartável em músculos superficiais. A realização deste exame, embora possa ser um pouco desconfortável devido aos choques e agulhadas, não é passível de lesões ou riscos para a saúde. Estes exames serão realizados em laboratório de neurofisiologia na cidade de Aracaju, pelo neurofisiologista Dr. Eduardo Neves. Posteriormente alguns integrantes da família deverão ceder amostras de sangue que serão encaminhadas para análise genética no Centro de Estudos do Genoma Humano, Instituto de Biociências da USP, São Paulo, SP. Aqueles que participarem da pesquisa estarão contribuindo para o diagnóstico mais precoce da doença nos integrantes mais jovens da família, bem como a identificação do defeito genético responsável pelo grande número de casos de Charcot-Marie nesta família.

continua

continuação

ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

1 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr Eduardo Luis de Aquino Neves, que pode ser encontrado no endereço Av. Gonçalo Prado Rollemberg 211, Centro de Saúde Dr. José Augusto Barreto, telefones: 3231-340/ 9982-1466. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

2 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

3 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente;

4 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

5 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

6 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

ANEXO B - CMTNS.

PARÂMETRO	0	1	2	3	4
Sintomas sensitivos	Não	Limitado aos dedos	Acima dos dedos e tornozelo	Estende até joelho	Estende acima joelho
Sintomas motores					
Pernas	Não	Tropear, dedos presos, pés caídos	OT em pelo menos uma perna	Bengala ou cirurgia tornozelo	Cadeira de roda > parte do tempo
Braços	Não	Dificuldade com botões e zíperes	Incapaz botões e zíperes mas escreve	Não escreve ou usa teclado	Proximal braços
Sensibilidade Dor	Normal	Reduzida em dedos dos pés e das mãos	Reduzida ao nível de mãos e tornozelos	Reduzida incluindo joelho/cotovelo	Reduzida acima do joelho/cotovelo
Sensibilidade Vibração	Normal	Reduzida em dedos dos pés e das mãos	Reduzida ao nível de mãos e tornozelos	Reduzida incluindo joelho/cotovelo	Reduzida acima do joelho/cotovelo
Força					
Inferiores	Normal	4+,4 ou 4 - dorso flexão pé	< 3 dorso flexão pé	< 3 dorso flexão pé e flexão plantar	Fraqueza proximal
Superiores	Normal	4+,4 ou 4 -nos intrínsecos ou extensão dedos das mãos	< 3 intrínsecos ou extensão dedos das mãos	< 5 extensão da mão	Fraqueza acima cotovelo
Ulnar CMAP ou	> 6 mV	4.0 a 5.9 mV	2.0 a 3.9 mV	0.1 a 1.9 mV	Indeterminado
Mediano CMAP	> 4 mV	2.8 a 3.9 mV	1.2 a 2.7 mV	0.1 a 1.1 mV	Indeterminado
Ulnar SNP ou	> 9 µV	6.0 a 8.9 µV	3.0 a 5.9 µV	0.1 a 2.9 µV	Indeterminado
Mediano SNP	> 22 µV	14.0 a 21.9 µV	7.0 a 13.9 µV	0.1 a 6.9 µV	Indeterminado

Legenda: OT : ortese. CMAP: composto potencial de ação muscular. SNP: potencial de ação sensitivo.
Ref. Shy, 2005.

ANEXO C - Alterações genéticas na CMT.

DOENÇA	GENE	LOCUS
CMT 1 A	PMP 22	17 p 11.2- 12 (duplicação)
CMT 1 B	MPZ / PO	1q22
CMT 1 C	LITAF/ SIMPLE	16p13
CMT 1 D	EGR2	10q21-22
CMT 1 E	PMP22/NEFL	8p21
CMT 1 F	NEFL	
HNPP	PMP - 22	17p11.2-12(deleção)
CMT 2 A	MFN2	1p33-36
	KIF1B	1p33-36
CMT 2 B	RAB7	3q13-q22
CMT 2 C	?	12q23-q24
CMT 2 D	GARS	7 p 15
CMT 2 E	NEFL	8 p 21
CMT 2 F	HSPB1	7q11-q21
CMT 2 G	?	12q12-13.3
CMT 2 H/ K	GDAP1	8q13-21.1
CMT 2 I/ J	MPZ	1q22-23
CMT 2 L	HSPB8 / HSP22	12q24.3
DI- CMT A	?	10q24.1-q25.1
DI – CMT B	DINAMINA 2	19q12-q13.2
DI – CMT C	YARS	1p34-p35
DI – CMT D	MPZ	1q22
CMT X 1	GJB1	X q 13.1
CMT 4 A	GDAP1	8 q 13-21.1
CMT 4 B 1	MTMR 2	11q22
CMT 4 B 2	MTMR13 / SBF2	11p15
CMT 4 C	KIAA1985	5q23-33
CMT 4 D	NDRG1	8q24.3
CMT 4 E	EGR2	10q 21.1-22.17
CMT 4 F	Periaxin	19q13.1-q13.3
CMT 4 G	DESC.	10q23.2
CMT 4 H	?	12p11.21
CMT 4 J	FIG4	6q21

ANEXO D – Pacientes pesquisados com CMT2.

PACIENTES ID	FEZ AVALIAÇÃO CLÍNICA	FEZ ELETROMIOGRAFIA	COLHEU SANGUE
IV – 14	SIM	SIM	
IV – 8	SIM	SIM	
III – 39	SIM		SIM
V- 3	SIM	SIM	
IV – 13	SIM	SIM	
IV – 31	SIM	SIM	SIM
IV – 44	SIM	SIM	SIM
III – 51	SIM		
IV – 32	SIM	SIM	SIM
III – 10	SIM		
III – 9	SIM		SIM
IV – 39	SIM	SIM	SIM
III – 49	SIM	SIM	SIM
IV – 5	SIM	SIM	SIM
IV – 59	SIM	SIM	
III – 12	SIM		
V – 4	SIM		SIM
IV – 50	SIM	SIM	SIM
IV – 52	SIM	SIM	SIM
IV – 1	SIM		SIM
IV – 57	SIM	SIM	SIM
IV- 54	SIM	SIM	
II – 14	SIM	SIM	SIM
IV – 20	SIM	SIM	SIM
III – 35	SIM	SIM	SIM
III – 25	SIM	SIM	SIM
IV -18	SIM	SIM	SIM
II – 2	SIM		
III – 14	SIM	SIM	
III - 41	SIM	SIM	

ANEXO E – Classificação genética das neuropatias hereditárias.

TIPO CMT	PADRÃO TRANSMISSÃO	LOCUS	GENE
CMT1			
CMT1A	AD	17p11.2	<i>PMP22</i>
CMT1B,	AD	1q22-q23	<i>MPZ (P0)</i>
CMT1C	AD	16p13.1-p12.3	<i>LITAF (SIMPLE)</i>
CMT1 (CMT1D),	AD	10q21.1-q22.1	<i>EGR2</i>
CMT1 (CMT1E)	AD	8p21	
CMT2			
CMT2A	AD	1p35-p36	<i>MFN2</i>
CMT2A	AD	1p35-p36	<i>KIF1B</i>
CMT2B	AD	3q13-q22	<i>RAB7</i>
CMT2C	AD	12q23-q24	Desconhecido
CMT2D	AD	7p14	<i>GARS</i>
CMT2E /1F	AD	8p21	<i>NEFL</i>
CMT2F	AD	7q11-21	<i>HSPB1 (HSP27)</i>
CMT2G	AD	12q12-q13.3	Desconhecido
CMT2 H		8q21	Desconhecido
CMT2I/J	AD	1q22-q23	<i>MPZ</i>
CMT2 K			<i>GDAP1</i>
CMT2 L	AD	12q24	<i>HSPB8</i>
CMT3			
(Dejerine-Sottas)	AD	8qter	Desconhecido
CMT4			
CMT4A	AR	8q13-q21	<i>GDAP1</i>
CMT4B2	AR	11p15	<i>SBF2 (MTMR13)</i>
CMT4B1	AR	11q23	<i>MTMR2</i>
CMT4C	AR	5q23-q33	<i>SH3TC2 (KIAA1985)</i>
CMT4D (HMSN-L)	AR	8q24	<i>NDRG1</i>
CMT4E (CHN)	AR	10q21.1-q22.1	<i>EGR2</i>
CMT4F (DSS)	AR	19q13.1-q13.3	<i>PRX</i>
CCFDN	AR	18q23-qter	<i>CTDP1</i>
CMT4G (HMSN-R)	AR	10q23	Desconhecido
CMT4H	AR	12p11.1-q13.11	<i>FGD4</i>
CMT4J	AR	6q21	<i>FIG4</i>
DI-CMT			
DI-CMTA	AD	10q24.1-q25.1	Desconhecido
DI-CMTB	AD	19p12-p13.2	<i>DNM2</i>
DI-CMTC	AD	1p34-p35	<i>YARS</i>
DI-CMT	AD	1q22-q23	<i>MPZ</i>
CMTX			
CMTX ou CMT1X	XR	Xq13.1	<i>GJB1 (Cx32)</i>
CMT2X	XR	Xq24-q26	Desconhecido
CMT3X	XR	Xp22.2	Desconhecido
CMT4X	XR	Xq26-q28	Desconhecido
CMTX5	XR	Xq21.32-q24	<i>PRPS1</i>

continua

Continuação.

TIPO CMT	PADRÃO TRANSMISSÃO	LOCUS	GENE
Distal HMN			
distal HMN II	AD	12q24	<i>HSPB8 (HSP22)</i>
distal HMN V	AD	7p	<i>GARS</i>
distal HMN VI	AR	11q13-q23	<i>IGHMBP2</i>
distal HMN VIIA	AD	2q14	Desconhecido
distal HMN VIIB	AD	2p13	<i>DCTN1</i>
distal HMN / ALS4	AD	9q34	<i>ALS4 (SETX)</i>
distal HMN-Jerash-type	AR	9p21.1-p12	Desconhecido
congenital distal SMA	AD	12q23-q24	Desconhecido
distal HMN / Silver syndrome (SPG17)	AD	11q13	<i>BSCL2</i>
HMN distal X	AR	Xq13.1-q21	Desconhecido
FOCAL			
RECORRENTE			
HNPP	AD	17p11.2	<i>PMP22</i>
HNA	AD	17q25	<i>SEPT9</i>
HS(A)N			
HS(A)N I	AD	9q22	<i>SPTLC1</i>
HS(A)N II	AR	12p13.33	<i>HSN2</i>
HS(A)N III	AR	9q31-q33	<i>IKBKAP</i>
HS(A)N IV / V	AR	1q21-q22	<i>NTRK1 (TRKA)</i>
HSAN V	AR	1p13.1	<i>NGFB</i>
HSN I + tosse + refluxo gastroesofágico	AD	3p22-p24	Desconhecido

Fonte: Barisic et al.2008

Legenda: AD: autossômica dominante. AR: autossômica recessiva.

DI-CMT: CMT intermediária. CMTX: CMT ligado ao cromossomo X.

HMN: neuropatia motora hereditária.

HNPP: neuropatia hereditária com susceptibilidade à compressão.

HNA: neuropatia hereditária autonômica.

HSAN: neuropatia autonômica-sensitiva hereditária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

Aboussouan LS, Lewis RA. Disorders of Pulmonary Function, Sleep, and the Upper Airway in Charcot-Marie-Tooth Disease. *Lung*. 2007;185:1-7.

Baloh RH; Schmidt RE; Pestronk A; Milbrandt J. Altered axonal mitochondrial transport in the pathogenesis of Charcot-Marie-Tooth disease from mitofusin 2 mutations. *J Neurosci*. 2007;27(2):422-30.

Banchs I; Casasnovas C; Montero J; Martínez-Matos JA; Volpini V. Two Spanish families with Charcot-Marie-Tooth type 2A: clinical, electrophysiological and molecular findings. *Neuromuscul Disord*. 2008;18(12):974-8.

Barisic N; Claeys KG; Sirotkovic-Skerlev M; Löfgren A; Nelis E; De Jonghe P; Timmerman V. Charcot-Marie-Tooth disease: a clinico-genetic confrontation. *Ann Hum Genet*. 2008;72(Pt 3):416-41.

Berger P; Young P; Suter U. Molecular cell biology of Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurogenetics*. 2002;4(1):1-15.

Bienfait HME; Baas F; Koelman JHTM; Van Engelen BGM; Gabreels-Festen AAWM; Ongerboer BW; Meggouh F; Weterman MAJ; De Jonghe P; Timmerman V; Visser M. Phenotype of Charcot-Marie-Tooth type 2. *Neurology*. 2007;68:1658-1667.

Brockmann K; Dreha-Kulaczewski S; Dechent P; Bönnemann C; Helms G; Kyllerman M; Brück W; Frahm J; Huehne K; Gärtner J; Rautenstrauss B. Cerebral involvement in axonal Charcot-Marie-Tooth neuropathy caused by mitofusin2 mutations. *J Neurol*. 2008;255(7):1049-58.

Chung KW; Kim SB; Park KD; Choi KG; Lee JH; Eun HW; Suh JS; Hwang JH; Kim WK; Seo BC; Kim SH; Son IH; Kim SM; Sunwoo IN; Choi BO. Early onset severe and late-onset mild Charcot-Marie-Tooth disease with mitofusin 2 (MFN2) mutations. *Brain*. 2006;129(Pt 8):2103-18.

Davis CJF; Bradley WG; Madrid R. The Peroneal Muscular Atrophy Syndrome. Clinical, genetic electrophysiological and nerve biopsy studies. *J. Génét. Hum*. 1978;26(4):311-49.

Del Bo R; Locatelli F; Corti S; Scarlato M; Ghezzi S; Prella A; Fagiolari G; Moggio M; Carpo M; Bresolin N; Comi GP. Coexistence of CMT-2D and distal SMA-V phenotypes in an Italian family with a GARS gene mutation. *Neurology*. 2006;66(5):752-4.

Del Bo R; Moggio M; Rango M; Bonato S; D'Angelo MG; Ghezzi S; Aioldi G; Bassi MT; Guglieri M; Napoli L; Lamperti C; Corti S; Federico A; Bresolin N; Comi GP. Mutated mitofusin 2 presents with intrafamilial variability and brain mitochondrial dysfunction. *Neurology*. 2008;71(24):1959-66.

Dematteis M; Pepin JL; Jeanmart M; Deschaux C; Labarre-Vila A; Levy P. Charcot-Marie-Tooth disease and sleep apnoea syndrome: a family study. *Lancet*. 200;357:267-72.

Dumitru D. Generalized Peripheral Neuropathies. In: *Electrodiagnostic medicine*. Philadelphia. Hanley & Belfus. 1995. cap. 17:741-848.

Dumitru D. Nerve conduction studies. In: *Electrodiagnostic medicine*. Philadelphia. Hanley & Belfus, 1995. cap. 4:111-170.

Dyck PJ; Klein CJ. HMSN II(CMT2) and Miscellaneous Inherited System Atrophies of Nerve Axon: Clinical-Molecular Genetic Correlates. In: *Peripheral Neuropathy*. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005. 4th ed. p.1717-1744.

Dyck PJ; Litchy WJ; Minnerath S; Bird T; Chance PF; Schaid DJ; Aronson AE. Hereditary Motor and Sensory Neuropathy with Diaphragm and Vocal Cord Paresis. *Ann Neurol*. 1994;35:608-615.

Dziewas R; Waldmann N; Böntert M; Hor H; Müller T; Okegwo A; Ringelstein EB; Young P. Increased prevalence of obstructive sleep apnoea in patients with Charcot-Marie-Tooth disease: a case control study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79(7):829-31.

Engelfried K; Vorgerd M; Hagedorn M; Haas G; Gilles J; Epplen JT; Meins M. Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A: novel mutations in the mitofusin 2 gene (MFN2). *BMC Med Genet*. 2006;7:53.

Gemignani F; Marbini A. Charcot-Marie-Tooth disease (CMT): distinctive phenotypic and genotypic features in CMT type 2. *J Neurol Sci.* 2001;184(1):1-9.

Gemignani F; Melli G; Alfieri S; Inglese C; Marbini A. Sensory manifestations in Charcot-Marie-Tooth disease. *J Peripher Nerv Syst.* 2004;9(1):7-14.

Harding AE; Thomas PK. Genetic aspects of hereditary motor and sensory neuropathy(types I and II). *J. Med. Genet.* 1980b;17:329-336.

Harding AE; Thomas PK. The clinical features of hereditary motor and sensory neuropathy types I and II. *Brain.*1980;103, 259-280.

Ionasescu V; Searby C; Sheffield VC; Roklin T; Nishimura D; Ionasescu R. Autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth axonal neuropathy mapped on chromosome 7p(CMT2D). *Hum Mol Genet.* 1996;5(9):1373-5.

Kijima K; Numakura C; Izumino H; Umetsu K; Nezu A; Shiiki T; Ogawa M; Ishizaki Y; Kitamura T; Shozawa Y; Hayasaka K. Mitochondrial GTPase mitofusin 2 mutation in Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. *Hum Genet.* 2005;116(1-2):23-7.

Kimura J. *Electrodiagnosis in diseases of nerve and muscle: principles and practice.* Ed.3.Oxford University Press. 2001.

Klein CJ, Dyck P.J. HMSN II(CMT2) and Miscellaneous Inherited System Atrophies of Nerve Axon: Clinical-Molecular Genetic Correlates. In: *Peripheral Neuropathy. Fourth Edition.* 2005; vol 2; 73:1717-1752.

Klein CJ, Dyck PJ / Genetic testing in inherited peripheral neuropathies. *Journal of the Peripheral Nervous System.* 2005;10:77-84.

Kovach MJ; Campbell KC; Herman K; Waggoner B; Gelber D; Hughes LF; Kimonis VE. Anticipation in a unique family with Charcot-Marie-Tooth syndrome and deafness: delineation of the clinical features and review of the literature. *Am J Med Genet.* 2002;108(4):295-303.

Lawson VH; Gordon Smith A; Bromberg MB. Assessment of axonal loss in Charcot-Marie-Tooth neuropathies. *Exp Neurol*. 2003;184(2):753-7.

Lawson VH; Graham BV; Flanigan KM. Clinical and electrophysiologic features of CMT2A with mutations in the mitofusin 2 gene. *Neurology*. 2005;65(2):197-204.

Marques W; Hanna MG; Marques SR; Sweeney MG; Thomas PK; Wood NW. Phenotypic variation of a new PO mutation in genetically identical twins. *J Neurol*. 1999;246:596-599.

Meggouh F; Bienfait HM; Weterman MA; de Visser M; Baas F. Charcot-Marie-Tooth disease due to a de novo mutation of the RAB7 gene. *Neurology*. 2006;67(8):1476-8.

Michels, VV Thibodeau, et al. Mendelian and Mitochondrial Inheritance, Gene Identification, and Clinical Testing. In: *Peripheral Neuropathy*. Fourth Edition. 2005;64:1545-1579.

Muglia, M; Zappia M; Timmerman V; Valentino P; Gabriele AL; Conforti FL; De Jonghe P; Ragno M; Mazzei R; Sabatelli M; Nicolletti G; Patitucci AM; Oliveri RL; Bono F; Gambardella A. Clinical and genetic study of a large Charcot-Marie-Tooth type 2^a family from southern Italy. *Neurology*. 2001;56:100-103.

Neusch C; Senderek J; Eggermann T; Elloff E; Bähr M; Schneider-Gold C. Mitofusin 2 gene mutation (R94Q) causing severe early-onset axonal polyneuropathy (CMT2A). *Eur J Neurol*. 2007;14(5):575-7.

Nicholson GA. The dominantly inherited motor and sensory neuropathies: clinical and molecular advances. *Muscle Nerve*. 2006;33(5):589-97.

Nicholson G; Myers S. Intermediate forms of Charcot-Marie-Tooth neuropathy: a review. *Neuromolecular Med*. 2006;8(1-2):123-30.

Oh J. *Clinical Electromyography: nerve conduction studies*. Second Edition. Williams & Wilkins. Baltimore 1993.

Padua L; Cavallaro T; Pareyson D; Quattrone A; Vita G; Schenone A+ Italian CMT QoL Study Group. Charcot-Marie-Tooth and pain: correlations with neurophysiological, clinical, and disability findings. *Neurol Sci.* 2008;29:193-194.

Papadakis CE; Hajiioannou JK; Kyrmizakis DE; Bizakis JG. Bilateral sudden sensorineural hearing loss caused by Charcot-Marie-Tooth disease. *J Laryngol Otol.* 2003;117(5):399-401.

Seeman P; Mazanec R; Huehne K; Suslíková P; Keller O; Rautenstrauss B. Hearing loss as the first feature of late-onset axonal CMT disease due to a novel P0 mutation. *Neurology.* 2004;63(4):733-5.

Sevilla T; Jaijo T; Nauffal D; Collado D; Chumillas MJ; Vilchez JJ; Muelas N; Bataller L; Domenech R; Espinós C; Palau F. Vocal cord paresis and diaphragmatic dysfunction are severe and frequent symptoms of GDAP1-associated neuropathy. *Brain.* 2008;131(Pt11):3051-61.

Shy ME; Blake J; Krajewski K; Fuerst DR; Laura M; Hahn AF; Li J; Lewis RA; Reilly M. Reliability and validity of the CMT neuropathy score as a measure of disability. *Neurology.* 2005;64(7):1209-14.

Steiner I; Gotkine M; Steiner-Birmanns B; Biran I; Silverstein S; Abeliovich D; Argov Z; Wirguin I. Increased severity over generations of Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *J Neurol.* 2008;255(6):813-9.

Thomas PK; Marques W; Sweeney MG; King RH; Bradley JL; Muddle JR; Tyson J; Malcolm S; Harding AE. The phenotypic manifestations of chromosome 17 p11.2 duplication. *Brain.* 1997;120(PT3):465-78.

Verhoeven K; Claeys KG; Züchner S; Schröder JM; Weis J; Ceuterick C; Jordanova A; Nelis E; De Vriendt E; Van Hul M; Seeman P; Mazanec R; Saifi GM; Szigeti K; Mancias P; Butler IJ; Kochanski A; Ryniewicz B; De Bleecker J; Van den Bergh P; Verellen C; Van Coster R; Goemans N; Auer-Grumbach M; Robberecht W; Milic Rasic V; Nevo Y; Tournev I; Guergueltcheva V; Roelens F; Vieregge P; Vinci P; Moreno MT; Christen HJ; Shy ME; Lupski JR; Vance JM; De Jonghe P; Timmerman V. MFN2 mutation distribution and genotype/phenotype correlation in Charcot-Marie-Tooth type 2. *Brain.* 2006;129(Pt 8):2093-102.

Vinci P, Oliveira GR, Serrao M; Pierelli F. Anticipation in Charcot-Marie-Tooth disease type 2. *Neurology*. 2001;4(suppl 3):324-325.

Vinci P; Pierelli SL. Footdrop, foot rotation, and plantarflexor failure in Charcot-Marie-Tooth disease. *Arch Phys Med Rehabil*. 2002;83(4):513-6.

Vinci P; Serrao M; Pierelli F; Sandrini G; Santilli V. Lower limb manual muscle testing in the early stages of Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Funct Neurol*. 2006;21(3):159-63.

Vucic S; Kennerson M; Zhu D; Miedema E; Kok C; Nicholson GA. CMT with pyramidal features. *Charcot-Marie-Tooth. Neurology*. 2003;60(4):696-9.

2nd Workshop of the European CMT Consortium: 53rd ENMC International Workshop on Classification and Diagnostic Guidelines for Charcot-Marie-Tooth Type 2 (CMT2-HMSN II) and Distal Hereditary Motor Neuropathy (distal HMN-Spinal CMT); 26-28 September 1997, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord*. 1998;8(6):426-31.

Yoshioka R; Dyck PJ; Chance PF. Genetic heterogeneity in Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2. *Neurology*. 1996;46: 69-571.

Zhao C; Takita J; Tanaka Y; Setou M; Nakagawa T; Takeda S; Yang HW; Terada S; Nakata T; Takei Y; Saito M; Tsuji S; Hayashi Y; Hirokawa N. Charcot-Marie-Tooth disease type 2A caused by mutation in a microtubule motor KIF1Bbeta. *Cell*. 2001;105(5):587-97.

Zhu D; Kennerson ML; Walizada G; Züchner S; Vance JM; Nicholson GA. Charcot-Marie-Tooth with pyramidal signs is genetically heterogeneous: families with and without MFN2 mutations. *Neurology*. 2005;65(3):496-7.

Züchner S; Vance JM. Molecular genetics of autosomal-dominant axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Neuromolecular Med*. 2006;8(1-2):63-74.

¹De acordo com estilo Vancouver.

APÊNDICE

APÊNDICE A - Avaliação clínica dos integrantes da família.

ROTINA DE ANMNESE E EXAME FÍSICO-NEUROLÓGICO DOS PORTADORES DE CMT2.

EXAME FÍSICO-NEUROLÓGICO:

A- ANAMNESE DIRIGIDA:

O senhor faz parte da família que está sendo estudada porque vários membros são portadores de um problema de saúde chamado Charcot-Marie que causa problemas nos pés, nas pernas e mãos.

- 1- O senhor sente algum problema ou dificuldades em teus pés, pernas e/ou mãos ?
- 2- O senhor tem dificuldade para andar ou correr ?
- 3- O senhor tem tropeçado ou caído ultimamente ?
- 4- O senhor sente dores nos pés ?
- 5- O senhor sente ou já sentiu “dormências”, “queimores”, “pinicadas” ou “chuchadas” nos pés ou pernas ?
- 6- Durante a noite o senhor tem inquietação nos pés ?
- 7- O senhor está em uso de algum medicamento ? Quais ?

B- EXAME FÍSICO-NEUROLÓGICO:

- 1- Avaliar marcha e equilíbrio do paciente. Bate o pé ?
- 2- Observar se há atrofias em pés, pernas e mãos. Tremores ?
- 3- Observar se há deformidades em pés (*pes cavus*)
- 4- Avaliação de força muscular:
 - mmss: deltoide
 - bíceps
 - tríceps
 - extensor do carpo
 - extensor dos dedos
 - interósseo dorsais
 - mmii: extensor curto dos dedos
 - extensor do hálux
 - tibial anterior
 - gastrocnêmios
 - quadríceps da coxa
- 5- Reflexos: bíceps, tríceps e estilo-radial patelares e aquileus
- 6- Resposta cutâneo-plantar (Babinski ?)
- 7- Espasticidade ?
- 8- Pares cranianos

APÊNDICE B- Avaliação clínica dos portadores de CMT2.

Ficha de avaliação clínica para a doença de Charcot-Marie-Tooth

Identificação

Nome.....

Data de nascimento .../.../.... Idade..... Sexo Nº hered.....

Ocupação:Contato.....

Fotos número:

HMA:

Início da fraqueza muscular:

MMII.....

MMSS.....

Queixas sensitivas

Não

Sim.....

Condição motora atual:

Deambulação

Sem limitações

Marcha escarvante

Marcha escarvante, com apoio de bengala (desde quando?).....

Marcha com dois apoios/andador.....(desde quando?)

Não deambula.....(desde quando?)

Membros superiores

Sem limitações

Fraqueza distal, sem prejuízo funcional

Fraqueza distal, com prejuízo funcional (desde quando?)

Exame físico:

Exame neurológico:

Motricidade:

Força muscular mmss

Oposição.....

Braços estendidos:.....

Força muscular mmii

Manobras de oposição:.....

Mingazinni:.....

Coordenação:.....

Reflexos:

D

E

Aquileus

Patelares

Biceptal

Triceptal

Estilorrádial

Cutâneo plantar

Sensibilidade superficial:

Dolorosa (picada de agulha).....

Tátil: algodão.....

Sensibilidade profunda:

Vibratória 128 Hz (hálux, maléolo medial, tibia, crista íliaca, estilóide).

Artrestésica.....

Trofismo

Pes cavos: S N

Atrofia distal mmii: S N

Atrofia distal mmss: S N

Lesões cutâneas.....

