

**CARLOS HENRIQUE FERREIRA CAMARGO**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E ESTUDO DOS GENES *DYT1* E *DYT6* EM 88  
PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL**

**CURITIBA**

**2013**

**CARLOS HENRIQUE FERREIRA CAMARGO**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E ESTUDO DOS GENES *DYT1* E *DYT6* EM 88  
PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL**

**Tese apresentada como requisito parcial à  
obtenção do grau de Doutor em Medicina  
Interna, Curso de Pós-Graduação em Medicina  
Interna e Ciências da Saúde, Setor de Ciências  
da Saúde, Universidade Federal do Paraná.**

**Orientador: Prof. Dr. Hélio Afonso G. Teive**

**CURITIBA**

**2013**

## TERMO DE APROVAÇÃO




Ministério da Educação  
Universidade Federal do Paraná  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA INTERNA  
" MESTRADO e DOUTORADO "

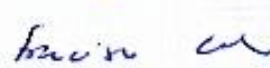
### PARECER

Aos nove dias do mês de novembro do ano de dois mil e treze, a banca examinadora constituída pelos Professores Doutores: Dra. Sarah Teixeira Camargos (UFMG), Dr. Vitor Tumas (FMRP-USP), Dr. Francisco Eduardo Costa Cardoso (UFMG), Dr. Salmo Raskin (PUC) e Dr. Hélio Afonso Ghizoni Teive ( Orientador- UFPR) , exarou o presente parecer sobre a tese elaborada por Carlos Henrique Ferreira Camargo, do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna nível Doutorado, da Universidade Federal do Paraná, intitulada: "AVALIAÇÃO CLÍNICA E ESTUDO DOS GENES DYT1 E DYT6 EM 88 PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL". A Banca examinadora considerou que Carlos Henrique Ferreira Camargo, apresentou trabalho adequado para Tese e o defendeu com segurança e propriedade nas arguições que lhe foram feitas, de modo a merecer a sua **aprovação**, sendo recomendado à Universidade Federal do Paraná que lhe seja concedido o título de **Doutor em Medicina Interna** e a publicação de artigo em revista técnico-científica com corpo editorial, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das arguições, cumpridas outras exigências previstas em normativas da pós-graduação.

Curitiba, 09 de novembro de 2013.

  
Prof. Dra. Sarah Teixeira Camargos

  
Prof. Dr. Vitor Tumas

  
Prof. Dr. Francisco Eduardo Costa Cardoso

  
Prof. Dr. Salmo Raskin

  
Prof. Dr. Hélio Afonso Ghizoni Teive

Ao meu orientador, e aos meus professores desde  
a pré-escola. Pelo exemplo e pela dedicação.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, do qual todas as coisas dependem, pela Sua presença constante na minha vida, pelo auxílio nas minhas escolhas e por, com a Sua infinita bondade, conceder-me a oportunidade de galgar um patamar a mais.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Hélio Teive, a quem admiro muito, pelos importantes ensinamentos tanto científicos quanto profissionais e pessoais, pela amizade, e pelo exemplo!

À querida amiga Prof<sup>ª</sup> Dra. Sarah Camargos, pela enorme ajuda em grande parte deste projeto. Por todo seu conhecimento repassado, com uma alegria ímpar, dedicação única, e motivação assombrosa!

Ao Prof. Dr. Francisco Cardoso, pelo modo generoso com o qual proporcionou a ligação Minas-Paraná, para que pudéssemos viabilizar este estudo.

Ao Prof. Dr. Salmo Raskin e ao Laboratório Genetika, pela gentileza em nos auxiliarem na extração do DNA e enviá-los em segurança para MG.

Aos professores que compuseram a banca de qualificação, Prof<sup>ª</sup> Dra. Lilian Pereira Ferrari, Prof. Dr. Marcos Lange e Prof<sup>ª</sup> Dra. Viviane Zétola, principalmente pelos ensinamentos e pelos conselhos que ajudaram muito a enriquecer este trabalho.

Aos grandes companheiros do Setor de Distúrbios do Movimento, pela forma tão especial que me ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

À minha família, por ter me apoiado. A todos, meu muito obrigado, principalmente por terem ouvido meus desabafos e compartilhado os momentos de alegria.

Ao grande amigo Prof. Dr. Marcelo Schafranski, pelo apoio com a estatística do trabalho.

À querida Valéria, do Laboratório de Neurogenética da UFMG, pela dedicação no sequenciamento das amostras, e pela paciência em me mostrar e ensinar os protocolos e a metodologia do laboratório.

Às amigas professoras Cláudia Fonseca e Patrícia Portella, pela correção da Língua Portuguesa e da Língua Inglesa.

Aos colegas, professores, residentes e funcionários do Serviço de Neurologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pela amizade e companheirismo que construímos.

Aos colegas e professores, às queridas Valéria e Lúcia, do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna da Universidade Federal do Paraná, pela dedicação e cumplicidade.

Aos pacientes e alunos, por me estimularem na busca constante pelo conhecimento novo e aprimoramento. Aos pacientes deste estudo, meu carinho especial.

Aos colegas e funcionários do consultório e das instituições às quais pertenço, pela sempre preocupação e votos de sucesso.

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a execução deste trabalho, seja pela ajuda constante ou por uma palavra de amizade!

Muito Obrigado!

Mon pauvre corps est raccourci  
Et j , ai la tete sur l' oreille  
Mais cela me sied à merveille  
Et parmi les torticollis  
Je passe pour des plus jolis.

Meu pobre corpo está encurtado  
E minha cabeça vai até minha orelha  
Mas me adapto maravilhosamente  
E entre os distônicos  
Eu passo por um dos mais bonitos.

Paul Scarron, dramaturgo do século XVII  
(citado por Dauer, 1998)

## RESUMO

A distonia é um distúrbio do movimento caracterizado por contrações musculares sustentadas ou intermitentes, causando posturas, movimentos, ou posturas e movimentos, anormais e frequentemente repetitivos. A apresentação mais comum é a distonia cervical (DC), que afeta a musculatura do pescoço de forma localizada ou associada a outras partes do corpo. O presente estudo tem como objetivos identificar os aspectos clínicos dos pacientes com DC, comparando-se os casos esporádicos aos casos com história familiar de distonia, e as suas correlações com mutações nos genes *DYT1* e *DYT6*. Foram selecionados 88 pacientes com DC nos ambulatórios de Toxina Botulínica e Distúrbios do Movimento do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR), entre maio de 2008 e agosto de 2009, e submetidos à avaliação clínica, laboratorial, neuroimagem e genética. O DNA foi extraído do sangue periférico e análises para mutações nos genes *DYT1* e *DYT6* foram realizadas por PCR, conforme protocolos previamente estabelecidos. A relação masculino:feminino foi de 1:1,75. A média de idade de início dos sintomas de pacientes com distonia focal ( $41,05 \pm 16,87$  anos) e distonia segmentar ( $35 \pm 23,14$  anos) foram maiores que a encontrada em pacientes com distonia generalizada,  $12,36 \pm 9,10$  anos ( $p < 0,001$ ). Houve uma tendência linear de diminuição da incidência de casos de distonia generalizada com o aumento da idade. Vinte e três pacientes apresentaram história familiar de distonia. Nos casos com história familiar, houve maior prevalência de distonia generalizada que distonia focal (relação 2,2:1), ocorrendo relação inversa nos casos esporádicos (1:1,83). Os casos de distonia focal em pacientes com história familiar foram menos graves ( $p < 0,05$ ) e menos dolorosos ( $p < 0,05$ ) que os casos esporádicos. Os casos esporádicos de distonia generalizada referiram menos dor que os pacientes com distonia generalizada e história familiar de distonia. Dois pacientes com história familiar de distonia, distonia generalizada, iniciada nos membros inferiores (MMII), com idade de 6 e 12 anos, apresentaram a mutação c.907GAGdel no gene *DYT1*. Três pacientes apresentaram a inédita mutação *nonsense* c.289A>G (p.Gln97X) no gene *DYT6*. Um paciente não tinha história familiar de distonia e teve seus sintomas iniciados pelos membros superiores (MMSS) aos 22 anos, com posterior generalização. As duas outras pacientes com a mutação eram de uma mesma família. Uma apresentou quadro iniciado aos 18 anos no MSD, permanecendo com distonia segmentar (crânio-cervical e MMSS). A outra paciente apresentava também a mutação *missense* c.506G>A (p.Arg169Gln). Ela iniciou com os sintomas aos 6 anos e evoluiu com generalização associada a alterações de fala. Esses achados estão em conformidade com os relatos de baixa penetrância à grande variabilidade fenotípica dos pacientes com distonia *DYT6*, independente da mutação encontrada. Em relação à associação com outros distúrbios do movimento, não foram encontradas alterações nos genes *DYT1* e *DYT6* de quatro pacientes com mioclonias e três com parkinsonismo. Podemos afirmar, em concordância com estudos prévios, que a análise para mutações no gene *DYT1* em pacientes com distonia cervical deve ser realizada nos pacientes com quadros generalizados e com história familiar de distonia. Também em conformidade com estudos anteriores, a análise para o gene *DYT6* pode ser realizada em pacientes com distonia cervical independentemente da distribuição, ou da história familiar.

**Palavras-chaves:** Distonia. Distonia cervical. Genética. *DYT1*. *DYT6*.



## ABSTRACT

Dystonia is a movement disorder characterized by sustained or intermittent muscle contraction causing abnormal, often repetitive, movements, postures, or both. Cervical dystonia (CD) affects the musculature of the neck in a focal way or associated to other parts of the body. CD is the most common form of dystonia. The present study objectives to obtain clinical and genetic information of patients with CD. Eighty-eight patients with CD were recruited in Botulinum Toxin Clinic and Movement Disorders Clinic of Hospital de Clinicas of the Federal University of Paraná (HC-UFPR) between May of 2008 and August of 2009. They were submitted the clinical, laboratorial, neuro-imaging and genetic evaluation. DNA was extracted from periferic blood and submitted at analysis to *DYT1* and *DYT6* mutations by PCR according to standard protocols. The male:female ratio was 1:1.75. The average ages at onset for focal dystonia ( $41.05 \pm 16.87$  years) and for segmental dystonia ( $35 \pm 23.14$  years) were larger than generalized dystonia ( $12.36 \pm 9.10$  years). There was a direct decreased of incidence of generalized dystonia with the age. Twenty-three patients had cases of CD in the family. In these cases there were more prevalence of generalized dystonia than focal dystonia (ratio 2.2:1), in opposition of sporadic cases (ratio 1:1.83). The focal dystonia in patients with familiar history of dystonia was less severe and less painful than sporadic cases ( $p < 0.05$ ). The generalized sporadic cases complained less painful than familiar generalized cases. Two patients, with familiar and generalized dystonia beginning in legs with 6 and 12 years old, had c.907GAGdel mutation on *DYT6* gene. Three patients had the unprecedent c.289 (p.Gln97X) *DYT6* gene nonsense mutation. One of them had no familiar history of dystonia. This patient started his symptoms by arms at 22 years old, and he had secondary generalization. The other two patients were from the same family. The first opened the symptoms at 18 years old by right arm keeping segmental dystonia (cranial-cervical and arms). The second had the c.506G>A (p.Arg169Gln) missense mutation plus. She has started the symptoms at 6 years old and sprayed the dystonia for generalizations associated with speech disorders. These findings are in line with the low penetrance and great phenotypic variability related in *DYT6* patients, independent of mutation found. Regarding the association with other movement disorders, *DYT1* and *DYT6* mutations were not found in four patients with myoclonic movements and in three patients with Parkinsonism. We can state, in agreement with previous studies, that analysis for *DYT1* mutations in patients with cervical dystonia should be performed in patients with generalized and familiar dystonia. The *DYT6* analysis can be performed in patients with cervical dystonia regardless the distribution or the familiar history.

**Key words:** Dystonia. Cervical dystonia. Genetic. *DYT1*. *DYT6*.

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – FENOMENOLOGIA DAS DISTONIAS* .....	19
TABELA 2 – CLASSIFICAÇÃO DAS DISTONIAS .....	23
TABELA 3 – APRESENTAÇÃO DAS DISTONIAS HEREDITÁRIAS* .....	26
TABELA 4 – ESTUDOS COM AVALIAÇÃO CLÍNICA E GENÉTICA DE PACIENTES COM DISTONIA DYT6 .....	48
TABELA 5 – <i>PRIMERS</i> USADOS PARA AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DOS PRODUTOS DA PCR (GENES <i>DYT1</i> E <i>DYT6</i> ) .....	87
TABELA 6 – APRESENTAÇÃO DAS FAMÍLIAS COM DISTONIA CERVICAL .....	92
TABELA 7 – COMPARAÇÃO ENTRE CASOS ESPORÁDICOS E CASOS FAMILIARES DE DISTONIA CERVICAL .....	96
TABELA 8 – LOCAL DE INÍCIO DA DISTONIA GENERALIZADA (N=28) COM MANIFESTAÇÃO CERVICAL (CASOS ESPORÁDICOS X CASOS FAMILIARES) .....	96
TABELA 9 – DIVISÃO DOS PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL POR FORMA DE APRESENTAÇÃO CLÍNICA .....	97
TABELA 10 – CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES COM PRESENÇA DE MUTAÇÃO NO GENE <i>DYT1</i> .....	102
TABELA 11 – CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES COM PRESENÇA DE MUTAÇÕES NO GENE <i>THAP1</i> .....	106

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – FENOMENOLOGIA DA DISTONIA CERVICAL. FORMAS DE APRESENTAÇÃO CLÍNICA E RESPECTIVOS MÚSCULOS CONTRAÍDOS DE FORMA ANÔMALA GERANDO O MOVIMENTO ANORMAL. ....	20
FIGURA 2 – CLASSIFICAÇÃO DA DISTONIA CERVICAL CONFORME CARACTERÍSTICA CLÍNICA – DISTRIBUIÇÃO CORPORAL.....	24
FIGURA 3 – ESTRUTURA GENÔMICA DO <i>DYT1</i> (CINCO ÉXONS) E LOCALIZAÇÃO DA DELEÇÃO GAG E DA DELEÇÃO 18-PB* .....	28
FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO DA PROTEÍNA TORSINA-A* .....	31
FIGURA 5 – MODELO ESQUEMÁTICO DA LOCALIZAÇÃO SUBCELULAR DA TORSINA-A E DA TORSINA-A MUTANTE, E POTENCIAIS AÇÕES CELULARES* .....	32
FIGURA 6 – LOCALIZAÇÃO DA TORSINA-A NO RETICULO ENDOPLASMÁTICO E ENVELOPE NUCLEAR* .....	34
FIGURA 7 – INTERAÇÃO DA TORSINA-A COM FILAMENTOS DO CITOESQUELETO* .....	35
FIGURA 8 – REPRESENTAÇÕES DO GENE <i>DYT6</i> ( <i>THAP1</i> ) E DA PROTEÍNA THAP1* .....	43
FIGURA 9 – MATERIAIS USADOS NO SEQUENCIAMENTO DOS GENES .....	89
FIGURA 10 – CROMATOGRAMA COM PACIENTE APRESENTANDO A MUTAÇÃO NO GENE <i>DYT1</i> (c.907GAGdel).....	102
FIGURA 11 – HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 2 .....	103
FIGURA 12 – HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 11 .....	103
FIGURA 13 – MUTAÇÕES NO GENE <i>DYT6</i> ( <i>THAP-1</i> ).....	104
FIGURA 14 – RELAÇÃO DAS MUTAÇÕES NO GENE <i>DYT6</i> ( <i>THAP-1</i> ) EM ALGUNS MEMBROS DA FAMÍLIA 14 .....	105

## LISTA DE GRÁFICOS

GRAFICO 1 – ORIGEM DOS PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL.....	91
GRÁFICO 2 – CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL POR LOCAL DE AFECÇÃO (DISTRIBUIÇÃO).....	94
GRÁFICO 3 – INCIDÊNCIA DE DISTONIA CERVICAL POR FAIXA ETÁRIA.....	95
GRÁFICO 4 – COMPARAÇÃO DA GRAVIDADE DA DISTONIA CERVICAL ENTRE PACIENTES COM DIFERENTES APRESENTAÇÕES DE DISTONIA PELA TWSTRS.....	98
GRÁFICO 5 – COMPARAÇÃO DA GRAVIDADE ENTRE PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL NAS APRESENTAÇÕES DE DISTONIA FOCAL E DISTONIA GENERALIZADA PELA TWSTRS .....	98
GRÁFICO 6 – CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL POR INTENSIDADE DE DOR CERVICAL .....	99
GRÁFICO 7 – COMPARAÇÃO DA DOR ENTRE PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL NAS APRESENTAÇÕES DE DISTONIA FOCAL E DISTONIA GENERALIZADA PELA ESCALA ANALÓGICA VISUAL DE DOR.....	100

## LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>AAA<sup>+</sup></b>	ATPases associadas com uma variedade de atividades
<b>ADNFLE</b>	Epilepsia noturna do lobo frontal autossômica dominante
<b>AEC (SCA)</b>	Ataxias espino-cerebelares ( <i>Spinocerebellar ataxia</i> )
<b>AMPc</b>	Adenosina monofosfato cíclico
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>BH<sub>4</sub></b>	tetraidobiopterina
<b>CGH1</b>	GTP hidroxilase I
<b>cM</b>	centiMorgan
<b>CSE</b>	Coreoatetose paroxística com ataxia e espasticidade episódicas
<b>C-terminal</b>	Terminal carboxi ou terminal carboxila
<b>D2R</b>	Receptor dopaminérgico D2
<b>DAT</b>	Proteína transportadora de dopamina
<b>DBS</b>	Estimulação cerebral profunda ( <i>deep brain stimulation</i> )
<b>DC</b>	Distonia cervical
<b>DCCP</b>	Distonia primária segmentar crânio-cervical de início precoce
<b>DDR</b>	Distonia dopa-responsiva
<b>DFA</b>	Distonia focal de início adulto
<b>DH</b>	Doença de Huntington
<b>DMSO</b>	Dimetil sulfóxido
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucléico
<b>dNTP</b>	Dinucleotídeo
<b>DOPA</b>	L-dihidroxifenilalanina
<b>DP</b>	Desvio padrão
<b>DPIR</b>	Distonia-parkinsonismo de início rápido
<b>DPJ</b>	Doença de Parkinson autossômica recessiva juvenil
<b>DPX</b>	Distonia-parkinsonismo recessiva ligada ao X
<b>DTM</b>	Distonia de tipo misto
<b>DYT1-25</b>	Locus gênico das distonias 1 a 25
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiamino tetracético
<b>EN</b>	Envelope nuclear
<b>FMS</b>	Escala de Fahn-Marsden para distonia ( <i>Fahn-Marsden Scale</i> )
<b>GFRP</b>	Proteína de <i>feedback</i> regulatório da GTPCHI (CGHI)
<b>Glu</b>	Ácido glutâmico
<b>GLUT1</b>	Proteína transportadora de glicose 1
<b>GPi</b>	Globo pálido interno
<b>GTP</b>	Guanosina trifosfato
<b>GTPCHI</b>	GTP hidroxilase I
<b>HC</b>	Hospital de Clínicas

<b>HIV</b>	Vírus da imunodeficiência humana
<b>HVA</b>	Ácido homovanílico
<b>HSP</b>	<i>Heat shock proteins</i>
<b>ICCA</b>	Convulsões infantis com coreoatetose paroxística
<b>JDS</b>	Escala de incapacidade de Jankovic ( <i>Jankovic Disability Scale</i> )
<b>KASH</b>	<i>Klarsicht/ANC-1/Syne homology</i>
<b>kDa</b>	quiloDalton
<b>LAP 1</b>	Polipeptídeo associado à lâmina 1
<b>LCR</b>	Líquido cefalorraqueano
<b>LULL1</b>	Domínio luminal semelhante ao polipeptídeo associado à lâmina 1
<b>MD</b>	Mioclonia-distonia
<b>MELAS</b>	Miopatia mitocondrial, encefalopatia, acidose láctica e episódios semelhantes a acidente vascular cerebral
<b>MERRF</b>	Epilepsia mioclônica com fibras vermelhas rasgadas (RRF - <i>ragged red fibers</i> )
<b>mg</b>	miligrama
<b>MHPG</b>	3-metoxi-4-hidroxifenilglicol
<b>ml</b>	mililitro
<b>MMII</b>	Membros superiores
<b>MMSS</b>	Membros inferiores
<b>MR-1</b>	Reguladora da miofibrilogênese 1 (proteína e gene)
<b>ng</b>	nanograma
<b>NKA3</b>	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase $\alpha$ 3, uma subunidade catalítica da bomba de sódio
<b>N-terminal</b>	Terminal amino
<b>PACT</b>	<i>PKR activating protein</i>
<b>Par4</b>	Fator próstata-apoptose-reativo 4
<b>pb</b>	Pares de base
<b>PCR</b>	Reação em cadeia da polimerase
<b>PED</b>	Distonias paroxísticas induzidas pelo exercício
<b>PET</b>	Tomografia por emissão de pósitrons
<b>PHD</b>	Discinesia hipnogênica paroxística
<b>PKD</b>	Discinesias cinesiogênicas paroxísticas
<b>PNKD</b>	Discinesias não-cinesiogênicas paroxísticas
<b>POD</b>	Domínios oncogênicos da PML (leucemia pró-mielocítica)
<b>RE</b>	Retículo endoplasmático
<b>RE-PD-WC</b>	Distonia induzida pelo exercício e câimbra do escrivão
<b>RNA</b>	Ácido ribonucléico
<b>RNA-df</b>	RNA dupla-fita
<b>RNA-m</b>	RNA mensageiro
<b>SGCA</b>	Glicoproteína $\alpha$ -sarcoglicana

<b>SGCE</b>	Glicoproteína ε-sarcoglicana
<b>SPECT</b>	Tomografia por emissão de fóton único
<b>TAE</b>	Tris-acetato EDTA
<b>TAF-1</b>	TATA-box ligante à proteína associada ao fator I
<b>TBE</b>	Tris-borato EDTA
<b>TBP</b>	Proteína ligada a TATA
<b>TCE</b>	Traumatismo crânio-encefálico
<b>TFIID</b>	Fator de transcrição II D
<b>TH</b>	Tirosina hidroxilase
<b>THAP 1 a 11</b>	<i>Thanatos</i> -associada 1 a 11
<b>TNF</b>	Fator de necrose tumoral
<b>TSH</b>	Hormônio tireoestimulante
<b>TWSTRS</b>	<i>Toronto Western Spasmodic Torticollis Rating Scale</i>
<b>TxBA</b>	Toxina botulínica A
<b>U</b>	Unidade
<b>UFPR</b>	Universidade Federal do Paraná
<b>UPDRS</b>	<i>Unified Parkinson's Disease Rating Scale</i>
<b>VMA</b>	Ácido vanilmandélico
<b>VDRL</b>	Teste para sífilis ( <i>Venereal Diseases Research Laboratory</i> )
<b>°C</b>	Grau Celsius
<b>%</b>	Por cento
<b>&lt;</b>	Menor que □
<b>&gt;</b>	Trocado por (→)
<b>±</b>	Mais ou menos
<b>®</b>	Marca registrada

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
1 A EVOLUÇÃO DO CONCEITO DE DISTONIA CERVICAL .....	17
2 FENOMENOLOGIA .....	18
3 CLASSIFICAÇÃO .....	21
4 GENÉTICA .....	25
4.1 As distonias isoladas.....	25
4.1.1 As distonias persistentes de início precoce.....	25
4.1.1.1 A distonia DYT1 .....	28
4.1.1.2 A distonia DYT2 .....	40
4.1.1.3 A distonia DYT6 .....	41
4.1.1.4 A distonia DYT13 .....	47
4.1.1.5 A distonia DYT17 .....	51
4.1.2 As distonias persistentes de início tardio.....	51
4.1.2.1 A distonia DYT7 .....	51
4.1.2.2 A distonia DYT21 .....	52
4.1.2.3 A distonia DYT23 .....	53
4.1.2.4 A distonia DYT24 .....	54
4.1.2.5 A distonia DYT25 .....	55
4.2 As distonias combinadas .....	56
4.2.1 As distonias com parkinsonismo .....	56
4.2.1.1 A distonia DYT5 .....	56
4.2.1.2 A distonia DYT14 .....	62
4.2.1.3 A distonia DYT3 .....	63
4.2.1.4 A distonia DYT12 .....	66
4.2.1.5 A distonia DYT16 .....	68
4.2.2 As distonias com mioclonia.....	69
4.2.2.1 A distonia DYT11 .....	69
4.2.2.2 A distonia DYT15 .....	73
4.2.3 As distonias com coreia.....	73
4.2.3.1 A distonia DYT4 .....	73
4.2.4 As distonias paroxísticas .....	75
5 O PROJETO DE ESTUDO DA DISTONIA CERVICAL NO HC-UFPR.....	80
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>82</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>83</b>



1 SELEÇÃO DOS PACIENTES.....	83
2 AVALIAÇÃO CLÍNICA .....	84
3 AVALIAÇÃO GENÉTICA .....	86
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	90
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>91</b>
1 AVALIAÇÃO CLÍNICA .....	91
2 GENÉTICA .....	101
<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>107</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>121</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>123</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>147</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>157</b>

## INTRODUÇÃO

### 1 A EVOLUÇÃO DO CONCEITO DE DISTONIA CERVICAL

O termo torcicolo é o mais antigo atribuído para casos de distonia no pescoço. O médico e dramaturgo François Rabelais (1494-1553) foi o primeiro a utilizar o termo no seu romance *Pantagruel*: “...*afin qu’il ne fust torty colly*”. Em 1901, Joseph Destarac empregou o termo *torticollis spasmodique* para descrever uma garota de 17 anos com distonia no pescoço (Destarac, 1901; Claypool et al., 1995; Jankovic e Fahn, 1998). O termo torcicolo espasmódico, contudo, é confuso e não específico, sendo previamente usado também para atribuição de uma origem psicogênica ao problema (Tsui, 1995).

O termo distonia foi proposto em 1911 por Hermann Oppenheim, quando descreveu uma doença do tônus muscular denominada *dystonia musculorum deformans* (Oppenheim, 1911). Entretanto, pairou muitas vezes sobre a distonia uma indefinição entre uma doença neurológica ou psiquiátrica, sendo proposta, inclusive, a retirada da distonia como um fenômeno distinto entre os distúrbios do movimento. A etiologia emocional das distonias teve grande força na década de 1960 e o fim da discussão etiológica da distonia somente ocorreu nas décadas de 1970 e 1980, com uma série de trabalhos de Charles David Marsden, que colocava a distonia como um distúrbio do movimento por lesão nos núcleos da base (Calne, 1995). Em fevereiro de 1984, um comitê formado por membros da *Scientific Advisory Board of the Dystonia Medical Research Foundation* (André Barbeau, Donald B Calne, Stanley Fahn, C David Marsden, John H Menkes) desenvolveu a definição para distonia aceita até muito recentemente: uma síndrome caracterizada por contração muscular sustentada, causando torção, movimentos repetitivos ou posturas anormais (Fahn, 1984). O termo distonia cervical foi então preferido para se referir a uma distonia focal do pescoço de origem orgânica (Tsui, 1995).

Essa definição de distonia, amplamente aceita, entretanto, não enfatiza o padrão e o extravasamento do movimento anormal, e não excluí vários distúrbios com

posturas anormais que podem ser confundidas com a distonia, como por exemplo, uma subluxação atlanto-axial e do ombro, mimetizando uma distonia cervical. Devido a essas limitações da definição de 1984, em abril de 2013, o *International Consensus Committee* composto por Alberto Albanese, Kailash Bhatia, Mahlon DeLong, Stanley Fahn, Hider Jinnah, Christine Klein, Anthony Lang e Jan Teller propôs a seguinte definição revisada: **distonia é um distúrbio do movimento caracterizado por contrações musculares sustentadas ou intermitentes causando posturas, movimentos, ou posturas e movimentos, anormais e frequentemente repetitivos. Os movimentos distônicos são tipicamente padronizados, em torção, e podem ser em tremor. A distonia é frequentemente iniciada ou piorada por atividades voluntárias e associada com extravasamento da ativação muscular** (Albanese et al., 2013).

## 2 FENOMENOLOGIA

A distonia resulta da contração involuntária concomitante de músculos agonistas e antagonistas, com sobreposição de contração muscular indesejada dos músculos adjacentes (Tarsy e Simon, 2006).

Alguns achados clínicos caracterizam e distinguem a distonia de outros distúrbios do movimento ou de pseudodistonias. Essas colunas que sustentam o diagnóstico de um movimento distônico foram revistos recentemente e algumas características distônicas redefinidas (Tabela 1) (Bressman, 2000; Albanese et al., 2013).

A contração involuntária da musculatura do pescoço na distonia cervical leva a uma ampla variedade de posturas anormais assumidas pela cabeça (Figura 1). Torcicolo é a rotação do queixo através do eixo longitudinal em direção ao ombro. Laterocolo é a rotação da cabeça no plano coronal, movendo a orelha em direção ao ombro. Anterocolo e retrocolo são rotações da cabeça no plano sagital: anterocolo leva o queixo em direção ao tórax; e retrocolo eleva o queixo e leva a região occipital em encontro ao dorso (Dauer et al., 1998; Stacy, 2000).

TABELA 1 – FENOMENOLOGIA DAS DISTONIAS\*

Característica
1 – Tipicamente é influenciada por movimentos voluntários ou por uma postura voluntariamente mantida, por exemplo, apoio antigravitacional. <ul style="list-style-type: none"> <li>- Normalmente agrava-se durante movimentos voluntários (distonia de ação);</li> <li>- Pode estar presente em apenas ações específicas, contudo, há algumas distonias que podem ter suas manifestações melhoradas por algumas ações;</li> <li>- Normalmente tem variações com mudanças de postura.</li> </ul>
2 – A velocidade de contração pode ser lenta ou rápida, mas no pico do movimento deve ser sustentada.
3 – As contrações musculares quase sempre têm uma direção consistente ou uma postura característica.
4 – Previsivelmente envolve uma ou mais regiões do corpo.
5 – Pode progredir para outras regiões do corpo ou outras ações.
6 – Um espriamento motor encontrado na distonia é uma contração muscular sem intenção que acompanha, mas é anatomicamente distinto do movimento distônico primário. <ul style="list-style-type: none"> <li>- Comumente ocorre no pico dos movimentos distônicos.</li> </ul>
7 – Um tremor distônico caracteriza-se por ser oscilatório, rítmico, porém, frequentemente inconstante e padronizado, produzido por contrações dos músculos distônicos. <ul style="list-style-type: none"> <li>- Frequentemente exacerbado pela tentativa de manter a posição normal</li> <li>- Pode ser difícil de ser distinguido do tremor essencial</li> </ul>
8 – A distonia em espelho é uma postura ou um movimento unilateral, que é o mesmo ou similar às características distônicas que podem ser suscitados normalmente no lado mais gravemente afetado, quando contralateral.
9 – Piora com estresse, fadiga e melhora com descanso, sono e hipnose.
10 – Os gestos antagonistas são ações voluntárias que especificamente corrigem as posturas anormais ou aliviam os movimentos distônicos.

\* A partir de Bressman, 2000 e Albanese et al., 2013

FIGURA 1 – FENOMENOLOGIA DA DISTONIA CERVICAL. FORMAS DE APRESENTAÇÃO CLÍNICA E RESPECTIVOS MÚSCULOS CONTRAÍDOS DE FORMA ANÔMALA GERANDO O MOVIMENTO ANORMAL.

### TORCICOLO

Esternocleidomastoídeo contralateralmente à rotação, trapézio e esplênio ipsilateralmente



### ANTEROCOLO

Esternocleidomastoídeos e submentonianos bilateralmente



### RETROCOLO

Trapézios, esplênios e paravertebrais bilateralmente



### LATEROCOLO

Esternocleidomastoídeo, trapézio e esplênio ipsilateralmente à lateralização



Modificado de <http://www.drlox.com/cervical-dystonia/>.

### 3 CLASSIFICAÇÃO

Classificar as distonias é uma tarefa complexa, porque o termo distonia pode significar não somente uma doença, mas também um sintoma que pode fazer parte de muitos distúrbios com uma grande variedade de causas (Friedman e Standaert, 2001). Recentemente, para deixar o termo distonia mais claro, foram propostos três “sobrenomes” para a distonia: “sintoma”, “movimento” ou “distúrbio”. Um paciente pode queixar-se de distonia, por exemplo, uma torção do pescoço, esse paciente tem o sintoma distonia (distonia<sup>Sx</sup>). Ao exame, sinais de distonia podem ser confirmados, esse paciente tem o movimento distonia (distonia<sup>Mov</sup>). Finalmente, distonia como distúrbio (distonia<sup>Dx</sup>) implica em uma base clínico-fisiopatológica para o entendimento da doença de base do paciente: genética, tardia, pós-traumática, etc. (Frucht, 2013).

Até abril de 2013, a amplamente aceita classificação da distonia de 1998 descrevia cada paciente com distonia em três categorias separadas: idade de início, etiologia e distribuição (Fahn et al., 1998, Albanese et al., 2013). A idade e o local de início dos sintomas se sobrepuseram, posteriormente, com a proposta de classificação genética (Klein e Ozelius, 2002). Nessa classificação, Fahn, Bressman e Marsden (1998) propuseram uma subclassificação baseada na etiologia e dividiram as distonias em quatro grupos, semelhante à classificação etiológica do parkinsonismo: distonia primária, distonia-plus, distonia secundária e distonia em doenças hereditárias.

A distonia primária foi considerada aquela na qual distonia é a única manifestação fenotípica presente, com exceção para tremor. Os distúrbios neuroquímicos nos quais os fenótipos clínicos incluem distonia e outros achados neurológicos foram alocados no subgrupo distonia-plus. A distonia secundária foi definida como uma desordem distônica que se desenvolve principalmente por uma agressão de etiologia determinada no encéfalo, medula e nervos periféricos. As doenças hereditárias formavam uma categoria na qual a neurodegeneração produzia distonia como principal achado clínico. Uma série de distúrbios pode mimetizar a distonia por tipicamente se manifestarem com contrações musculares ou

posturas anormais; entretanto, esses distúrbios não foram considerados distonias verdadeiras e sim pseudodistonias.

Essa classificação de 1998, portanto, consagrou o uso do termo primário no lugar de idiopático, preferido devido ao termo anterior indicar uma etiologia desconhecida, um despropósito, numa era onde muitas das distonias primárias tiveram sua etiologia atribuída a genes anormais (Fahn et al., 1998). A nova classificação de 2013, contudo, ressuscitou o termo idiopático em seu eixo II, sobre etiologia, porém, com uma nova abordagem. Quanto à etiologia, as distonias podem ser subdividas em relação às alterações patológicas, aos danos estruturais, às causas adquiridas e à hereditariedade. Se não houver uma causa etiológica definida, a distonia pode ser idiopática familiar ou idiopática esporádica (Albanese et al., 2013).

O eixo II da nova classificação das distonias é complementar ao eixo I, características clínicas. Nesse eixo se encontram as outras classificações anteriormente propostas, idade de início e distribuição corporal. Como novidade, acrescenta-se o padrão temporal subdividido em curso da doença e variabilidade. Os achados clínicos associados podem ser divididos em outros distúrbios do movimento ou outras manifestações neurológicas ou clínicas (Tabela 2) (Albanese et al., 2013).

Com essa nova classificação, abre-se uma grande discussão sobre a exclusão do termo “distonia primária”. Por mais que os avanços da medicina em métodos que permitam atingir o diagnóstico etiológico das distonias tenham progredido, ainda é necessário um extenso e forte esforço para se atingir um diagnóstico ao final de um grande grupo de pacientes com movimentos distônicos. Dessa forma, o diagnóstico de distonia primária, mesmo que provisório, ainda se faz necessário (Bressman e Saunders-Pullman, 2013). Por outro lado, os conceitos de “distonia-plus” e de “distonia em doenças neurodegenerativas” jazem por trás de uma lápide com o epitáfio: “já fostes tardes vós que só causastes discórdia e desentendimento”?

TABELA 2 – CLASSIFICAÇÃO DAS DISTONIAS

**Eixo I - Características Clínicas**

Características clínicas da distonia	Idade de início	Primeira infância (nascimento aos 2 anos) Infância (3 – 12 anos) Adolescência (13 – 20 anos) Adulto jovem (21 – 40 anos) Adulto (> 40 anos)
	Distribuição corporal	Focal, Segmentar, Multifocal, Generalizada, Hemidistonia
	Padrão temporal	Curso da doença <ul style="list-style-type: none"> <li>- Estática</li> <li>- Progressiva</li> </ul> Variabilidade <ul style="list-style-type: none"> <li>- Persistente</li> <li>- Ação-específica</li> <li>- Diurna</li> <li>- Paroxística</li> </ul>
Achados clínicos associados	Com outros distúrbios do movimento Com outras manifestações neurológicas ou sistêmicas	Distonia Isolada Distonia Combinada Lista de manifestações concomitantes

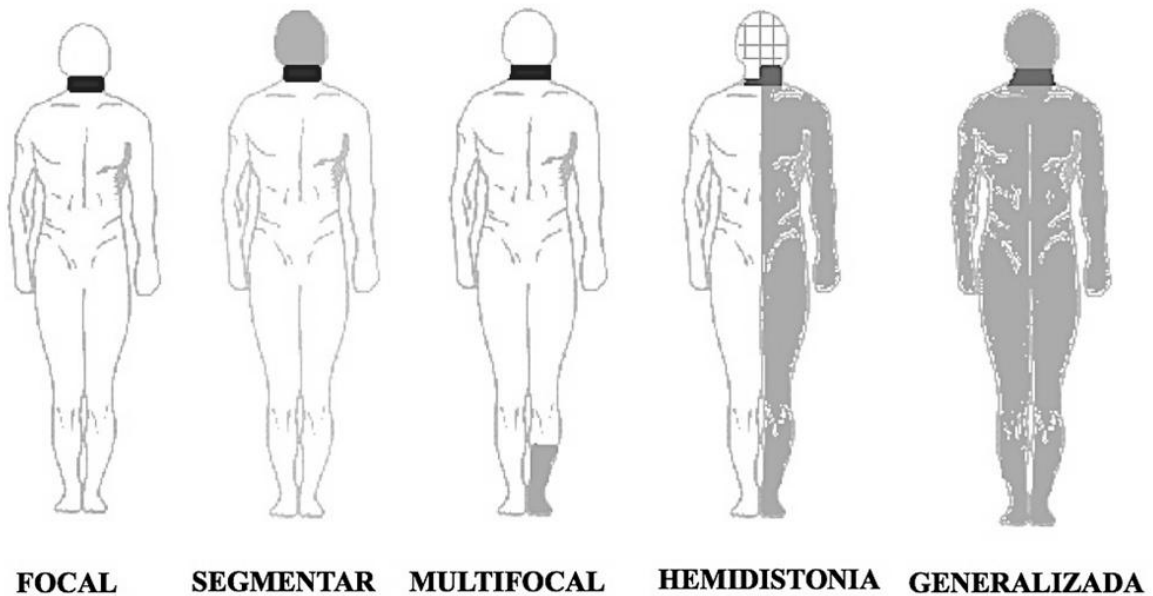
**Eixo II - Etiologia**

Patologia do sistema nervoso	Evidência de degeneração	
	Evidência de lesões estruturais	Frequentemente estática
	Nenhuma evidência de degeneração ou lesão estrutural	
Herdada ou adquirida	Herdada	Autossômica dominante Autossômica recessiva Ligada ao X Mitocondrial
	Adquirida	Anoxia perinatal, Infecção, Drogas, Tóxica, Vascular, Neoplásica, Trauma encefálico, Psicogênica
	Idiopática	Esporádica Familiar



A classificação das distonias por distribuição anatômica é dividida em cinco grupos: focal (afeta uma parte do corpo), segmentar (afeta duas ou mais regiões adjacentes), multifocal (afeta duas ou mais regiões não adjacentes), hemidistonia (afeta o membro superior e o membro inferior ipsilateralmente), e generalizada (afeta um ou ambos MMII com o tronco somados a outra região) (Tarsy e Simon, 2006). A partir da nova classificação, a definição de distonia generalizada modificou discretamente (Figura 2). Agora é necessário distonia<sup>Dis</sup> na região axial (tronco) e em pelo menos outras duas regiões. A presença ou não dos MMII deve ser mencionada. A DC continua classificada como uma distonia focal, mesmo com a presença da musculatura do ombro envolvida (Albanese et al., 2013).

FIGURA 2 – CLASSIFICAÇÃO DA DISTONIA CERVICAL CONFORME CARACTERÍSTICA CLÍNICA – DISTRIBUIÇÃO CORPORAL



Conforme Albanese et al., 2013

## 4 GENÉTICA

A contribuição da genética para o desenvolvimento da distonia tem sido reconhecida há muitos anos, mas só recentemente os cromossomos, genes e mecanismos moleculares envolvidos têm sido elucidados. Associado aos estudos epidemiológicos, o aumento dessas evidências sugere que a distonia cervical é influenciada por fatores genéticos. Entre os pacientes com distonia cervical, uma história familiar de algum tipo de distúrbio do movimento é presente em 44% dos pacientes: 12% têm parentes com distonia cervical, 8% apresentam outro tipo de distonia e 32% têm familiares com tremor essencial (Jankovic et al., 1991).

Os últimos anos têm sido pródigos em avanços no entendimento da genética das distonias, com novos loci e novos genes sendo identificados (Misbahuddin e Warner, 2001). Para as distonias generalizadas, os mecanismos genéticos são mais entendidos; já para as distonias focais, os genes e a susceptibilidade genética ainda não estão bem identificados. Apesar disso, alguns casos de distonia cervical podem ser reconhecidos entre os pacientes com mutações em alguns dos loci identificados (*DYT1* a *DYT25*) (Tabela 3) (Stacy, 2000; Sibbing et al., 2003; Müller, 2009; Lohmann e Klein, 2013).

As distonias hereditárias são clinicamente e geneticamente heterogêneas. Entre as formas genéticas conhecidas, são encontrados todos os modos de herança (autossômico recessivo, autossômico dominante e ligado ao X). Na Tabela 3 as distonias hereditárias são apresentadas em grupos conforme similaridades e relacionadas à nova classificação de 2013. A distonia DYT4, apesar de ser considerada uma distonia isolada pela maioria dos autores, está associada às distonias combinadas, devido sua concomitância com coreia (Müller, 2009).

### 4.1 As distonias isoladas

#### 4.1.1 As distonias persistentes de início precoce

TABELA 3 – APRESENTAÇÃO DAS DISTONIAS HEREDITÁRIAS\*

Categoria Clínica	Designação	Característica Clínica	Locus	Gene	Herança#
<b>Distonias Isoladas</b>					
<b>Distonias Persistentes</b>					
Distonias de Início Precoce	DYT1	Distonia generalizada primária de início precoce	9q	<i>TOR1-A</i> ou <i>DYT1</i>	AD
	DYT2	Distonia idiopática autossômica recessiva	-	-	AR
	DYT6	Distonia de tipo misto	8p	<i>THAP1</i> ou <i>DYT6</i>	AD
	DYT13	Distonia primária segmentar crânio-cervical de início precoce	1p	-	AD
	DYT17	Distonia idiopática autossômica recessiva primária	20pq	-	AR
Distonias de Início Tardio	DYT7	Distonia focal de início adulto	18p	-	AD
	DYT21	Distonia focal de início tardio autossômica dominante	2q	-	AD
	DYT23	Distonia cervical primária de início adulto	9q	<i>CIZ1</i>	AD
	DYT24	Distonia crânio-cervical autossômica dominante	11p	<i>ANO3</i>	AD
	DYT25	Distonia focal primária autossômica dominante de início tardio	18p	<i>GNAL</i>	AD

---

**Distonias Combinadas**
**Distonias Persistentes**

Distonias com Parkinsonismo	DYT5	Distonia dopa responsiva ou Distonia de Segawa	14q/1p	<i>GCH1</i> e <i>TH</i>	AD e AR
	DYT3	Distonia-parkinsonismo ligada ao X, “lubag”	Xq	<i>TAF1</i> ou <i>DYT3</i>	XR
	DYT12	Distonia-parkinsonismo de início rápido	19q	<i>ATP1A3</i>	AD
	DYT16	Distonia-parkinsonismo de início em jovens	2p	<i>PRKRA</i> ou <i>DYT16</i>	AR
Distonias com Mioclonia	DYT11	Distonia-mioclonia	7q	-	AD
	DYT15	Distonia-mioclonia	18p	<i>SGCE</i>	AD
Distonias com Coreia	DYT4	Distonia com disфонia em sussurro	19p	<i>TUBB4</i>	AD

**Distonias Paroxísticas**

Discinesias Paroxísticas	DYT8	Discinesia paroxística não cinesiogênica 1	2q	<i>MR-1</i>	AD
	DYT20	Discinesia paroxística não cinesiogênica 2	2q	-	AD
	DYT10	Discinesia paroxística cinesiogênica 1	16pq	<i>PRRT2</i>	AD
	DYT19	Discinesia paroxística cinesiogênica 2	16q	-	AD
	DYT18	Discinesia paroxística induzida por exercícios	1p	<i>SLC2A1</i> ou <i>GLUT1</i>	AD

---

\*Baseado em de Carvalho Aguiar e Ozelius (2002), Müller (2009), Klein (2009), Lohmann e Klein (2013).

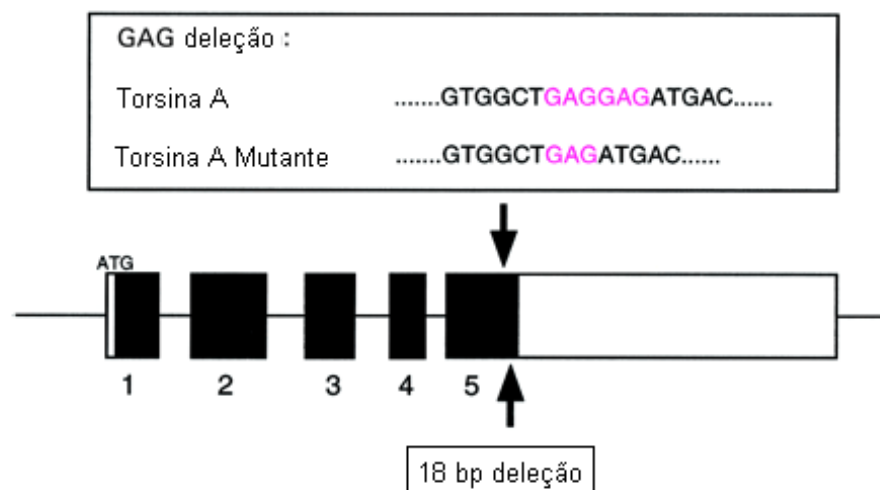
# AD – Autossômica dominante, AR – Autossômica recessiva, XR – Recessiva ligada ao X

#### 4.1.1.1 A distonia DYT1

O gene *DYT1* (também conhecido como *TOR1A*) causa a forma mais grave de distonia – distonia generalizada primária de início precoce ou distonia de Oppenheim (de Carvalho Aguiar e Ozelius, 2002)

Ozelius et al. (1989) estabeleceram ligação entre marcadores no DNA no braço longo do cromossomo 9 (9q34) e distonia em uma grande família com distonia generalizada de início precoce. O gene *DYT1* foi, na sequência, clonado e a deleção 3-bp (deleção GAG) identificada no locus 9q34. Essa deleção *in-frame* resulta na perda de um par de ácido glutâmico (Glu-Glu) da região C-terminal (terminal carboxi) em uma proteína de 332 aminoácidos denominada **torsina-A** (Figura 1) (Ozelius et al., 1997a, 1997b; Valente et al., 1998). O gene *DYT1* é composto por cinco éxons e a deleção GAG está no éxon 5, no nucleotídeo 946 (Figura 3) (Németh, 2002).

FIGURA 3 – ESTRUTURA GENÔMICA DO *DYT1* (CINCO ÉXONS) E LOCALIZAÇÃO DA DELEÇÃO GAG E DA DELEÇÃO 18-PB\*



\*Modificado de Németh (2002)

A descrição de um forte desequilíbrio de ligação entre um haplótipo estendido nos loci ABL-ASS do cromossomo 9q e o gene *DYT1* na população Ashkenasi trouxe importante evidência de que um evento mutante único no gene *DYT1* pudesse ser responsável pela maioria dos casos de distonia de início precoce nessa população. (Ozelius et al., 1992). Esse efeito fundador poderia também explicar a alta frequência da distonia observada na população judaica (Gasser e Oertel, 2000). A distonia DYT1 deve ser um dos raros exemplos de uma condição herdada de modo dominante causada por uma mesma e recorrente mutação (Tufrery-Giraud et al., 2001). A análise do marcador associado ao haplótipo (marcando a mutação carregada pelo cromossomo nessa população), combinado ao conhecimento do padrão de migração dos judeus Ashkenazi, na Europa, levaram Risch et al. (1995) a concluir que a mutação originou-se em um indivíduo fundador que viveu há aproximadamente 350 anos na Lituânia ou Belarus.

Entretanto, o efeito fundador causando a distonia DYT1 tem sido questionado. Não há relatos de desequilíbrio de ligação em população de etnias não judaicas (Bressmann et al., 1994a). Além disso, um único caso de outra mutação, uma 18-bp deleção, também no éxon 5 do gene *DYT1*, foi relatado em uma paciente com distonia e mioclonia (Leung et al., 2001). Uma outra mutação, a p.Arg288Gln, no éxon 5, foi descrita em uma paciente com distonia generalizada de início muito precoce e evolução grave (Zirn et al., 2008).

A torsina-A está presente em neurônios de todas as regiões examinadas de encéfalos e também em vários órgãos periféricos de ratos (Shashidharan et al., 2000). Estudos de hibridização *in situ*, em cadáveres humanos, sugerem que o RNA mensageiro de torsina-A está muito aumentado em neurônios dopaminérgicos da *pars compacta* da substância negra. Uma expressão intensa de RNA mensageiro também foi encontrada no cerebelo e hipocampo (Konakova et al., 2001; Walker e Shashidharan, 2003).

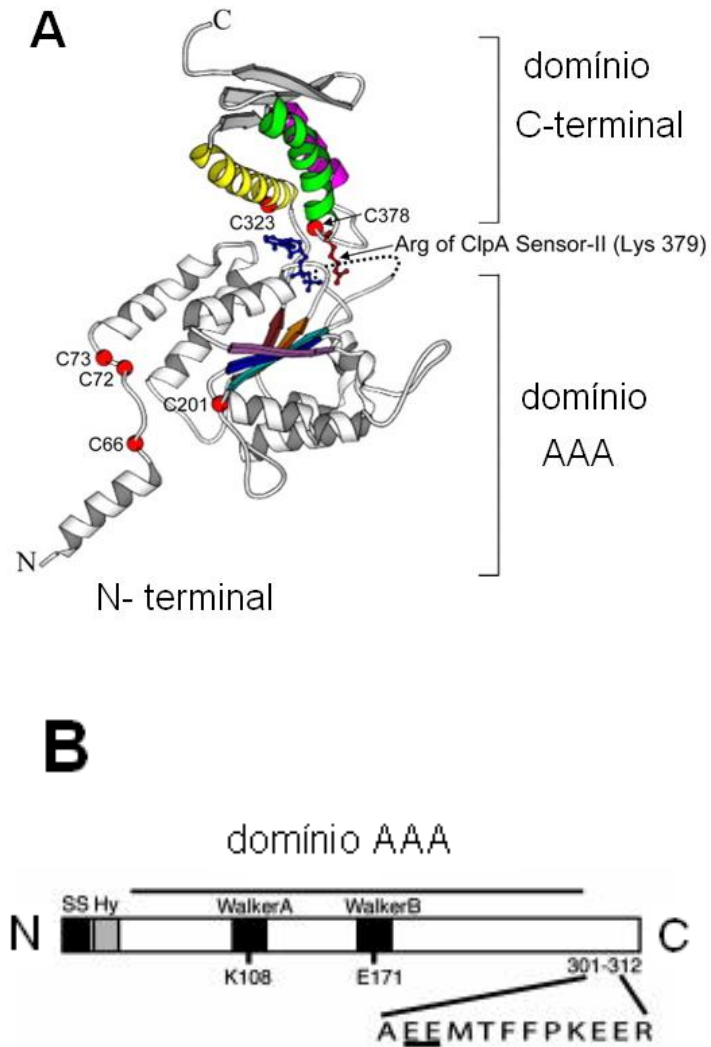
A torsina-A pode ser localizada tanto no núcleo quanto no citoplasma. É possível que ela tenha uma importante função nuclear (Walker e Shashidharan, 2003). A ação da torsina-A na função celular não está totalmente esclarecida, contudo,

possíveis funções podem ser inferidas a partir de sua sequência de aminoácidos e homologia com outras proteínas com funções bem documentadas. Diferentes estudos têm sugerido que a torsina-A tem ações tanto na regulação da organização do envelope nuclear (EN) e do retículo endoplasmático (RE), quanto ações em vias secretórias, e na reciclagem de vesículas sinápticas (Hewett et al., 2000; Torres et al., 2004; Goodchild e Dauer, 2004; Hewett et al., 2007; Granata et al., 2008; Granata et al., 2009).

Tem sido demonstrado, *in vitro*, que a torsina-A liga-se à ATP (Ozelius et al., 1997b, Ozelius et al., 1999, Walker e Shashidharan, 2003). A torsina-A faz parte de uma superfamília de proteínas que incluem um grupo de proteínas chaperonas, as ATPases Associadas com uma variedade de Atividades (AAA<sup>+</sup>), e as *heat shock proteins* (HSP 100)/Clp ATPases (Ozelius et al., 1997b; Hewett et al., 2000). As proteínas AAA<sup>+</sup> contêm um ou dois módulos estáveis AAA<sup>+</sup> *ATP-binding* em suas sequências. A esses módulos se atribuem a especificidade da atividade de uma proteína AAA<sup>+</sup>. As proteínas AAA<sup>+</sup> têm importante ação no processo celular: reativação proteica, degradação proteica, replicação do DNA, regulação da expressão gênica, termo-tolerância e translocação de proteínas através das membranas (Liu et al., 2003; Walker e Shashidharan, 2003).

A torsina-A contém um único módulo AAA<sup>+</sup>, na região C-terminal (Figura 4). Então, é possível que a região C-terminal da torsina-A (onde a deleção do glutamato associado à distonia ocorre) contenha um domínio de ligação que determine sozinho a função da proteína (Liu et al., 2003; Callan et al., 2007). É provável que a torsina-A, mantendo as características das outras proteínas AAA<sup>+</sup>, execute suas atividades como uma proteína chaperona, interagindo com diversos parceiros ligantes, incluindo as proteínas transmembranas LAP1 e LULL1 no EN e no ER, a KLC1 no citoplasma, os filamentos intermediários vimentina e snapina (proteína associada ao SNARE) nas vesículas sinápticas (Figura 5) (Kamm et al., 2004a; Goodchild e Dauer, 2005; Granata et al., 2008; Granata et al., 2009; Burdette et al., 2010).

FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO DA PROTEÍNA TORSINA-A\*



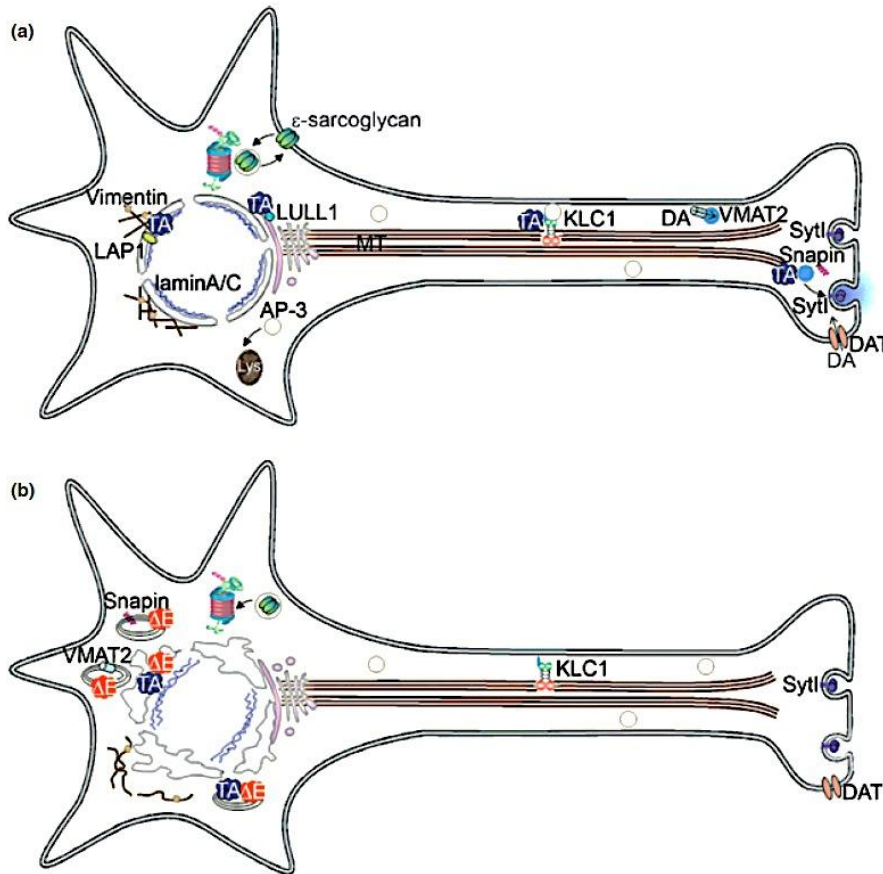
A – Modelo estrutural geral da proteína OOC-5 e outros membros da família torsina.

B – Representação esquemática da proteína torsina-A. A mutação com deleção do ácido glutâmico está sublinhada. C – terminal em branco compreendendo o domínio AAA. N – terminal em cinza, hidrofóbico (Hy)

\*Modificado de Goodchild e Dauer, 2004 e Zhu et al., 2008



FIGURA 5 – MODELO ESQUEMÁTICO DA LOCALIZAÇÃO SUBCELULAR DA TORSINA-A E DA TORSINA-A MUTANTE, E POTENCIAIS AÇÕES CELULARES\*



(a) – Torsina-A (TA) observada no RE e no EN, onde são demonstradas as interações com outras proteínas.

(b) – São apresentadas alterações celulares decorrentes da alteração da torsina-A mutante (TA ΔE). A TA e outros fatores controladores da dinâmica e composição da vesícula sináptica incluem a snapina e a transportadora vesicular de monoamina 2 (VMAT2).

Nas duas figuras é observado o transportador de dopamina (DAT-1).

\*Modificado de Granata et al., 2009

O domínio C-terminal da torsina-A localiza-se no lúmen do RE. Uma sequência 21-40 de aminoácidos da torsina-A formam a região N-terminal hidrofóbica, que fica ligada à membrana do RE (Liu et al., 2003). A topologia transmembrana da torsina-A no retículo endoplasmático é análogo ao da AAA<sup>+</sup> protease mitocondrial fúngica Yme1p, a qual está ancorada na parte interna da membrana, com um único segmento N-terminal transmembrana, e tem seu domínio catalítico C-terminal exposto no espaço

intermembrana (Liu et al., 2003). Contudo, a torsina-A não se comporta como uma típica proteína integral de membrana porque, provavelmente, ela esteja acoplada à membrana do RE por uma ligação a outra proteína integral da membrana endoplasmática (Callan et al., 2007). Uma nova proteína, a domínio luminal, semelhante ao polipeptídeo associado à lâmina 1 (LULL 1), foi proposta como um substrato de ligação da torsina-A à membrana do RE (Goodchild e Dauer, 2005). O aumento da expressão dessa proteína induz a torsina-A a uma redistribuição do RE para o EN, onde ocorre uma reversão da diminuição da sua concentração. Esse processo ocorre com maior dificuldade quando há mutação no gene *DYT1* (Vander Heyden et al., 2009).

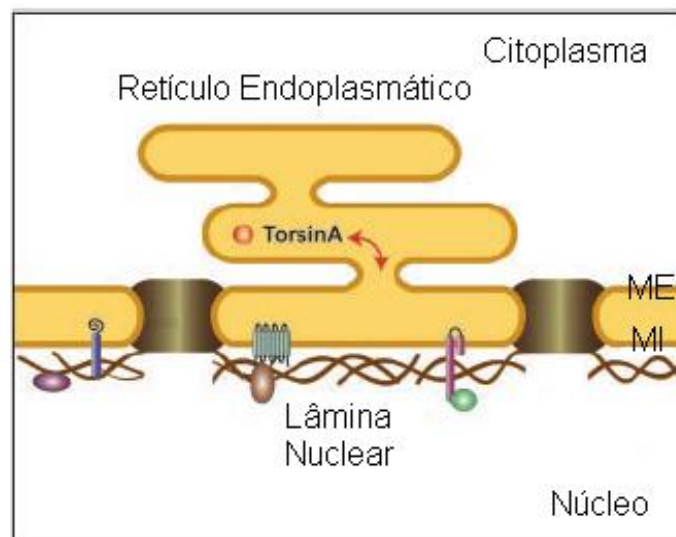
É possível também que um grupo de torsina-A não esteja firmemente fixado à membrana do RE e possa se mover no lúmen entre o RE e o EN (Callan et al., 2007). Vários estudos indicam que a torsina-A também interage com o EN. O EN é a estrutura membranosa que forma o limite do núcleo das células eucarióticas. O EN é formado por uma membrana interna e outra externa. A membrana interna é contornada por uma lâmina nuclear e a membrana externa é morfologicamente contínua ao RE. Uma torsina-A normal não pode se ligar à lâmina nuclear do EN, assim, somente uma torsina-A alterada, como a associada à mutação *DYT1*, poderia se acumular de forma anormal no EN, sugerindo que disfunção da proteína e do EN podem contribuir para a patogênese da doença (Figura 6) (Gerace, 2004; Gonzalez-Alegre e Paulson, 2004; Goodchild e Dauer, 2004). Esse acúmulo de torsina-A mutante no EN parece ser, portanto, o substrato patológico celular principal do mecanismo da distonia *DYT1*. Entretanto, parece que esse acúmulo não é suficiente para causar uma desregulação transcripcional (Martin et al., 2009).

As proteínas próprias no EN tipicamente se concentram na membrana nuclear através de um mecanismo de retenção seletivo mediado por ligação à lâmina nuclear. Conseqüentemente, as proteínas do EN são menos móveis que as proteínas da membrana do RE. Se a torsina-A interage com as proteínas do EN, ela deveria, portanto, manifestar similarmente uma redução da mobilidade no EN. Desta forma, o achado de torsina-A mutante, comportando-se de forma mais lenta, é compatível com

a hipótese de que o acúmulo de torsina-A alterada por mutação no *DYT1* no EN seja causado por uma interação com um substrato transmembrana imobilizado. A ligação do domínio luminal do polipeptídeo associado à lâmina 1 (LAP 1), uma proteína do EN, à torsina-A foi comprovada, confirmando a interação torsina-A-EN, sendo, portanto, o LAP 1 um substrato para torsina-A no EN (Goodchild e Dauer, 2005).

Outra interação da torsina-A relacionada com o EN é uma associação entre a torsina-A do lúmen do EN e a proteína transmembrana da membrana externa do EN nesprina-3, a qual está ligada a duas proteínas citoplasmáticas: plectina e vimentina. Os filamentos intermediários de vimentina formam uma rede ao redor do EN e estão envolvidos na definição da forma nuclear e modulação do movimento nuclear (Figura 7). A associação torsina-A/nesprina-3 parece envolver uma interação direta entre o domínio *Klarsicht/ANC-1/Syne homology* (KASH) no C-terminal da nesprina-3 e a região C-terminal da torsina-A. A torsina-A também se liga a domínios KASH de nesprina-1 e nesprina-2, que estão relacionadas à proteína citoplasmática actina (Nery et al., 2008).

FIGURA 6 – LOCALIZAÇÃO DA TORSINA-A NO RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO E ENVELOPE NUCLEAR\*

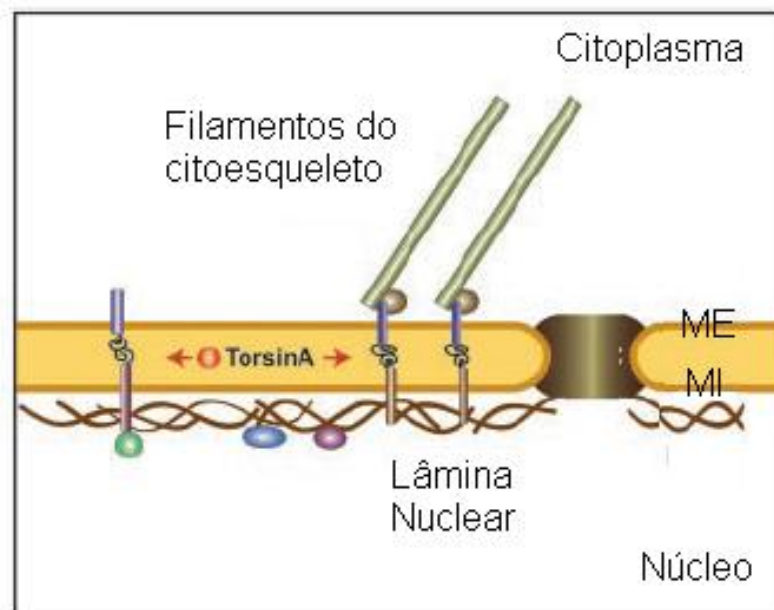


\*ME-membrana externa, MI-membrana interna do envelope nuclear.

Modificado de Gerace, 2004

A torsina-A tem ação também na localização da nesprina-3 na célula. Em fibroblastos com ausência de torsina-A, a nesprina 3- $\alpha$  (análogo da nesprina-3 humana em ratos) concentra-se no RE, enquanto nas células com torsina-A ela se localiza predominantemente no EN. Na distonia DYT1, a forma inativa mutante de torsina-A liga-se mais fortemente a nesprina-3 que a torsina-A normal. Então, em controles, a localização da nesprina-3 é predominantemente no EN, enquanto em células-DYT1 a nesprina-3 localiza-se predominantemente no RE, que é rico em torsina-A, vimentina e actina. Essa associação torsina-A-nesprina-citoesqueleto não parece estar envolvida na manutenção da estrutura do EN *per se*, porém, em células-DYT1 foi demonstrada uma redução da habilidade em posicionar o núcleo atrás do centrômero em relação ao comando da migração celular no meio de cultura, e sua própria migração foi atrasada em relação a células com torsina-A normal (Nery et al., 2008).

FIGURA 7 – INTERAÇÃO DA TORSINA-A COM FILAMENTOS DO CITOESQUELETO\*



\*ME-membrana externa, MI-membrana interna do envelope nuclear.

Modificado de Gerace, 2004

Além do mecanismo patológico relacionado ao EN, e da associação da torsina-A com proteínas do citoesqueleto no citoplasma, é possível que a distonia se origine de uma interação entre uma torsina-A alterada com outros substratos na periferia do RE. (Kamm et al., 2004a, Nery et al., 2008). Algumas evidências sugerem que, em alguma quantidade, algumas moléculas de torsina-A tenham uma fração de sua parte membranosa localizada fora do RE, no citoplasma. Há a possibilidade, de em alguns casos, a torsina-A ter a sua porção C-terminal ancorada na membrana e, então, exposta ao citoplasma. A torsina-A pode ser encontrada também em vesículas soltas no citoplasma. Uma vez apresentada no citoplasma, a porção C-terminal da torsina-A pode interagir com a proteína cinesina em outro potencial mecanismo de doença. A hipótese é de que a torsina-A possa agir como uma chaperona para a cinesina, potencialmente resultando na associação da cinesina com transporte (ela tem função no tráfego intracelular e na condução da própria torsina-A), e/ou ativando a cinesina para sua mudança de conformação de um estado compactado para um estado descompactado. Devido à associação da torsina-A e da cinesina no RE e sua direta inter-relação, a torsina-A pode também estar envolvida no fluxo anterógrado cinesina-mediado das membranas túbulo-vesiculares dos axônios (Kamm et al., 2004a).

A mutação no gene *DYT1* pode também influenciar o processo de degradação e oligomerização da torsina-A. A oligomerização dependente de formação de pontes dissulfídicas, que é parte importante na fisiopatogenia molecular da distonia DYT1, não resulta da localização da torsina-A no EN, mas provavelmente é resultado da mutação por si própria. Além disso, a presença das pontes dissulfídicas intermoleculares modula o processo catabólico dos oligômeros da torsina-A mutante. Portanto, esses dados sugerem que a diferença na localização subcelular e na oligomerização da torsina-A influenciam na sua degradação, podendo ter uma importante ação na patogênese da distonia DYT1. A manipulação farmacológica das vias de degradação da torsina-A poderiam, então, ser usadas para mudar o curso da doença (Gonzalez-Alegre e Paulson, 2004; Gordon e Gonzalez-Alegre, 2008).

Há relativamente poucos estudos neuropatológicos de pacientes com distonia na literatura. Nenhuma alteração patológica consistente no encéfalo, incluindo os núcleos

da base, tem sido encontrada em pacientes com distonia isolada progressiva. Também, uma alteração do padrão de imunorreatividade da torsina-A no nível do microscópio eletrônico não tem sido observada em encéfalos de pacientes com distonia DYT1 (Rostasy et al., 2003; Walker et al., 2002). As inclusões citoplasmáticas, quando observadas, em células neuronais de pacientes com mutação no gene *DYT1*, são morfologicamente distintas dos agregados densos encontrados em doenças neurodegenerativas com doença de Alzheimer, doença de Parkinson e doença de Huntington (Hewett et al., 2000).

Com a falta de comprovação de dano estrutural, estudos sugerem que a etiopatogênese da distonia DYT1 está relacionada a um desequilíbrio funcional da atividade normal neuronal, sem alterações anatômicas (Walker e Shashidharan, 2003). Claramente, mutações no gene *DYT1* ocasionam alterações em múltiplas partes de uma extensa rede, incluindo núcleos da base, tálamo, córtex e cerebelo (Zhao et al., 2011). A torsina-A é altamente expressada nas células de Purkinje cerebelares. Uma torsina-A mutante pode provocar alterações nas vias da memória de procedimento e no comportamento de camundongos (Yokoi et al., 2009).

Entretanto, apesar dessa distribuição da torsina-A por grande parte do encéfalo, ela está preferencialmente expressa na substância negra, e pode interferir com a vesícula de transporte da dopamina (Augood et al., 1999; Jarman et al., 1999, Misbahuddin et al., 2005). Um aumento da densidade de células da substância negra tem sido observado associado com aumento somático de neurônios dopaminérgicos nigrais em humanos com distonia DYT1 (Rostasy et al., 2003). A torsina-A tem ação na distribuição na superfície da célula da proteína transportadora de dopamina (DAT) (Torres et al., 2004). Portanto, especula-se que, na distonia DYT1, um efeito da torsina-A mutante na liberação da dopamina, de modo uso-dependente, e o aumento do *turnover* de dopamina estriatal resultem na perda da seletividade da programação motora. (Walker e Shashidharan, 2003; Zhao et al., 2008).

Ainda no metabolismo da dopamina, a proteína  $\alpha$ -sinucleína participa regulando a síntese de dopamina, seu estoque vesicular, e sua liberação. Um mau funcionamento da  $\alpha$ -sinucleína pode ser potencialmente crítico para um distúrbio no correto equilíbrio

necessário para a homeostase celular dopaminérgica. Esse potencial efeito tóxico da  $\alpha$ -sinucleína pode ser aumentado pela geração de radicais livres oxidativos. A  $\alpha$ -sinucleína parece modular a ação da proteína transportadora de dopamina (DAT), agindo no mecanismo de recaptção da dopamina. Alteração desse mecanismo parece ser a causa de uma subsequente degeneração. A torsina-A exibe uma potente neuroproteção para degeneração  $\alpha$ -sinucleína-induzida através de uma função chaperona-like no combate ao estresse oxidativo. É possível, também, que as torsinas possam atenuar a toxicidade da  $\alpha$ -sinucleína por diminuírem os níveis intracelulares de dopamina através de um *downregulation* das DAT (Cao et al., 2005). É possível se considerar, portanto, que a torsina-A tenha uma capacidade de proteger os neurônios contra o estresse oxidativo, e contra a apoptose (Chen et al., 2010).

Outro dado que corrobora a ação de uma torsina-A mutante em neurônios dopaminérgicos é a interação com a tirosina hidroxilase (TH) (O'Farrell et al., 2009). Essa enzima, bastante importante no metabolismo da dopamina, pode estar alterada por ação de uma série de mutações no gene *TH*, causando uma distonia hereditária autossômica recessiva (DYT5-b) (Swoboda e Furukawa, 2008). A principal característica é uma grande melhora com a terapêutica com levodopa (Bräutigam et al., 1998). Foi demonstrado que a torsina-A selvagem pouco interage com essa enzima, mas é possível que ela aja como uma chaperona para a TH como as outras proteínas do grupo AAA<sup>+</sup>. Ao contrário, a torsina-A mutante tem uma interação aumentada com a TH. Essa co-expressão resulta em um significativo aumento da atividade de TH, possibilitando uma disrupção em mecanismos de regulatórios da TH (O'Farrell et al., 2009).

Os neurônios colinérgicos do *striatum* podem manifestar receptores D2 para dopamina, e esses receptores podem estar alterados em camundongos com torsina-A mutante. Uma sinalização anormal, através de receptores D2, tem demonstrado ter uma relevante consequência funcional no circuito estriatal, por elevar os níveis de acetilcolina. Esses dados são coerentes com a observação clínica de que uma terapia efetiva para distonia é feita com drogas anticolinérgicas como o triexifenidil (THP), um antagonista preferencialmente dos receptores muscarínicos M1, e fortalece a

hipótese de que o equilíbrio dopaminérgico/colinérgico tem um importante papel na patogenia da distonia (Napolitano et al., 2010; Sciamanna et al., 2011; Sciamanna et al., 2012a, 2012b). Foi demonstrado que o THP pode restabelecer a redução da depressão de atividades de longo-tempo em neurônios nigroestriatais, ativados por receptores D2, em camundongos com torsina-A mutante. Portanto, uma comunicação alterada entre os interneurônios estriatais colinérgicos e os neurônios dopaminérgicos nigroestriatais poderia ser a causa dos sintomas distônicos na distonia DYT1 (Dang et al., 2012; Sciamanna et al., 2012a).

Em resumo, os resultados e as conclusões sobre estudos de torsina-A, apresentados e discutidos aqui, apontam não somente para uma perda de função ocasionada pela mutação no gene *DYT1* na proteína resultante, mas provavelmente para mudanças nos mecanismos mediados pela torsina-A. Nesses complexos esquemas intracelulares, poderiam se destacar funções no metabolismo celular, chaperona-like, e de neuroproteção. Ambas estariam associadas a neurônios dopaminérgicos e colinérgicos em pacientes com distonia.

O diagnóstico por análise da mutação para *DYT1* é agora facilmente possível em pacientes com distonia. Contudo, devido penetrância reduzida (30-40%), a grande variabilidade de expressão clínica, e fatores que influenciam a penetrância/expressão clínica praticamente desconhecidos, deve-se ter em mente que a probabilidade de um indivíduo carregar a mutação e desenvolver os sintomas é de apenas 30%. Também, a gravidade da doença não pode ser prevista (Bressman et al., 2000; Gasser e Oertel, 2000). As características clínicas da distonia associada ao *DYT1* são início nos membros com extensão para o tronco, com um gradiente de início caudal para rostral com a idade e generalização e média em 5 anos (Bressman et al., 2000; O’Riordan et al., 2004b). Início da distonia quase sempre ocorre em um membro, embora casos de início no pescoço, laringe, face-crânio e tronco tenham sido relatados (Edwards et al., 2003, Bressman et al., 2000). Bressman et al. (2000) observaram um início mais comum pelos MMSS em pacientes de origem judaica Askenazi, 59,6% (n=52), e um relação inversa em pacientes de outras etnias, 60% (n=45), com início em MMII.



Apesar de gravemente afetados pela distonia, os pacientes normalmente não têm outras alterações neurológicas ou alterações intelectuais (Bressman et al., 2000).

O início da distonia DYT1 com apresentação focal pescoço parece ser muito raro. Mesmo na grande maioria dos casos atípicos, a distonia inicia-se em um dos membros, embora se espalhe subsequentemente para a região crânio-cervical em vários pacientes, principalmente nos pacientes com fenótipo de distonia generalizada (Gambarin et al., 2006). Os pacientes com distonias focais ou segmentares crânio-cervicais parecem não carregar a mutação GAG para o gene *DYT1*. Todos os pacientes estudados por Valente et al. (1998) com distonia segmentar crânio-cervical (n=37) demonstraram análise negativa para a mutação. Entre os pacientes com distonias focais, 98% (n=60) tiveram testes negativos para mutação no gene *DYT1*.

Então, a definição de um fenótipo “típico” para distonia com mutação no gene *DYT1* seria um quadro generalizado iniciado precocemente (antes dos 28 anos), pelos membros (preferencialmente inferiores), sem envolvimento dos músculos da cabeça e do pescoço. Aproximadamente 60% dos pacientes com a mutação para *DYT1* apresentam-se com esse fenótipo (Valente et al., 1998). De acordo com a *Task Force of European Section of Movement Disorders Society and the European Federation of Neurological Societies*, os três fatores preditivos fundamentais para a distonia DYT1 são idade de início inferior a 30 anos, início em um dos membros, e uma história familiar positiva (Albanese et al., 2006). Esse grupo chegou a essa conclusão porque apesar de descrições de variação de início do quadro (quatro meses a 64 anos de idade), início após a terceira década de vida corresponde a apenas 9% dos casos (Edwards et al., 2003).

#### 4.1.1.2 A distonia DYT2

A existência da DYT2, forma autossômica recessiva de distonia, é muito questionada. Poucos casos foram relatados e o lócus ainda não foi localizado (Németh, 2002; de Carvalho Aguiar e Ozelius, 2002; Zlotogora, 2004).

A primeira descrição de casos atribuídos a DYT2 são de 1934, com uma família de três irmãos, filhos de pais consanguíneos (Santangelo, 1934). A segunda descrição foi de três famílias consanguíneas de ciganos espanhóis. Em duas das três famílias o fenótipo relembra a distonia DYT1 com idade média de início de  $15 \pm 6,6$  anos, distonia iniciando pelo pé, seguida de rápida generalização em todas as crianças afetadas. Na terceira família, distonia oromandibular e distonia cervical eram as principais manifestações (Giménez-Rolden et al., 1988). Pode-se questionar se realmente há uma nova forma de distonia com herança autossômica recessiva, ou trata-se de uma distonia DYT1 com penetrância reduzida (de Carvalho Aguiar e Ozelius, 2002).

Outros poucos relatos não ajudam a compreender a distonia DYT2 como uma nova doença. Khan et al. (2003) descreveram uma família judaico-iraniana com três irmãos com distonia, filhos de pais consanguíneos, com herança autossômica recessiva. Há a descrição de uma família mexicana (ancestrais espanhóis e indígenas) e outra sul-africana com distonia generalizada em herança autossômica recessiva, sem consanguinidade, porém sem avaliações genéticas (Lisker et al., 1984; Oswald et al., 1986). Moretti et al. (2005) descreveram outra família, de origem árabe, com muitas semelhanças às descritas anteriormente como DYT2. Havia consanguinidade entre os pais e dois filhos afetados com fenótipo semelhante à distonia DYT1, apesar de não encontrada mutação no gene *DYT1*. O argumento da consanguinidade, usada como fundamento para a afirmação de um padrão de herança autossômica recessiva, nesse caso, também pode ser questionado (Zlotogora, 2004).

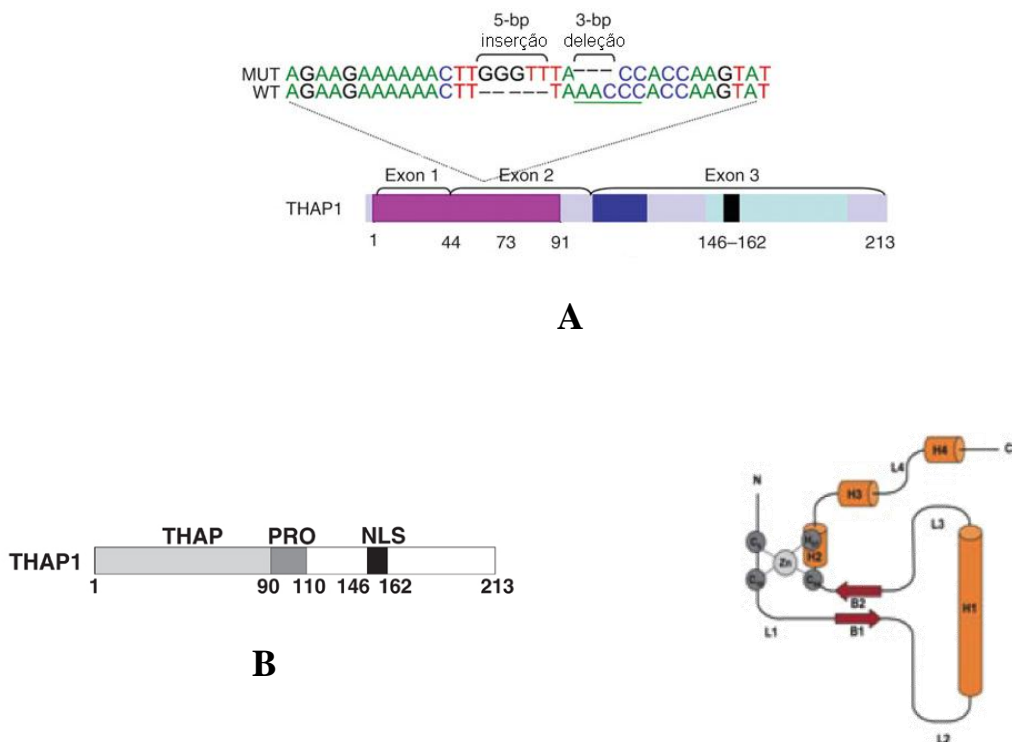
#### 4.1.1.3 A distonia DYT6

O padrão de herança da distonia DYT6, ou distonia de tipo misto (DTM), é autossômico dominante com penetrância incompleta, e foi identificado inicialmente em famílias de origem amish-memonita. O termo “misto” para DTM derivou de sua apresentação tanto axial quanto apendicular, tanto focal quanto generalizada, e tanto de início na adolescência quanto em adultos (Almasy et al., 1997; Müller, 2009). Alguns indivíduos têm o fenótipo indistinguível da distonia DYT1; entretanto, o sítio

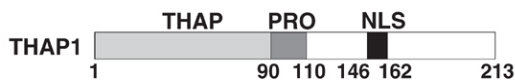
de início em muitos pacientes é crânio-cervical e o início costuma ser um pouco mais tardio, na adolescência ou idade adulta. Apesar da evolução natural para distonia generalizada, lentamente progressiva, alguns casos podem permanecer com distonia focal (Almasy et al., 1997; Németh, 2002; Bressman, 2007; Müller, 2009).

A DTM é herdada com uma penetrância, independente do sexo, de aproximadamente 60% (Saunders-Pullman et al., 2007). O locus 8p21-q22, *DYT6*, foi originalmente determinado em duas famílias amish-menonitas (Almasy et al., 1997). Uma mutação *frameshift* em heterozigose, causada por dois eventos, sendo uma inserção 5-bp (GGGTT), seguida de uma deleção 3-bp (AAC) no éxon 2 do gene *DYT6* (*THAP1*), foi a primeira identificada em pacientes com distonia *DYT6* (Bressman et al., 2009, Fuchs et al., 2009). O gene *DYT6*, localizado na região cromossômica 8p11.21 (Figura 8), é composto por três éxons e codifica o domínio da proteína *thanatos*-associada pertencente à proteína 1 associada a apoptose (THAP 1) (Roussigne et al., 2003a; Müller, 2009; Bressman et al., 2009).

A THAP1 é uma longa proteína, com 213 aminoácidos, membro de uma família de fatores celulares, as proteínas THAP (proteína *thanatos*-associada), caracterizadas pela presença de um motivo proteico filogeneticamente conservado em seu N-terminal. Esse domínio, denominado domínio-THAP, é um domínio atípico ligante-ao-DNA em “dedo de zinco”. O domínio-THAP (aminoácidos 1 a 81) é uma sequência específica de um módulo de ligação ao DNA dependente de zinco, e sua atividade de ligação ao DNA requer uma assinatura C2CH (Cys-X<sub>2-4</sub>-Cys-X<sub>35-53</sub>-Cys-X<sub>2</sub>-His), associada com quatro resíduos constantes (Pro<sub>26</sub>, Trp<sub>36</sub>, Phe<sub>58</sub>, Pro<sub>78</sub>), encontrada em outros vertebrados e invertebrados. Algumas mutagêneses diretas desses oito aminoácidos demonstraram sua importância crítica para ligações específicas zinco-dependente do domínio THAP para um sequenciamento preciso do DNA. Em sequência, na direção do C-terminal da proteína, são encontrados: uma região rica em prolina (aminoácidos 90 a 110), um domínio em mola, e um sinal de localização nuclear (aminoácidos 146 a 162) (Figura 8) (Roussigne et al., 2003a, 2003b; Clouaire et al., 2005; Bessière et al., 2008; Blanchard et al., 2011a).

FIGURA 8 – REPRESENTAÇÕES DO GENE *DYT6* (*THAP1*) E DA PROTEÍNA THAP1\*

A



B

- A- Gene *DYT6* com três éxons e a primeira mutação *frameshift* em heterozigose [gerada por uma inserção 5-bp (GGGTT), seguida de uma deleção 3-bp (AAC)] descrita.
- B- Proteína THAP1 com representação do domínio THAP no N-terminal, seguida da área rica em prolina (PRO) e do sinal de localização nuclear (NLS) próximo ao C-terminal.

\*Modificado de Roussigne et al., 2003a e Bressman et al., 2009.

Em humanos, a família THAP compreende pelo menos 12 membros distintos, incluindo a proteína DAP4/p52rIPK<sup>1</sup> (THAP0), envolvida no processo de apoptose, relacionada ao interferon- $\gamma$ , e as proteínas *thanatos*-associada 1 a 11 (THAP1 a THAP11). A THAP1 é um fator nuclear pró-apoptótico, que potencializa mecanismos como a indução de a apoptose pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), e interage independentemente com outro fator pró-apoptótico, o fator próstata-apoptose-reativo 4 (Par4) (Roussigne et al., 2003a, 2003b).

<sup>1</sup> DAP – *death-associate protein*: proteína associada à morte celular (Roussigne et al., 2003b).

Embora grande parte da ação biológica das proteínas THAP permaneçam desconhecidas, além da função em vias da apoptose, alguns dados têm confirmado uma importante participação na proliferação celular. A THAP1 é uma reguladora fisiológica endógena da proliferação celular endotelial e da progressão do ciclo celular  $G_1/S$ , os quais modulam a expressão de vários genes-alvo do ciclo celular pRb/E2F. Além disso, o gene RRM1, que regula a  $G_1/S$  requerida para a fase S da síntese do DNA, é um alvo transcripcional direto da THAP1 (Cayrol et al., 2007).

As células endoteliais têm a habilidade de entrar e sair de seu ciclo celular, proliferar e formar neo-vasos em processo chamado neo-vascularização ou angiogênese. Um melhor entendimento desses processos moleculares e fatores de proliferação endoteliais poderiam auxiliar no conhecimento e controle do câncer e outras doenças crônicas (Cayrol et al., 2007). Uma pequena, mas crescente lista de proteínas envolvidas na imortalidade ou potencial indutor de apoptose das células do câncer, tem sido implicada em funções fisiológicas no sistema nervoso, incluindo neurogênese e plasticidade sináptica (Gilman e Mattson, 2002). Os corpos nucleares da leucemia pró-mielocítica (PML-NBs – *promyelocytic leukemia nuclear bodies*) ou domínios oncogênicos PML (PODs) são domínios subnucleares discretos que estão rompidos em células da leucemia pró-mielocítica aguda (LPA), modulando respostas pró-apoptóticas. A THAP1 é um fator pró-apoptótico associado aos PODs. A THAP1 interage e co-localiza os PODs com o Par-4. As interações entre THAP1, PODs e Par-4 parecem ser intensas: (1) a THAP1 pode recrutar o Par-4 para tarefas específicas e, assim, estimular ou inibir genes envolvidos na apoptose; (1) PODs podem representar centros, em que Par-4 e THAP1 são aglutinados em complexos multiproteicos e/ou modificados após processo de translação; (2) PODs podem representar sítios de degradação nuclear ou depósitos nucleares, que sequestram e, através disso, inativam Par-4 e THAP1; (3) o efeito da localização dos PODs, a ação do Par-4 e da THAP1 no controle transcripcional seriam consistentes com a observação que os PODs contêm muitos fatores de transcrição e parecem exercer ação-chave na regulação do processo de transcrição (Roussigne et al., 2003a).

As análises das sequências de aminoácidos de Par-4 indicam que ele contém um domínio em seu C-terminal, que é homólogo ao “domínio de morte” das proteínas atuantes nas vias celulares sinalizadoras da apoptose, por exemplo, receptor TNF, proteínas associadas ao receptor TNF e caspases. Contudo, o exame da localização subcelular do Par-4, em vários tipos de células (inclusive neurônios), indica que Par-4 é localizado primariamente no citoplasma e não no processo nuclear de translocação de células em apoptose (Sells et al., 1997; Guo et al., 1998). A super-expressão de Par-4 sozinho não induz a apoptose, mas causa um grande aumento da vulnerabilidade celular à apoptose (Sells et al., 1997).

Existe, portanto, uma relação do Par-4 em apoptose celular, e uma ação combinada do Par-4 e da THAP1 nesse processo (Sells et al., 1997; Roussigne et al., 2003a). Sabe-se, também, da expressão do Par-4 em várias partes do sistema nervoso. Uma série de estudos têm sido realizada para determinar a ação da Par-4 em apoptose neuronal (Mattson et al., 1999). O mecanismo da ação pró-apoptótica do Par-4 nos neurônios provavelmente envolve um ou mais domínios funcionais do Par-4, incluindo o domínio zíper-leucina em, o domínio da morte e o sinal de localização nuclear. O domínio zíper-leucina normalmente medeia interações entre proteínas (Johnstone et al., 1996). Duas proteínas que podem interagir com o Par-4 são a caspase-8 e a Bcl-2 (Chan et al., 1999). O envolvimento da caspase-8 é requerido no processo de apoptose neuronal e a Bcl-2 é uma proteína anti-apoptótica de uma família que inclui membros anti- e pró-apoptóticos (Guo et al., 1998; Sánchez et al., 1999).

A ação da Par-4 em processos neurodegenerativos, em especial em sistemas dopaminérgicos, tem sido estudada. Foram encontrados níveis aumentados de Par-4 em neurônios dopaminérgicos do mesencéfalo de macacos após a administração da toxina indutora da parkinsonismo 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidroperidina (MPTP). Os níveis de Par-4 aumentaram em horas após a administração de MPTP, antes de qualquer evidência de degeneração. Houve aumento dos níveis de Par-4 no corpo celular dos neurônios na substância negra e nos axônios no corpo estriado. Em cultura de células dopaminérgicas, os níveis de Par-4 rapidamente aumentavam, seguindo-se um aumento de ferro e substâncias indicativas de um início do processo apoptótico.

Quando essas células eram tratadas com substâncias que suprimiam a ação da Par-4, não havia o desencadeamento do processo de apoptose das células (Duan et al., 1999). Em ratos submetidos à administração de ácido 3-nitropropiónico, uma toxina mitocondrial usada em modelos experimentais para doença de Huntington, houve aumento dos níveis de Par-4 no corpo estriado 24 a 48 horas após a exposição. O aumento dos níveis de Par-4 precedeu a morte neuronal, e o pré-tratamento das células com oligonucleotídeos resultou em proteção dos neurônios contra a morte induzida pelo ácido 3-nitropropionico (Duan et al., 2000).

O Par-4 também tem sido implicado na transmissão dopaminérgica. Estudo em ratos demonstrou o Par-4 como um modulador da regulação  $Ca^{+2}$ -dependente da sinalização pelo receptor dopaminérgico D2 (D2R). O complexo Par-4/DR2 é necessário para manter um tônus inibitório na sinalização para o AMPc, mediado pela dopamina gerado pelo D2R em condições de pouco  $Ca^{+2}$  (Park et al., 2005). Esses achados são condizentes com outras hipóteses que colocam a redução da função dos receptores D2R na fisiopatologia das distonias. Um aumento de níveis de dopamina pode induzir um *downregulation* dos receptores e pode também induzir um aumento da ocupação desses receptores por dopamina endógena (Beukers et al., 2009).

Apesar das hipóteses relacionadas ao gene *DYT6* apontarem para processos neurodegenerativos, até o momento não há relato de exames patológicos que confirmem ou neguem essas especulações nas famílias relatadas com mutações nesse gene (Almasy et al., 1997; Saunders-Pullmann et al., 2007; Bressman et al., 2009; Djarmati et al., 2009; Fuchs et al., 2009). Estudo com PET em pacientes submetidos à identificação do locus para *DYT6* demonstrou que tanto pacientes sintomáticos quanto familiares carreadores apresentaram uma redução de ligação a DR2 em regiões talâmicas e estriatais. Esses achados condizem com a hipótese de que carreadores genéticos têm uma susceptibilidade genética a desenvolver manifestações distônicas por alterações na transmissão dopaminérgica. A redução altamente localizada e significativa do ligante [ $^{11}C$ ] racloprida (RAC), no núcleo caudado e putamen, é consistente com a perda de neurônios dopaminérgicos nessas regiões (Carbon et al., 2009).

Várias mutações dos tipos *missense*, *nonsense* e *frameshift*, em pacientes de outras etnias, têm sido descritas. Todos os três éxons podem ser alvos de mutações (Houlden et al., 2010; Xiao et al., 2010). Desde a descoberta do gene *DYT6* e, posteriormente, de mutações, a tentativa de se estabelecerem padrões fenotípicos para os pacientes com distonia *DYT6* têm emergido. De forma similar a *DYT1*, os sintomas na distonia *DYT6* iniciam-se precocemente. Entretanto, diferentemente da *DYT1*, os casos raramente iniciam-se nos MMII. O local de início é normalmente os braços ou crânio-cervical, e na maioria dos casos os sintomas se espalham para múltiplas regiões do corpo. As formas segmentar e generalizadas são as mais prevalentes na maioria das séries, porém, muitos pacientes podem permanecer com a forma focal, principalmente quando o início da distonia é no pescoço (Tabela 4).



#### 4.1.1.4 A distonia *DYT13*



A distonia *DYT13* teve seu lócus, 1p36.13-36.32, de descrito em uma família da região central da Itália, sem descendentes de etnia judaica (Valente et al., 2001a, 2001b; de Carvalho Aguiar e Ozelius, 2002; Müller, 2009). A herança é autossômica dominante, com penetrância a ser definida, mas com estimativa inicial de 58% (Bentivoglio et al., 1997; Valente et al., 2001a).


A idade de início dos sintomas variou entre 5 e 40 anos (média de  $15,6 \pm 12,5$  anos), com início normalmente na primeira ou segunda década de vida. A distonia na maioria dos casos era segmentar, com envolvimento crânio-cervical e de membros superiores (MMSS). A progressão da distonia foi lenta e houve generalização em apenas 18,2% dos casos. A presença de distonia cervical ocorreu em 87,5% dos pacientes (Bentivoglio et al., 1997, 2004; Jarman et al., 1999). O fenótipo tem semelhanças com o da distonia *DYT6*, exceto pelo menor envolvimento da laringe e dos MMII na distonia *DYT13* e uma maior tendência a generalização na distonia *DYT6* (Valente et al., 2001a; de Carvalho Aguiar e Ozelius, 2002).



TABELA 4 – ESTUDOS COM AVALIAÇÃO CLÍNICA E GENÉTICA DE PACIENTES COM DISTONIA DYT6

Estudo	Número total de pacientes do estudo	Número de pacientes com DYT6	Pacientes com história familiar de distonia	Relação  : 	Idade de início dos sintomas (anos)	Pacientes com início em MMSS (%)	Pacientes conforme a distribuição (%) *	Pacientes com apresentação crânio-cervical (%)	Mutações encontradas
Bressman et al., 2009	36 famílias	48	100%	1:3	13,0 (2-49)	58	<b>Focal – 36</b> Segmentar – 34 Multifocal – 7 Generalizada – 22	77	460 delC, 134_135insGGGTT, 137_137delAAC,2delT, 85C>T, 115G>A, 266A>G, 86G>C 36C>A, 61T>A
Bonetti et al., 2009	130	1	0	-	10	100	<b>Generalizada - 100</b>	100	c.508T>C
Djamarti et al., 2009	160	2	1 (50%)	-	9,5±0,7 (9-10)	100	<b>Generalizada - 100</b>	100	388_389delTC, 474delA
Fuchs et al., 2009	5 famílias	29	100 %	1:1,41	15,46±8,88 (6-38)	41,38	Focal – 10,4 <b>Segmentar – 37,9</b> Multifocal – 13,8 <b>Generalizada – 37,9</b>	79,3	c.241T>C, F45fs73X
Paisán-Ruiz et al., 2009	24	2	1 (50%)	-	11,5±3,54 (9-14)	50	<b>Segmentar – 50</b> <b>Generalizada – 50</b>	100	c.86G>A
de Carvalho Aguiar et al., 2010	20	1	100%	-	4	0	<b>Generalizada -100</b>	100	c.1A>G
Groen et al., 2010	455	8	5 (62,5%)	1,66:1	20,12±19,8 (6-54)	37,5	Focal – 11,2 Segmentar – 37,5 <b>Generalizada – 50</b>	100	c.207_209del, c.176C>T, c.408C>G, c.213A>G, c.495C>T
Houlden et al., 2010	362	9	5 (55,55%)	1:3,5	18,33±4,35 (3-57)	55,55	Focal – 11,2 <b>Segmentar – 44,4</b> <b>Generalizada – 44,4</b>	100	c.7C>T, c.17C>T, c.23A>G, 1.c.77C>G, 2.c.72-4T>C, c.150T>G, c.174delT, c.236delC, c.407A>G, c.506G>A

Estudo	Número total de pacientes do estudo	Número de pacientes com DYT6	Pacientes com história familiar de distonia	Relação  : 	Idade de início dos sintomas (anos)	Pacientes com início em MMSS (%)	Pacientes conforme a distribuição (%) *	Pacientes com apresentação crânio-cervical (%)	Mutações encontradas
Xiao et al., 2010	1114	18	5 (27,77%)	1:3,5	33,86±21,8 (8-69)	13,33	<b>Focal – 83,33</b> Segmentar – 5,55 Multifocal - 5,55 Generalizada – 5,55	38,9	c.25G>T, c.446T>G, c.559C>A, c.50A>G, c.-42C>T, C.C>T, c.71+9C>A
Söhn et al., 2010	610	7			infância até 46 anos	0	<b>Focal – 57,14</b> Segmentar – 14,29 Generalizada – 28,57	100	c.169C>A, c.410A>G, c.370C>T, c.388_389delTC, c.427A>G, c.574G>A, c.247T>C
Clot et al., 2011	113	6	3 (50%)	1:1	14,16±4,7 (9-20)**	16,66	Focal – 16,66 Segmentar – 16,66 <b>Generalizada – 66,66</b>	100	c.16T>C c.2-_33del, c.215T>G, c.436_443del, c.207_209del
Blanchard et al., 2011b	178	3	2 (66,6%)	2:1	6,66±2,51 (4-9)	66,6	Segmentar – 33,3 <b>Generalizada – 66,6</b>	100	c.377_378delCT, c.514dupA
Song et al., 2011	231	5	0	1,5:1	48,8±24,14 (19-67)	0	Focal – 20 <b>Segmentar – 80</b>	100	c.214_215insA, c.512A>G
Cheng et al., 2012	102	7	4 (57,14 %)	2,5:1	19,71±4,15 (17-40)	14,28	Segmentar – 33,3 <b>Generalizada – 66,6</b>	100	c.63_66delTTTC, c.161G>T, c.224A>T, c.267G>A, c.339T>C, c.449A>C, c.539T>C

Estudo	Número total de pacientes do estudo	Número de pacientes com DYT6	Pacientes com história familiar de distonia	Relação 	Idade de início dos sintomas (anos)	Pacientes com início em MMSS (%)	Pacientes conforme a distribuição (%) *	Pacientes com apresentação crânio-cervical (%)	Mutações encontradas
Lohmann et al., 2012	567	9	3 (33,3%)	2:1	18,13±15,23 (6-49)	55,5	Focal – 33,3 Segmentar – 22,2 <b>Generalizada – 44,4</b>	-	c.delA, c.70A>G, c.38G>A, c.46A>G, c.68A>C, c.77C>T, c.-32C>T, c.(*1A>G(+)*10A>T) c.238A>G
Xiromerisou et al., 2012	150	2	0	-	18,5±16,26 (7-30)	0	Focal – 50 Generalizada - 50	100	c.85C>T, c.407A>G
Dobričić et al., 2013	272	7	0	1,4:1	20,14±14,13 (7-41)	42,85	Focal – 14,3 Segmentar – 28,57 Multifocal – 14,3 <b>Generalizada – 42,85</b>	71,4	c.62C>G, c.85C>T, c.109_132dup, c.496G>A, c.-220C>T, -220C>T
Newman et al., 2013	233	2	2 (100%)	-	-	-	-	-	c.530T>C

\* Em negrito, a forma de apresentação mais comum \*\* Nesse estudo foram avaliados pacientes com idade inferior a 26 anos.

#### 4.1.1.5 A distonia DYT17

Chouery et al. (2008) descreveram uma família com três irmãs com quadro de distonia, em um padrão de herança autossômico recessivo. O quadro iniciou com distonia cervical entre 14 e 19 anos, com evolução para distonia segmentar, em dois e três anos, em duas pacientes e para generalização, após nove anos de doença, na terceira paciente. Não havia sinais de parkinsonismo e não houve melhora dos sintomas com uso de levodopa. Avaliação genética dessa família libanesa permitiu a determinação do locus 20p11.22-q13.12, o *DYT17*.

#### 4.1.2 As distonias persistentes de início tardio

##### 4.1.2.1 A distonia DYT7

Estudos têm demonstrado que aproximadamente 25-30% dos pacientes com distonia focal “primária” têm uma história familiar positiva. A distonia focal apresenta-se com sintomas em uma parte do corpo, mais frequentemente no pescoço (distonia cervical, nos olhos – blefaroespasmos, e nas mãos – câimbra do escrivão). As distonias focais raramente ocorrem em MMII e raramente generalizam (Waddy et al., 1991; Dhaenens et al., 2005). A distonia DYT7, ou distonia focal de início adulto (DFA), foi inicialmente mapeada em sete membros com distonia focal de uma família do noroeste da Alemanha, com herança autossômica dominante, com penetrância incompleta, na qual seis membros eram afetados com distonia cervical de início tardio [média de 43 anos (entre 28 e 70 anos)]. Um discreto comprometimento facial, de MMSS e disfonia espasmódica, foram observados na mesma família. Não havia generalização com uma evolução média de nove anos de doença (2 a 30 anos) nos sete pacientes com distonia focal definida (Leube et al., 1996, 1997b; de Carvalho Aguiar e Ozelius, 2002).

O locus gênico foi mapeado em uma região de 30 cM no cromossomo 18p (Leube et al., 1996). Subsequentemente, os mesmos pesquisadores relataram associações alélicas para vários marcadores no cromossomo 18 para casos esporádicos

de distonia cervical e em outras famílias. Esses achados sugeriram que a distonia cervical de início adulto poderia ser ocasionada por uma mutação oriunda de um ancestral comum, mas esses dados não têm sido confirmados (Leube et al., 1997a; Klein et al., 1998). Outra família, com três irmãos apresentando câimbra do escrivão, início dos sintomas entre 50 e 68 anos, e associação com tremor postural de MMSS, foi associada a alterações genéticas no locus *DYT7* (Bhidayasiri et al., 2005).

A mesma família inicialmente estudada por Leube et al. (1996;1997a) foi novamente analisada, com reavaliação clínica de todos os membros e avaliação para os principais genes localizados no braço curto do cromossomo 18 (*PIEZO2*, *GNAL*, *CHMP1* e *MPPE1*) e para mutações no gene *CIZ1* (Winter et al., 2012). A avaliação clínica foi discrepante em relação aos primeiros relatos e nenhum resultado genético foi positivo. Com esses resultados, os autores questionaram fortemente a relação dessa família com um locus no cromossomo 18, com os seguintes argumentos: (a) primeiro, o desacordo em relação ao diagnóstico de distonia cervical em 12 membros da família poderiam levar a uma possibilidade de falsa atribuição de doença na análise genética original e, então, uma atribuição errônea de um locus *DYT7*; (b) segundo, houve ausência de mutações em quatro genes que ocorrem na deleção 18p; (c) terceiro, não foram encontradas na região 18p nenhuma sequência capaz de produzir a doença; (d) quarto, nenhuma outra família com distonia cervical foi descrita com locus no cromossomo 18 (Winter et al., 2012).

Testes genéticos em famílias com fenótipo semelhante àqueles que têm distonia *DYT7*, com vários casos de distonia cervical e tendência à permanência focal ou segmentar, e em gêmeos com distonia cervical e história familiar, falharam em encontrar ligação com o locus *DYT7*. Os achados sugerem novos loci para distonias focais ainda não identificados (Klein et al., 1998; Cassetta et al., 1999; Sieberer et al., 1999; Münchau et al., 2000a; Maniak et al., 2003; Winter et al., 2012).

#### 4.1.2.2 A distonia *DYT21*

Uma grande família do norte da Suécia, sem ascendência judaica, foi descrita com quadro de distonia herdada de forma autossômica dominante. Uma reavaliação

dessa família demonstrou uma alta penetrância para um gene alterado. A penetrância foi estimada em cerca de 75%, mas poderia ser tão alta quanto 90% (Forsgren et al., 1988; Norgren et al., 2011). Uma tentativa de associação entre essa família e uma alteração no gene *DYT1* não foi confirmada (Holmgren et al., 1995). Recentemente, o locus da doença foi mapeado no cromossomo 2 (2q14.3-21.3). Foram pesquisadas mutações em 22 genes candidatos nessa região, sem resultados positivos (Norgren et al., 2011).

No relato inicial dessa família, blefaroespasmos e distonia cervical foram prevalentes nos indivíduos afetados. A média de idade de início foi 31 anos, e a doença progrediu de manifestações locais para a forma generalizada em oito anos (Forsgren et al., 1988). No estudo realizado por Norgren et al. (2011), foram examinados 16 pacientes com distonia. A idade de início variou entre 13 e 50 anos, mas a maioria tinha média de idade de início com 25 anos. Entre os pacientes, seis tinham distonia generalizada, sete multifocal, dois segmentar e um tinha distonia focal. Todos os pacientes apresentavam envolvimento da cabeça (principalmente blefaroespasmos), pescoço e MMSS. Dois pacientes apresentavam disfonia espasmódica.

#### 4.1.2.3 A distonia DYT23

Uitti e Maraganore (1993) relataram a primeira família com distonia cervical de início em adultos, na qual gêmeos monozigóticos e vários membros da família eram afetados. Nessa família euro-descendente dos Estados Unidos, a doença exibiu um padrão de herança autossômico dominante, e todos os membros tinham somente distonia cervical. Embora idênticos genotipicamente, os gêmeos demonstravam variação fenotípica. Apesar do longo acompanhamento, nenhum membro da família progrediu da forma focal para uma distonia generalizada. A associação dessa família com *DYT7* foi afastada (Jarman et al., 1999)

Recentemente, o marcador microssatélite D9S159 no locus 9q34.11 cossegregando com a mutação c.790A>G (p.S264G) no éxon 7 do gene *CIZ1* foram encontrados em membros afetados dessa família. O gene *CIZ1* codifica um fator de

replicação do DNA, a *Cip1-interacting zinc finger protein 1*. As principais isoformas de CIZ1 são expressas em áreas motoras do encéfalo. A relativamente alta expressão de CIZ1 em encéfalos fetais e no cerebelo são compatíveis com as teorias modernas da fisiopatologia das distonias (Xiao et al., 2012).

Embora possivelmente única em sua associação com início em adultos e distonia focal monossintomática, a ação celular e a localização neural da CIZ1 são compatíveis com os temas atuais na pesquisa em distonia. Clinicamente e biologicamente, CIZ1 demonstra uma grande similaridade com os fatores de transcrição THAP1 (DYT6) e TAF1 (DYT3).

Em adição à sobreposição funcional no nível celular, *CIZ1* demonstra similaridade ao *DYT6* e também ao *DYT1* no nível tecidual. Todos os três genes são fortemente expressos no cerebelo, particularmente nas células de Purkinje. Recentes estudos anatômicos em camundongos *DYT1* mutantes sugerem que a distonia possa ser uma anormalidade do desenvolvimento das células de Purkinje (Zhang et al., 2011).

#### 4.1.2.4 A distonia DYT24

Münchau et al. (2000a) relataram uma família britânica com distonia crânio-cervical de início em adultos com avaliação genética negativa para *DYT1*, *DYT6* e *DYT7*. Nessa família, pelo menos cinco membros em três gerações apresentavam-se com distonia predominantemente crânio-cervical. Após um período médio de vinte e quatro anos, evolução da distonia para outras regiões do corpo limitou-se em uma leve postura distônica de um membro superior em três e câimbra do escrivão em um paciente. Dentre os nove pacientes examinados, sete iniciaram o quadro com distonia cervical. Charlesworth et al. (2012) acrescentaram três pacientes não relatados anteriormente. A maioria tinha início na idade adulta, com distonia cervical, frequente envolvimento laringeano e tremor dos MMSS.

Nos membros afetados da família com distonia autossômica dominante descrita por Münchau et al. (2000a), em duas outras famílias com fenótipo semelhante e em casos esporádicos, Charlesworth et al. (2012) identificaram seis mutações no gene

*ANO3* no locus 11p14.2. O gene *ANO3* codifica um canal de cloro bloqueador de  $\text{Ca}^{+2}$ , altamente presente no *striatum*. Na família descrita por Münchau et al. (2000a), foi localizada a mutação c.1480A>T (p.Arg494Trp) no éxon 15, em todos os indivíduos afetados pesquisados e em nenhum saudável. Em uma segunda família com fenótipo bastante similar, uma segunda mutação, c.1470G>C (p.Trp490Cys), foi encontrada no mesmo éxon. Uma terceira família, com predomínio de distonia de laringe e tremor em MMSS, foi afetada pela mutação c.2053A>G (p.Ser685Gly) no éxon 21.

#### 4.1.2.5 A distonia DYT25

Bressman et al. (1994b) relataram uma família, com 135 membros, norte-americana de origem alemã, protestante (não-judaica). Foram examinados 53 indivíduos e sete deles tinham critérios para distonia, outros três provavelmente também tinham a doença. A idade de início da doença variou entre 7 e 50 anos (média  $28,4 \pm 14,8$  anos). A distonia não iniciou no pescoço em apenas um dos sete pacientes; sua primeira manifestação foi um dedo curvado. Então, essa distonia foi caracterizada como uma distonia “não-DYT1” autossômica dominante de início crânio-cervical na idade adulta.

Fuchs et al. (2013) relataram 28 pacientes em oito famílias, incluindo a família (D1) inicialmente apresentada por Bressman et al. (1994b). Eles confirmaram mutações no gene *GNAL* como causadoras de distonia nesses pacientes. Esse gene está localizado no cromossomo 18p centromérico ao locus *DYT7* e ao locus *DYT15* (Leube et al., 1996; Grimes et al., 2002; Fuchs et al., 2013). O gene *GNAL* codifica a estimuladora subunidade  $\alpha$ ,  $G\alpha_{\text{olf}}$ , primariamente identificada como um proteína G (proteína ligada ao nucleotídeo guanina), que medeia a sinalização de odores no epitélio olfatório (Jones e Reed, 1989). As proteínas G ligam sete domínios transmembrana de receptores para efetivar, em cascata, a ação de moléculas ligantes, e funcionam como heterotrímeros compostos de subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . A proteína G predominante no encéfalo é a  $G\alpha_s$ , mas a  $G\alpha_{\text{olf}}$  repõe a  $G\alpha_s$  em neurônios espinhosos do *striatum* (Drinnan et al., 1991). Nesses neurônios,  $G\alpha_{\text{olf}}$  acoplam-se receptores



dopaminérgicos tipo 1 (DR1) da via direta, e receptores adenosina A2A da via indireta, para ativação de adenilato ciclase tipo 5 (Corvol et al., 2001). Relevante para distonia,  $G\alpha_{olf}$  também é expressa em interneurônios colinérgicos estriatais (Hérve, 2011).

Entre esses indivíduos estudados por Fucks et al. (2013), a média de idade de início dos sintomas foi de 31,3 anos, variando entre 7 e 54 anos. A maioria dos afetados (82%) teve início da doença pelo pescoço, e 93% tinham envolvimento cervical no momento do exame. Contudo, a maioria dos pacientes teve progressão para outros sítios, e somente 46% tinham distonia focal no momento do exame final. Além disso, envolvimento craniano esteve presente em 57% dos pacientes, e 44% tiveram alteração da fala. Envolvimento braquial inicial não foi observado, e um eventual envolvimento dos membros foi notado em 32% dos paciente, distinguindo as consequências fenotípicas nas mutações *GNAL* das mutações em *DYT6* (Bressman et al., 2009; Blanchard et al., 2011a).

Outras novas mutações no gene *GNAL* foram recentemente identificadas em pacientes com distonia (Vemula et al., 2013). Os casos relatados nessas famílias confirmam os achados inicialmente, e apontam para um fenótipo da *DYT25* como uma distonia de início predominantemente cervical, com tendência a ser um quadro segmentar crânio-cervical com disfonia espasmódica, podendo ou não haver generalização (Bressman et al., 1994b; Fuchs et al., 2013; Vemula et al., 2013). O fenótipo pode variar conforme a mutação no gene *GNAL* (Fuchs et al., 2013; Vemula et al., 2013).

## 4.2 As distonias combinadas

### 4.2.1 As distonias com parkinsonismo

#### 4.2.1.1 A distonia *DYT5*

A primeira descrição da doença foi feita por Segawa et al. (1971), com o relato de duas crianças do gênero feminino, primas, com postura distônica flutuante durante o dia, que responderam ao tratamento com levodopa, sob o nome de “doença

hereditária progressiva dos núcleos da base”. O mesmo autor e seus colaboradores confirmaram, com o acúmulo de novos casos, que a doença não se transformava em doença de Parkinson na idade adulta e, em 1976, a renomearam como “distonia hereditária progressiva com importante flutuação diurna” (Segawa et al., 1976). Em homenagem ao descritor, o nome “doença de Segawa” continua a ser usado para a distonia DYT5 (Regula et al., 2007, Segawa, 2009). Entretanto, o termo “distonia dopa-responsiva” se coloca de modo mais claro e adequado para a denominação dessa doença (Nygaard et al., 1991).

A distonia dopa-responsiva (DDR) é uma rara forma de distonia, com a maioria dos casos sendo de transmissão autossômica dominante, causada por mutações no gene *GCHI*, locus 14q22.1-q22.2 (de Carvalho Aguiar e Ozelius, 2002; Németh, 2002). Quadros clínicos semelhantes podem ser resultados de uma série de mutações diferentes nesse gene, ou mesmo em outro gene também responsável por fenótipos da DDR, o *TH*, com locus 11p15.5, em uma distonia com transmissão autossômica recessiva (Furukawa et al., 1999). Alguns autores dividem a DDR em DDR-1 (ou DDR-a, ou DYT5-a) e DDR-2 (ou DDR-b, ou DYT5-b), conforme o gene alterado e o padrão de herança: a primeira relacionada ao gene *GCHI* e a segunda relacionada ao gene *TH* (Müller, 2009).

O gene *CGHI* codifica uma enzima, a GTP ciclohidrolase I (CGHI ou GTPCHI), um decâmero de subunidade homólogas com 260 kDa que catalisa a conversão da guanosina trifosfato (GTP) em dihidroneopterina trifosfato, o primeiro passo envolvido na síntese *de novo* da tetrahidbiopterina (BH<sub>4</sub>). A BH<sub>4</sub> tem papel chave no catabolismo da fenilalanina e na biossíntese das catecolaminas e da serotonina, como um cofator essencial para hidrolase da fenilalanina, da tirosina e do triptofano. O gene *TH* codifica a enzima tirosina hidroxilase (TH), que catalisa a hidroxilação da L-tirosina para L-dihidroifenilalanina (DOPA), o passo limite na síntese das catecolaminas dopamina, noradrenalina e adrenalina. Essa função oxidativa necessita de oxigênio e do cofator BH<sub>4</sub> para sua ativação (Bräutigam et al., 1999; Maita et al., 2002) .

As mutações nos genes *GCHI* e *TH*, e provavelmente alguma alteração herdada ou não na proteína GFRP, levam a uma alteração na síntese de dopamina pela

desregulação da transformação da tirosina em DOPA, por ação da tirosina hidroxilase (de Carvalho Aguiar e Ozelius, 2002; Maita et al., 2002; Maita et al., 2004). A diminuição dos níveis de dopamina pode ser observada em neurônios dopaminérgicos do sistema nigro-estriatal de pacientes com DDR (de Carvalho Aguiar e Ozelius, 2002).

O gene *GCHI* é composto por seis éxons. Em pacientes com DDR, várias mutações têm sido identificadas em todos os éxons e também nos íntrons (Blau e Thöny, 2009). A forma de herança é autossômica dominante com baixa penetrância (aproximadamente 30%), mas se quadros atípicos forem levados em consideração, a penetrância pode variar de 38 a 100 % (Nygaard et al., 1990; Steinberger et al., 1998). As mulheres são mais frequentemente afetadas que os homens (Ichinose et al., 1994). A penetrância varia conforme o gênero dos pacientes afetados pelo gene mutante. Os pacientes do gênero feminino têm uma penetrância muito maior (87 a 100%), quando comparados a pacientes do gênero masculino (38 a 55%) (Steinberger et al., 1998; Furukawa et al., 1998). Os hormônios sexuais podem ter alguma influência na manifestação dos sintomas. Embora ainda não seja possível comprovação em humanos, foi demonstrada uma menor expressão do RNA mensageiro *GCHI* em neurônios monoaminérgicos do sistema nervoso central de camundongos fêmea, em relação aos machos (Shimoji et al., 1999).

Os pacientes têm defeitos em apenas um alelo desse gene, ou seja, são todos heterozigotos. As situações de homozigose no gene *GCHI* reduzem os níveis de GTPCHI próximos a zero e não geram quadros de DDR (Ichinose et al., 1995). A mesma mutação que em homozigose que pode levar a um dramático quadro de “fenilcetonúria atípica”, como, por exemplo, a Met211Val, quando encontrada em indivíduos heterozigotos leva a um fenótipo típico de DDR (Camargos et al., 2008a). As mutações heterozigóticas no gene *GCHI* geram, na maioria das vezes, um quadro clínico caracterizado por distonia, concomitante ou subsequente a parkinsonismo, com piora diurna dos sintomas em 77% dos casos e uma dramática resposta à terapêutica com levodopa (Nygaard et al., 1991; Németh, 2002). Uma resposta inicial em alguns dias ocorre com baixas doses, 50/5 mg de levodopa/carbidopa (ou 2 mg/kg de levodopa), três vezes ao dia, e a titulação do aumento da dose deve ser gradual e sequencial (Nygaard et al., 1991; Kamal et al., 2006). A coreia pode ocorrer no período de ajuste de dose e, em

seguida, desaparecer. A presença de coreia e discinesias com o aumento de doses de levodopa, na tentativa de resposta a distonia, sugere casos que não responderão à terapêutica (Nygaard et al., 1991). Os pacientes com DDR raramente desenvolvem flutuações motoras e discinesias, complicações do tratamento com levodopa em pacientes com doença de Parkinson, devido a seu mecanismo de armazenamento de dopamina estar intacto. Essa alteração fisiopatológica em relação à doença de Parkinson implica também em duas outras diferenças no tratamento com levodopa: (a) uma maior latência para o início dos efeitos terapêuticos; e (b) uma manutenção, por maior tempo, dos efeitos benéficos, após a retirada do medicamento (Nutt e Nygaard, 2001).

Embora o início dos sintomas ocorra normalmente na infância e adolescência, o início na idade adulta pode acontecer com variação dos sintomas entre os pacientes heterozigóticos para mutações no gene *GCHI*. A distonia é o sintoma mais comum, podendo variar de distonias focais, como em membros, ou oromandibular, até generalizada com grande incapacidade. Os casos com início na infância iniciam com distonia das extremidades inferiores, na maioria das vezes com pés equino-varos, mas podem começar com posturas distônicas em uma das extremidades superiores, em idades um pouco mais avançadas. As distonias de ação ocorrem mais tarde que as distonias posturais, por volta dos 8 anos de idade. Elas manifestam-se normalmente como retrocolo e, em alguns casos, como crises oculógiras. As distonias focais ou segmentares, como câimbra do escrivão ou distonia cervical, podem ser o início do quadro na idade adulta. Um tremor postural de MMSS ocorre após os 10 anos. Os pacientes adultos iniciam o quadro com tremor nas mãos e distúrbios de marcha, devido à rigidez. Uma assimetria é a característica observada na distonia, rigidez e tremor, independente da idade de início. A distonia e o tremor demonstram grande variação diurna, porém, pode ser mínima ou não aparente nos pacientes com início adulto. A distonia postural da extremidade na infância pode evoluir para todos os membros e generalizar na adolescência, com agravamento da rigidez no início da vida adulta e posterior estabilização do quadro. Os sinais parkinsonianos, como bradicinesia e instabilidade postural, são encontrados em estágios avançados da distonia, e não se

observa tremor em repouso parkinsoniano. (de Carvalho Aguiar e Ozelius, 2002; Németh, 2002; Segawa, 2009).

As apresentações clínicas da DDR autossômica recessiva causada por mutações no gene *TH*, que levam a deficiência da enzima tirosina hidroxilase seguem padrões semelhantes aos descritos para alterações no gene *GCHI* (Swoboda e Furukawa, 2008). A principal característica é uma grande melhora com a terapêutica com levodopa (Bräutigam et al.,1998). O quadro mais clássico inclui um progressivo retardo motor, com predomínio de distúrbios do movimento (distonia e parkinsonismo principalmente) e alterações do tônus muscular, de início precoce (frequentemente nos três primeiros anos de vida), sem aparente prejuízo psicossocial, cognitivo ou neuropsicológico. Não se evidencia uma flutuação diurna dos sintomas em todos os pacientes (Bräutigam et al.,1998; Schiller et al., 2004).

Os casos de deficiência de TH são raros e algumas mutações têm sido identificadas em alguns dos 14 éxons do gene *TH*. Os pacientes homozigóticos e heterozigóticos para mutações no gene *TH* podem apresentar fenótipos semelhantes ou não. Os casos homozigóticos podem apresentar-se com quadros clínicos mais graves e maior dificuldade de resposta ao tratamento com levodopa, inclusive com maior facilidade de desenvolvimento de discinesias (Bräutigam et al.,1998; Grattan-Smith et al., 2002).

Como em outras doenças, acredita-se que o fenótipo e a idade de início, normalmente com início na primeira década, poderiam depender da quantidade residual da atividade de TH (Grattan-Smith et al., 2002). Contudo, como a enzima TH é encontrada tanto nas glândulas adrenais quanto no sistema nervoso central, não é possível isolar as enzimas mutantes e identificar diretamente como as mutações afetam as suas atividades. Sabe-se, porém, que essas mutações podem levar a alteração da estabilidade, diminuir a atividade proteica ou diminuir a atividade catalítica relacionada à TH (Royo et al., 2005). Postula-se que uma deficiência completa de TH seria provavelmente incompatível com a vida (Zhou et al., 1995).

A apresentação de distonia cervical em quadro de distonia generalizada tem sido descrita na DDR, e casos isolados de distonia cervical são raros (Hwu et al., 1999; Singh et al., 2004; Scola et al., 2007). Schneider et al. (2006) descrevem quatro casos,

em duas famílias com distonia cervical com características clínicas muito semelhantes às da doença de Segawa e grande resposta a levodopa. Em um seguimento maior que 9 anos, não houve generalização em nenhum caso. O padrão de herança era autossômico dominante em uma família, e em outra era, a princípio, autossômico recessivo, porém não afastada a possibilidade de transmissão dominante. Os testes genéticos foram negativos para as mutações conhecidas para distonia dopa-responsiva. Normalmente, os casos de distonia cervical são tratados com toxina botulínica e levodopa não é considerada. O uso de levodopa pode ser considerado em distonia cervical quando iniciada em adultos jovens, principalmente se houver história familiar.

Uma assimetria predomina nos quadros de DDR. O lado da distonia cervical e o predominante lado da atividade do músculo esternocleidomastoídeo são ipsilaterais ao predominante lado de rigidez. Isso decorreria do envolvimento de neurônios dopaminérgicos que inervam o núcleo subtalâmico nesses fenótipos. Uma resposta incompleta a levodopa, observada em alguns casos de distonia de ação e alguns casos de DDR iniciados em adultos, poderiam ocorrer devido à ativação dos receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> das vias estriatais indiretas (no circuito dos núcleos da base) pela levodopa, causando uma supressão do núcleo subtalâmico (Segawa, 2009).

Embora o diagnóstico da DDR seja clínico, algumas outras investigações podem ser úteis dentro do diagnóstico diferencial. De modo ideal, o diagnóstico deveria ser confirmado geneticamente, mas isso não é rotineiramente possível e, por exemplo, até 40% dos pacientes com fenótipo de DDR não possuem quaisquer mutações para o gene *GCHI*. Em pacientes heterozigotos para o gene *GCHI*, análise do líquido cefalorraqueano (LCR) revela baixas concentrações de ácido homovanílico (HVA), metabólito da dopamina, e de neopterinina e de biopterina, decorrentes da baixa atividade da CTPCHI. Em pacientes com deficiência de TH, os níveis de HVA também se encontram diminuídos, porém, os níveis de neopterinina e de biopterina estão normais ou próximos do normal. Na DPJ, os níveis de HVA e de biopterina encontram-se moderadamente diminuídos com neopterinina normal. Os níveis de fenilalanina e tirosina encontram-se alterados em pacientes com o quadro dominante, e normal nos pacientes com deficiência de TH. Os níveis reduzidos de 3-metoxi-4-hidroxfenilglicol (MHPG) indicam redução, também, da produção de noradrenalina

em pacientes com DDR (Bräutigam et al., 1999; Furukawa e Kish, 1999; Németh, 2002; Zafeiriou et al., 2009; Yeung et al., 2011). A redução no nível de HVA no LCR, a relação de HVA/ácido 5-hidroindolacético menor que 1, e valor normal para MHPG são resultados fortemente indicativos do diagnóstico de deficiência de TH (Yeung et al., 2011). Na deficiência de TH, níveis de HVA, de ácido vanilmandélico (VMA), de adrenalina e de noradrenalina devem estar muito diminuídos na urina (Zafeiriou et al., 2009).

A grande variabilidade clínica da DDR e a dificuldade no diagnóstico diferencial chamam a atenção para duas considerações principais: (a) a importância de um teste terapêutico com levodopa em todos os pacientes com distonia e em casos de anormalidades de marcha (paraparesia) e sinais piramidais; e (b) somente o diagnóstico molecular (genético) é definitivo (Tassin et al., 2000).

#### 4.2.1.2 A distonia DYT14

Grötzsch et al. (2002) descreveram um caso índice com início dos sintomas aos 3 anos de idade, com paraparesia espástica, evoluindo com distonia iniciada em MMII à generalizada até grande limitação para atividades de vida diária na adolescência. Aos 75 anos foi internada com quadro de infecção respiratória e parkinsonismo. Após início de levodopa/benserazida, a paciente apresentou grande melhora clínica. Na investigação observou-se uma herança familiar autossômica dominante, com quadros fenotípicos semelhantes a DDR, porém, não foram detectadas mutações para o gene *GCHI*. Um estudo genético (*linkage*) realizado nos indivíduos afetados revelou alteração no cromossomo 14q13. Então, esse locus, demonstrado ter localização diferente do gene *GCHI*, foi denominado *DYT14*.

A mesma família foi reestudada por Wider et al. (2008), a princípio com o mesmo método (*linkage*), e a mesma conclusão foi atingida. Porém, subsequente análise identificou uma deleção heterozigótica no gene *GCHI* em sete pacientes da família estudada, confirmando o diagnóstico de DDR, ou distonia DYT5. Portanto, o diagnóstico de *DYT14* não é correto, não constando mais da lista de loci ligados às distonias (Wider et al., 2008; Schwarz e Bressman, 2009).

#### 4.2.1.3 A distonia DYT3

A distonia-parkinsonismo recessiva ligada ao X (DPX) é um distúrbio do movimento de filipinos adultos do gênero masculino (Müller, 2009). A prevalência de 0,34/100000 é alta, e é maior em particular na Ilha de Panay (5,24/100000), principalmente na província de Capiz (18,9/100000), onde é considerada endêmica (Lee et al. 2001, Lee et al. 2002). É caracterizada por uma distonia grave e progressiva preponderante nos primeiros dez a quinze anos de doença e é seguida ou substituída por um parkinsonismo nos anos seguintes de vida (Lee et al., 2001).

A presença de uma alta concentração de pacientes com DPX nas Filipinas foi primeiro observada na década de 1970. Inicialmente, seis famílias com mais de um indivíduo do gênero masculino afetado foram estudadas. Não havia transmissão homem para homem, então, foi inferido o padrão de transmissão recessivo ligado ao cromossomo X (Lee et al., 1976). Essa forma de herança genética foi confirmada e, então, aceita a partir do estudo de Kupke et al. (1990), no qual também não foi observada transmissão homem para homem em 36 pacientes do gênero masculino, em 21 famílias. Fahn e Moskowitz (1988) confirmaram que DPX é um distúrbio do movimento manifestado primariamente como distonia em combinação com parkinsonismo, e chamaram a doença de “lubag”, baseados no termo usado no dialeto local filipino para descrever qualquer movimento caracterizado por torção.

Os estudos genéticos consecutivos determinaram o gene da DPX, o *DYT3* (*TAF1*), no locus Xq13.1 (Wilhelmsen et al., 1991; Graeber et al., 1992; Németh et al., 1999). São encontradas cinco alterações sequenciais doença-específica, uma deleção 48 bp e um *transposon* (elemento genético transponível) SVA [composto de SINE (*Short Interspersed Nuclear Element*), VNTR (*Variable Number Tandem Repeats*) e Alu] no sistema de transcrição complexa TAF1/DYT3 em todos os pacientes com DPX testados (Nolte et al. 2003; Makino et al., 2007; Deng et al., 2008). O gene *DYT3* é composto de pelo menos 43 éxons que são alternativamente combinados. Há transcrições alternativas dos éxons 1-38 que codificam isoformas de uma TATA-box ligante à proteína associada ao fator I (TAF-1) e cinco éxons, referidos como d1-d5, voltados para o éxon 38 (“sistema de transcrição múltipla”). Os éxons d1-d5 podem



tanto formar transcritos separados, regulados por promotores separados, ou transcritos combinados de alguns dos éxons 1-37 da TAF1 (Nolte et al., 2003; Herzfeld et al., 2007).

A neuropatologia da PDX é baseada na necropsia de seis encéfalos de pacientes com idade entre 42 e 59 anos, com duração de doença entre três e vinte e três anos. Todas as amostras demonstraram algum grau de hipotrofia dos núcleos caudado e putamen. O caso com a menor duração de doença tinha, de modo grosseiro, uma aparência quase normal dos núcleos da base. A amostra do paciente com maior duração de doença demonstrou importante hipotrofia do caudado e putamen, com uma depressão côncava do caudado em relação ao ventrículo lateral. Uma perda neuronal e astrogliose envolveram o putamen e o núcleo caudado. A região do núcleo acúmbens é geralmente a menos afetada. O grau da perda neuronal e a gliose em cada caso traça um paralelo com o grau de hipotrofia. Os córtices cerebrais, tálamos, núcleos subtalâmicos, substâncias negras e pontes estavam geralmente inalterados (Lee et al., 2002)

O *striatum* pode ser dividido em dois compartimentos complementares e funcionalmente distintos, a matriz e os estriossomos, que são arrumados em padrão de mosaico (Gerfen, 1992). O compartimento matriz forma as vias matriz-baseadas (vias direta e indireta), o maior centro de atenção no estudo da gênese dos movimentos hiperkinéticos e hipocinéticos. Entretanto, há uma terceira via nos núcleos da base, a via estriossomal, que se origina nos estriossomos e exerce controle motor crítico na modulação das vias de saída dopaminérgicas nigrais. O modelo das três vias dos núcleos da base advoga que a regulação dos movimentos pelos núcleos da base depende não somente do equilíbrio entre as vias direta e indireta, mas também de uma atividade equilibrada entre essas vias e a via estriossomal (Graybiel et al., 2000). Em ratos, observa-se uma tendência de maior concentração de proteína N-TAF-1 nos núcleos da base, predominantemente na parte estriossomal do *striatum* (Sako et al., 2011). Nos pacientes com DPX, a matriz está relativamente preservada, enquanto ocorre uma grave depleção dos estriossomos, com perda neuronal e astrogliose. Há uma preservação dos neurônios colinérgicos que estão entremeados entre os dopaminérgicos nessa área, em pacientes com DPX (Goto et al., 2005).

A idade de início da DPX é de  $39,5 \pm 8,44$  anos, com variação entre 12 e 64 anos. Antes de 1992 todos os casos relatados eram em homens. Segundo dados do *XDP Philippine Registry*, a relação masculino:feminino é de 99:1 (Lee et al., 2001). A média de idade de início dos sintomas em mulheres é maior, 52 anos (Evidente et al., 2004).

Somente 6% dos pacientes abrem o quadro com parkinsonismo (instabilidade postural, bradicinesia, marcha arrastada e tremor), e 94% apresentam-se inicialmente com distonia focal. Os sítios de início das distonias são os mais variados. As distonias nos membros (47%) são as formas mais comuns de início da doença, principalmente em MMII (33%). As formas cranianas, como blefaroespasma, distonia oromandibular, abertura e fechamento da mandíbula, protrusão ou retração da língua e tremores, podem ser o início do quadro em 27% dos casos. O início cervical é menos comum (14%), ocorrendo principalmente nas formas de torcicolo, retrocolo e anterocolo (Lee et al., 2001).

Ocorre uma tendência gradativa de espalhamento da distonia para outras áreas do corpo em formas segmentar, multifocal ou generalizada. Após um período de cinco anos de doença, apenas 2,2% permanecem com distonia focal. Entre os pacientes com menos de dois anos de doença, 84,7% já evoluíram para a forma generalizada. Entretanto, há uma tendência de reversão do quadro de distonia com a evolução da doença, mais evidente entre o quinto e sétimo ano após início do quadro. Após dez anos de evolução, somente cerca de 8% dos pacientes apresentam distonia. A distonia vai sendo gradativamente substituída por uma bradicinesia cada vez mais evidente e um quadro global de rigidez é atingido. Contudo, uma mínima rigidez ao repouso é observada e rigidez em roda-denteada é rara. Os maiores sinais parkinsonianos são perda dos reflexos posturais, *freezing* com marcha em pequenos passos, facies em máscara e bradicinesia. Cerca de 20% dos pacientes com PDX sobrevivem além dos quinze anos de doença, quando assumem um quadro típico de parkinsonismo, com mínima evidência de distonia. Tanto os sintomas distônicos quanto o parkinsonismo não apresentam resposta desejável ao tratamento com levodopa em pacientes com DPX. (Lee et al., 2001).

#### 4.2.1.4 A distonia DYT12

A distonia-parkinsonismo de início rápido (DPIR) é caracterizada por um início abrupto de distonia e parkinsonismo, que se desenvolvem em minutos a dias. A distonia tipicamente afeta os membros e face (disartria e disfagia). Há um gradiente de propagação rostro-caudal (face > MMSS > MMII) (Brashear et al., 2007). A DPIR é extremamente rara. A herança é autossômica dominante com penetrância reduzida. A exata porcentagem da redução não pode ser estimada devido ao pequeno número de famílias descritas.

O gene relacionado à doença, *DYT12 (ATP1A3)*, foi mapeado no locus 19q12-q13.2 (Kramer et al., 1999; Pittock et al., 2000; Kamm et al., 2004). Ele tem 23 éxons e codifica a  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase  $\alpha 3$  (NKA3), uma subunidade catalítica da bomba de sódio (de Carvalho Aguiar et al., 2004). As  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPases (bombas de sódio) pertencem ao grupo ATPase tipo-P. As bombas nesse grupo catalisam a atividade de transporte de cátions através das membranas celulares e mantêm o gradiente iônico através de hidrólise de ATP. A subunidade  $\alpha$  é a unidade catalítica, e três isoformas ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  e  $\alpha 3$ ) são expressas no sistema nervoso (Mc Grail et al., 1991). Sabe-se que alterações nessas isoformas da bomba de sódio podem estar relacionadas à disfunção neurológica ou neurodegeneração, como por exemplo, as mutações na isoforma  $\alpha 2$  (ATP1A2), que se associam à migrânea hemiplégica familiar (de Fusco et al., 2003). Entretanto, a devida correlação entre a NKA3 e o mecanismo patológico da DPIR ainda não está evidente (Müller, 2009).

A NKA3 é encontrada predominantemente no sistema nervoso (encéfalo, nervos e junção neuromuscular), apesar de ser encontrada também na musculatura cardíaca (Juhaszova e Blaustein, 1997). O bloqueio de NKA3 encefálica em modelos animais experimentais pode induzir distonia estresse-dependente. Quando bombas de sódio são bloqueadas parcialmente por ouabaína no cerebelo e nos núcleos da base, camundongos podem exibir movimentos aberrantes. Uma atividade cerebelar aberrante podem ter um efeito adverso nos núcleos da base através de vias sinápticas talâmicas, fornecendo uma base plausível para uma hipótese de trabalho para estudos da fisiopatologia na DPIR (Calderon et al., 2011).

O exame de LCR pode ser realizado em pacientes com DPIR, resultando, em alguns casos, na redução dos níveis de ácido homovanílico (HVA) (Pittock et al., 2000). A redução de HVA no LCR e normalidade nos exames de neuroimagem (RM e TC), juntamente com herança autossômica dominante, rápida instalação dos sintomas sem progressão ou piora lenta posterior, associação de distonia e parkinsonismo, sinais bulbares (disatria e disfagia), predomínio em MMSS, início no final da adolescência ou em adultos, e pouca ou nenhuma resposta a levodopa ou agonistas dopaminérgicos foram os critérios clínicos propostos inicialmente para o diagnóstico de DPIR (Dobyns et al., 1993; Brashear et al., 1997).

A DPIR é uma doença que se inicia na adolescência ou em adultos jovens, início após 40 anos é raro, e tem como característica marcante o início abrupto de distonia e parkinsonismo, que se desenvolvem em minutos a dias do início, frequentemente desencadeada por um agente psicológico estressante (Zaremba et al., 2004; Brashear et al., 2007). A DPIR tem um limite da progressão em semanas e pouca ou nenhuma melhora após isso, exceto alguns pacientes que têm pouca melhora da marcha (Brashear et al., 2007). Alguns pacientes têm um “segundo” episódio de exacerbação de um a nove anos depois do início (Dobyns et al., 1993; Brashear et al., 2007).

Os primeiros sintomas da DPIR são sintomas bulbares e distonia dos membros, acompanhados de alterações parkinsonianas, algumas vezes precedidos por sintomas vagos. Raramente, parkinsonismo pode anteceder o quadro de DPIR. O distúrbio do movimento é caracterizado por distonia, segmentar ou generalizada, sobreposta por parkinsonismo, primariamente bradicinesia e instabilidade postural. Há um evidente gradiente rostro-caudal da distonia e do parkinsonismo: os sintomas bulbares são mais graves que os sintomas nos MMSS, que são mais graves que os sintomas nos MMII (Brashear et al., 2007).

Alguns distúrbios psiquiátricos podem ser encontrados em famílias com DPIR, como depressão, distúrbios de personalidade, ansiedade, síndrome do pânico, fobia social e psicoses (Pittock et al., 2000; Brashear et al., 2007 e 2012; McKeon et al., 2007). O quadro depressivo pode atingir um nível grave com tristeza, anedonia, apatia, alteração dos ritmos biológicos e ideação suicida (Pittock et al., 2000). Embora não

seja possível distinguir se os transtornos de humor e as psicoses são expressões independentes de mutações no gene *ATP1A3* ou resultado de outros fatores, as desordens psicóticas podem preceder os sintomas motores, sugerindo que eles possam ser independentes da doença motora em alguns casos (Brashear et al., 2012). Podem ser observadas crises convulsivas de fácil controle em raros casos de pacientes com DPIR (Brashear et al., 2007; McKeon et al., 2007). Embora não se possa afirmar com precisão, devido a alterações genotípicas em canais iônicos na DPIR, a epilepsia pode fazer parte do fenótipo da doença (McKeon et al., 2007).

#### 4.2.1.5 A distonia DYT16

Camargos et al. (2008b) identificaram em famílias brasileiras uma distonia com padrão de herança autossômica recessiva causada por mutação no gene *PRKRA*, que codifica uma proteína quinase de indução dependente de interferon ativadora de RNA de dupla-fita, com locus 2q31.3, que foi denominada distonia DYT16.

Essa proteína ativadora de proteína quinase (*PKR activating protein* - PACT), celular, é um membro da família das proteínas ligantes ao RNA dupla-fita (RNA-df), da qual a própria proteína quinase (PKR) faz parte (Patel e Sen, 1998; Peters et al., 2001). A PKR está presente em constituintes de níveis internos celulares e sua atividade enzimática é latente, sendo necessária ativação por fosforilação. Uma vez ativada, a PKR pode fosforilar uma série de proteínas celulares. O substrato fisiológico melhor estudado da atividade da PKR é a  $\alpha$  subunidade do fator de iniciação eucariótico 2 (eIF2 $\alpha$ ) (Samuel, 1993). A fosforilação do eIF2 $\alpha$  no Ser-51 pela PKR leva a um bloqueio geral da síntese proteica (Colthurst et al., 1987). As funções da PKR ainda não estão completamente esclarecidas, entretanto, além de estar envolvida no mecanismo de síntese proteica, ela tem sido incluída no mecanismo de defesa à infecções virais, como mediador de efeitos do interferon, na resposta ao estresse, na regulação do crescimento celular, na apoptose, na diferenciação e na sinalização das vias celulares (Williams, 1997; Patel e Sen, 1998).

Pode-se observar uma forte heterogeneidade associada com as mutações no gene *PRKRA*, mesmo em pacientes da mesma família. Os pacientes podem apresentar-

se tanto com uma distonia generalizada quanto com uma distonia-parkinsonismo, que é insensível à levodopa. Na forma distonia-parkinsonismo, a distonia DYT16 tem uma fenomenologia semelhante a doenças degenerativas, com acúmulo de ferro, Kufor-Rakeb e doença de Wilson. (Camargos et al., 2008b; Seibler et al., 2008; Camargos et al., 2012).

Os pacientes descritos inicialmente por Camargos et al. (2008b), com a mutação c.665C>T, e o paciente relatado por Seibler et al. (2008), com a mutação c.266\_267delAT, apresentavam uma doença generalizada de início precoce. A distonia inicia-se entre 2 e 18 anos, com uma distonia focal, predominantemente nos membros, causando dificuldade de marcha ou escrita, evoluindo com generalização (Camargos et al., 2008b; Seibler et al., 2008). Os pacientes apresentados por Camargos et al. (2008b), além do quadro distônico, apresentavam riso sardônico, disartria, disfagia e alterações psiquiátricas. A maioria dos pacientes tinha sinais piramidais (hiperreflexia e clônus aquileu). Não havia déficits cerebelares ou sensitivos. O paciente de Seibler et al. (2008) não apresentou alterações piramidais ou psiquiátricas. Alterações de neuroimagem estão ausentes ou são insignificantes (Camargos et al., 2008b; Seibler et al., 2008).

Em todos os casos, houve espalhamento para as regiões facial, cervical ou laríngea, diferentemente de outra distonia de início precoce, que se inicia pelos membros, a distonia DYT1. A distonia de laringe, com alterações de fala, é um importante achado fenotípico da distonia DYT16 (Camargos et al., 2008b; Seibler et al., 2008). Nos casos de Camargos et al. (2008b), houve quatro (51,7%) relatos de distonia cervical: laterocolo e retrocolo em combinação ou isolados.

## 4.2.2 As distonias com mioclonia

### 4.2.2.1 A distonia DYT11

A mioclonia-distonia (MD), distonia DYT11, é um raro distúrbio do movimento de herança autossômica dominante com penetrância variável, que normalmente ocorre na primeira ou segunda década de vida. Na maioria dos pacientes, a mioclonia é o

sintoma mais proeminente e o que causa maior incapacidade. Ela predomina nos MMSS e na musculatura axial, e frequentemente é responsiva ao álcool, por isso, às vezes, foi denominada distonia álcool-responsiva. A distonia costuma ser leve, manifestando-se na maioria das vezes em localização proximal, normalmente como distonia cervical ou câimbra do escrivão (Kyllerman et al., 1990; Borges et al., 2000; Tarsy e Simon, 2006; Kinugawa et al., 2009).

A MD foi descrita primeiramente por Davidenkow (1926) em dois pacientes, e a melhora dos sintomas com o álcool foi observada por Daube e Peters (1966). Nygaard et al. (1999) localizaram o gene para a MD, *DYT11*, no cromossomo 7q21-31. Esse gene codifica a glicoproteína  $\epsilon$ -sarcoglicana (SGCE), portanto, é também denominado gene *SGCE* (Zimprich et al., 2001). As mutações ou grandes deleções no gene *SGCE* são detectadas em menos de 40% dos pacientes com o fenótipo típico, sugerindo que a doença é geneticamente heterogênea (Valente et al., 2003; Schüle et al., 2004; Grünewald et al., 2008).

A SGCE, um tipo de glicoproteína transmembrana I, foi demonstrada ser homóloga a  $\alpha$ -sarcoglicana (SGCA) (Ettinger et al., 1997). Diferente da expressão da SGCA, que é específica do tecido muscular estriado, a SGCE é amplamente expressa em uma grande variedade de tecidos, incluindo musculatura estriada, musculatura lisa, pulmões, fígado, rins, baço, testículos, ovários, próstata, intestinos e encéfalo (Ettinger et al., 1997; Imamura et al.; 2000 Nishiyama et al., 2004). As sarcoglicanas formam complexos funcionais e estruturais no tecido muscular esquelético. Há comprovação de que a SGCE participa desses complexos, e também em complexos semelhantes com as sarcoglicanas beta e delta nos nervos periféricos. A exata localização e função da SGCE no encéfalo humano permanecem a serem esclarecidas (Ettinger et al., 1997; Imamura et al., 2000).

Em pacientes com MD, tanto estudos neuropatológicos quanto estudos de neuroimagem não têm demonstrado alterações estruturais, inclusive em núcleos da base. Portanto, acredita-se que a MD possa ser ocasionada somente por alterações funcionais dos núcleos da base, sem neurodegeneração (Kinugawa et al., 2009; Müller, 2009). A atuação do cerebelo e possivelmente de alterações de vias cerebelo-talâmicas também foram sugeridas, pela pobre adaptação dos movimentos sacádicos em

pacientes com MD (Hubsch et al., 2011). Um estudo com PET revelou um aumento anormal do metabolismo nos núcleos pontinos e no tálamo posterior, em associação com uma diminuição metabólica no córtex pré-frontal ventromedial e alta atividade metabólica no cerebelo parassagital. Esses achados sugerem uma ação conjunta da ponte, tálamo e cerebelo na gênese da mioclonia da MD (Carbon et al., 2013). Portanto, uma diminuição da função dos núcleos da base, predominantemente do globo pálido, secundária a uma menor sinalização cerebelar, tem sido proposta na fisiopatologia da MD (Ritz et al., 2011). Esses achados, associados às alterações demonstradas no neocórtex, estão em conformidade com a ampla distribuição da SGCE pelo encéfalo (Marelli et al., 2008; Ritz et al., 2011).

O mecanismo pelo qual ocorre melhora dos sintomas pelo álcool também não é compreendido. Essa responsividade ao álcool é uma das principais características clínicas da MD e faz parte dos critérios diagnósticos propostos para a doença (Grünewald et al., 2008; Kinugawa et al., 2009).

A história familiar é critério diagnóstico para MD, porém, nos critérios mais recentes, somente quando a transmissão é de origem paterna (Grünewald et al., 2008; Kinugawa et al., 2009). A transmissão paternal do defeito genético quase sempre resulta em doença (Raymond et al., 2008; Müller, 2009). Ao contrário, uma penetrância reduzida do alelo anormal de transmissão materna tem sido observada, sugerindo uma inativação genômica materna do gene *SGCE*. A aparente supressão do fenótipo por uma herança materna é incompleta, com menos de 5% dos indivíduos afetados herdando o alelo mutante de suas mães (Zimprich et al., 2001; Müller et al., 2002). Os casos aparentemente esporádicos podem ser resultado de mutações *de novo* no gene *SGCE*, ou devido à baixa penetrância na transmissão materna (Müller et al., 2002; Borges et al., 2007).

As mutações para o gene *SGCE* são encontradas em 36% a 50% dos pacientes com MD (Grünewald et al., 2008; Ritz et al., 2009). Uma correlação genótipo-fenótipo não tem sido encontrada em pacientes com mutações para o gene *SGCE* (Grünewald et al., 2008; Roze et al., 2008). O fenótipo típico consiste de abalos mioclônicos muito curtos e bruscos, que podem apresentar-se de modo isolado ou associados com distonia leve a moderada, e geralmente predominam na parte superior do corpo (Roze



et al., 2008). A mioclonia está frequentemente presente ao repouso e é agravada aos movimentos, esforços e eventos estressantes. Um padrão frequente consiste de mioclonias axiais, predominantemente cervical, associado a mioclonias dos MMSS (Nardocci et al., 2008).

A distonia é a apresentação inicial em cerca de 20% dos pacientes (Roze et al., 2008). Normalmente, a distonia é leve ou moderada, com distonia cervical e câimbra do escritor sendo as manifestações mais comuns. Os MMII podem ocasionalmente ser envolvidos, e podem também ser o sítio inicial da doença (Roze et al., 2008; Koukouni et al., 2008). Podem ocorrer casos de distonia sem mioclonias, porém raramente a distonia permanece isolada durante o curso da doença (Obeso et al., 1983; Asmus et al., 2002; Nardocci et al., 2008). Devido a essa possibilidade de, em alguns casos, a MD cursar com distonias focais ou segmentares, a possibilidade de alguns pacientes com distonia generalizada apresentarem mioclonias, e a dificuldade no diagnóstico diferencial entre as distonias, têm sido sugerida testagem para o gene *SGCE* de uma maneira mais ampla em pacientes com distonia. Entretanto, o estudo genético para *SGCE* não é recomendado para casos esporádicos, sem mioclonias ou alterações psiquiátricas (Grundmann et al., 2004).

As doenças psiquiátricas são mais prevalentes em pacientes com MD que em outros distúrbios do movimento e consideravelmente mais comuns do que na população em geral (Peall et al., 2013). As alterações que têm sido relatadas em famílias com MD são: depressão, distúrbios de ansiedade, transtorno obsessivo-compulsivo, transtornos de personalidade, drogadição, transtorno de déficit de atenção e hiperatividade, e raramente psicose (Doheny et al., 2002; Saunders-Pullman et al., 2002; Roze et al., 2008; Ritz et al., 2009; Peall et al., 2013). A depressão pode ser grave, com psicose e chegar até o suicídio (Misbahuddin et al., 2007). Ocorre uma relação da MD com abuso de álcool, que pode ter uma origem genética ou estar relacionada aos sintomas obsessivos compulsivos ou, mais provavelmente, estar associada aos benefícios da droga para os sintomas motores (Saunders-Pullman et al., 2002; O’Riordan et al., 2004a; Peall et al., 2013).

#### 4.2.2.2 A distonia DYT15

Uma grande família canadense com 12 membros afetados com fenótipo de MD, com mioclonia predominantemente axial e em MMSS proximal, com distonia em cinco deles, com idade média de início dos sintomas de 9,6 anos (entre 5 e 15 anos) foi relatada para ausência de mutações no gene *DR2*. Houve melhora com o uso de álcool e metade dos pacientes com mioclonia, e os pacientes tinham um relativo curso benigno da doença. Dois indivíduos afetados sofriam de etilismo, porém, não houve relato de alterações psiquiátricas importantes. A forma de herança foi autossômica dominante com penetrância reduzida. Ocorreram transmissões tanto paterna quanto materna (Grimes et al., 2001).

A mesma família foi novamente estudada e, então, um novo locus, o *DYT15*, em uma região de 17-cM no cromossomo 18 (18p11) determinado para a MD (Grimes et al., 2002). Essa família era clinicamente indistinguível daquelas com mutações no gene *SGCE*, o que sugere que os produtos dos genes interagem nas mesmas vias funcionais-biológicas. Apesar de existirem bons candidatos a genes na região crítica do cromossomo 18 determinada, ainda não há identificação de mutações, deleções ou duplicações que possam ser responsabilizadas à doença (Han et al., 2007).

#### 4.2.3 As distonias com coreia

##### 4.2.3.1 A distonia DYT4

A distonia DYT4 tem sido usada para descrever uma família australiana com herança autossômica dominante com penetrância completa, com disfonia “em sussurro”, e também distonia desde quadros focais até generalizados (Parker, 1985; Ahmad et al., 1993). A família, descrita inicialmente em 1985, descende de um único indivíduo afetado nascido em 1801, e mais de trinta membros têm sido bem documentados (Parker, 1985; Malpass, 2013).

O locus da distonia DYT4 encontra-se na região 19p13.12-13. Uma nova mutação Arg2Gly (c.4C>G) no gene *TUBB4* (Tubulina beta-4) foi encontrada em

todos os pacientes afetados pesquisados e em nenhum familiar ou controle sadio. A expressão do gene *TUBB4* é majoritariamente restrita ao encéfalo, com somente baixos níveis de expressão em outros tecidos selecionados, como os testículos, cardiomiócitos e sangue. Além disso, uma maior expressão de *TUBB4* está presente no encéfalo fetal, sugerindo uma importante ação desse gene no desenvolvimento encefálico. Embora a expressão do gene possa ser observada em todo o encéfalo, os maiores níveis foram encontrados na amígdala, cerebelo, putamen, substância branca, hipotálamo, tálamo e córtex pré-frontal. O gene expressa a proteína tubulina, uma proteína globular, a principal constituinte de microtúbulos, os principais componentes do citoesqueleto (Hersheson et al., 2013; Lohmann et al., 2012-b).

Nos indivíduos dessa primeira família descrita, o início do quadro variou de 13 a 37 anos, com a maioria iniciando-se antes dos 20 anos. Observou-se uma importante variação de expressividade com quadros de disфонia “em sussurro”, que o autor considerou como “formas frustras” da doença, até fenótipos complexos, com movimentos coreicos e alterações psiquiátricas que foram inicialmente diagnosticados como doença de Huntington ou distúrbio conversivo (Parker, 1985). Os membros afetados dessa família compartilhavam várias características clínicas: a face e o corpo habitualmente eram magros, mesmo antes do desenvolvimento de qualquer problema de fala ou deglutição. Logo após o início da disфонia espasmódica, as bochechas tornavam-se escavadas, a parte inferior da face afunilava-se em direção ao queixo, a língua tornava-se bradicinética e demonstrava um pobre padrão motor, e a boca mantinha-se aberta quando em repouso (Wilcox et al., 2011). A disфонia “em sussurro” foi a apresentação inicial de alguns pacientes (Parker, 1985). Uma avaliação do padrão da disфонia revelou que os pacientes apresentavam uma disфонia espasmódica adutora; conseqüentemente, o termo original de disфонia “em sussurro” tem sido evitado devido ao sussurro estar geralmente associado com uma disфонia espasmódica abduutora (Wilcox et al., 2011). Os quadros que iniciaram com disфонia evoluíram para quadros de distonias focais, como por exemplo, distonia cervical, ou distonia generalizada, ou distonia generalizada associada a outros distúrbios do movimento, como ataxia e principalmente coreia. As alterações neuropsiquiátricas variaram desde alterações de humor, passando por ansiedade, psicose, até demência. Houve relato de retardo

mental. (Parker, 1985). O parkinsonismo foi um achado incomum. Assim como na mioclonia-distonia (DYT11 e DYT15), o consumo de álcool, principalmente no início do quadro, pode aliviar os sintomas (Wilcox et al., 2011).

#### 4.2.4 As distonias paroxísticas

As discinesias paroxísticas são raras e formam um grupo heterogêneo que pode ser distinguido das outras formas de distonia por ocorrência periódica, em ataques intermitentes, de movimentos hiperkinéticos sem perda de consciência (Bhatia, 1999). De acordo com um esquema de classificação amplamente aceito, durante muitos anos as discinesias paroxísticas vêm sendo classificadas em quatro grupos principais: as discinesias cinesiológicas paroxísticas (PKDs), as discinesias não-cinesiológicas paroxísticas (PNKDs), distonia paroxística induzida pelo exercício (PED), e discinesia hipnológica paroxística (PHD). A PHD, com episódios durante o sono, parece tratar-se de uma forma de apresentação da epilepsia noturna do lobo frontal autossômica dominante, com mutações no gene, que codifica um receptor nicotínico de acetilcolina (Scheffer et al., 1994, 1995; Phillips et al., 1995; Bhatia, 1999; Marini e Guerrini, 2007; van Rootselaar et al., 2009)

Entre as PNKDs estão a distonia DYT8 (PNKD-1) e a distonia DYT20 (PNKD-2). A distonia DYT8 foi descrita inicialmente em uma grande família, por Mount e Reback (1940), introduzindo o nome coreoatetose distônica paroxística. Posteriormente, a distonia foi renomeada para doença de Mount-Reback, coreoatetose não-cinesiológica, até a atual denominação discinesia não-cinesiológica paroxística tipo-1 (PNKD-1 – *paroxysmal non-kinesigenic dyskinesia 1*) (Bruno et al., 2007; Müller, 2009).

A distonia DYT8 é caracterizada por ataques de distonia, coreia, atetose e balismo, que ocorrem ao repouso. Os episódios podem durar de segundos a várias horas e podem ocorrer desde várias vezes ao dia a algumas vezes no ano. Os sintomas podem ser precipitados por álcool ou cafeína, e um pouco menos por nicotina, excitação, fadiga, raiva e estresse emocional. Os movimentos, o esforço físico ou o sono não desencadeiam as discinesias (Demirkiran e Jankovic, 1995; Fink et al.,

1997). A idade de início tem grande variação e pode ser durante a infância, adolescência ou em adultos. O exame neurológico é normal entre os episódios (Bressman et al., 1988; Németh, 2002; Bruno et al., 2007).

A PNKD-1 é extremamente rara. Os casos iniciais foram relatados em famílias com herança autossômica dominante, com penetrância maior que 90% (Bruno et al., 2007). Depois, houve relato de casos esporádicos. O locus da doença, o *DYT8*, foi determinado no braço longo do cromossomo 2, primeiro 2q33-35 e depois 2q36 (Fink et al., 1996; Fouad et al., 1996). Com a identificação das mutações no gene da doença, o gene regulador da miofibrilogênese 1 (*MR1*), o locus foi mapeado na posição 2q35. O gene *PNKD1/MR1* é composto de 12 éxons e codifica a proteína MR-1 (reguladora da miofibrilogênese 1) (Lee et al., 2004; Rainier et al., 2004; Chen et al., 2005; Djarmati et al., 2005; Szczaluba et al., 2009).

A distonia DYT20 ou discinesia não-cinesiológica paroxística 2 (PNKD-2) é uma doença com características clínicas e genéticas distintas da PNKD-1, apesar de estarem classificadas no mesmo grupo de discinesias paroxísticas por apresentarem ataques episódicos de distúrbios do movimento hipercinéticos, de curta duração, não desencadeados pelo esforço, movimentos ou exercícios físicos (Demirkiran e Jankovic, 1995; Fink et al., 1997; Spacey et al., 2006; Müller, 2009).

Até o momento, a PNKD-2 foi descrita em uma única e grande família canadense de origem europeia. Todos os pacientes apresentavam distonia como manifestação única do ataque, sempre em membros. Não havia relato de precipitação dos sintomas por álcool ou cafeína (Spacey et al., 2006). Portanto, não houve preenchimento dos critérios clínicos para PNKD-1 (Bruno et al., 2007). Spacey et al. (2006) mapearam um novo locus para essa família muito próximo ao gene *MR-1* da PNKD-1, no cromossomo 2q31. Dois genes na região 2q31, o gene glutamato descarboxilase (*GAD-1*) e o *DLX1/DLX2* têm sido colocados como possíveis alvos para gênese da PNKD-2 (Spacey et al., 2006).

Entre as PKDs estão a distonia DYT10 (PKD-1) e a distonia DYT19 (PKD-2). A distonia DYT10, ou discinesia cinesiológica paroxística 1 (PKD-1 - *paroxysmal kinesigenic dyskinesia 1*), ou coreoatetose cinesiológica paroxística é uma doença relativamente rara, que pode ser herdada por uma herança autossômica dominante com

penetrância incompleta, embora alguns casos possam ser esporádicos (Marsden, 1996). Os ataques normalmente iniciam entre 6 e 16 anos, e são precipitados por movimentos súbitos e inesperados, por isso cinesiogênica (Németh, 2002). Os homens são mais afetados que as mulheres, em uma relação de 3,75:1 (Bhatia, 1999). A PKD-1 tem seu locus mapeado na região pericentromérica do cromossomo 16, 16p11.2-q12.1 (Tomita et al., 1999; Bennett et al., 2000). Bruno et al. (2004) relataram, entre pacientes com idade menor que 20 anos, que 27% apresentaram remissão completa da PKD-1, e 25% tinham considerável melhora dos sintomas. Durante a gestação, 54% das pacientes referiram melhora dos ataques.

Os episódios de movimentos involuntários incluem distonia, coreia, atetose ou balismo. Uma combinação de diferentes hipercinesias pode ocorrer em 33%, porém, distonia sozinha é o movimento mais relatado pelos pacientes (57%). Os ataques normalmente ocorrem quando o paciente levanta-se rapidamente da posição sentada; contudo, sustos, hiperventilação, estresse emocional e exercício contínuo podem também ser gatilhos para os episódios discinéticos. Diferente da PNKD-1, raramente a cafeína, e nunca o álcool, podem desencadear os ataques. Muitos pacientes (82%) descrevem variáveis sensações precedendo os ataques, relatados como auras. Os episódios são menores em duração (segundos a minutos) e mais frequentes que os observados nas PNKDs, ocorrendo acima de 100 vezes ao dia. Normalmente os ataques são unilaterais; alguns pacientes têm ataques do mesmo lado, enquanto em outros o lado afetado pode alternar, e ataques bilaterais podem ocorrer. Os episódios podem ser focais e afetar a fala, por alteração da musculatura craniana-cervical. Alguns pacientes podem abortar o ataque, parando o movimento ou fazendo um processo de aquecimento muscular lentamente. Após o ataque, os pacientes têm um curto período refratário antes de outro ataque ser desencadeado (Bhatia, 1999; Bruno et al., 2004).

Os pacientes nunca têm perda de consciência durante os episódios discinéticos (Bhatia, 1999; Bruno et al., 2004). O locus da DYT10 (16p11.2-q12.1) se sobrepõe ao locus de outras duas doenças com epilepsia e distúrbios do movimento: a coreoatetose paroxística com convulsões infantis (ICCA, 16p12-q12) e a epilepsia rolândica com distonia paroxística induzida por exercício e câimbra do escritor (RE-PD-WC, 16p12-

q11.2), além de convulsões infantis familiares benignas (BIFS, 16p12-q12) (Németh, 2002). Algumas mutações no gene *PRRT2* (proteína transmembrana rica em prolina 2) têm sido identificadas como causas de PKD-1, RE-PD-WC, ICCA e BIFS (Chen et al., 2011; Wang et al., 2011; Lee et al., 2012; van Strien et al., 2012; Silveira-Moriyama et al., 2013). Em quatro famílias de origem alemã e russo-turca foram observados casos de PKD, ICCA e BIFS causadas pela mesma mutação c.649dupC (p.R217PX8). Esses achados forneceram evidências para se considerar essas doenças como doenças alélicas, com a possibilidade de serem causadas pela mesma mutação (Schimidt et al., 2012).

A distonia DYT19 ou discinesia cinesio gênica paroxística 2 (PKD-2 – *paroxysmal -kinesigenic dyskinesia 2*) foi descrita em uma única família indiana com herança autossômica dominante e penetrância pouco reduzida e com quadro clínico semelhante a PKD-1. O novo locus foi mapeado em uma região próxima ao locus *DYT10*, 16q13-q22.1, e denominado *EKD2* ou *DYT19* (Valente et al., 2000; Müller, 2009). Ocorreu predomínio em pacientes do sexo masculino em uma relação de 1,8:1. O início ocorreu na infância, entre 7 e 13 anos. Os ataques foram curtos (cerca de 2 minutos) de movimentos distônicos/coreicos precipitados por movimentos súbitos, com frequência de um a 20 ao dia. Os indivíduos não relataram epilepsia (Valente et al., 2000).

A distonia DYT18 ou discinesia paroxística induzida por exercícios (PED – *paroxysmal exercise-induced dyskinesia*) é uma doença rara que foi inicialmente descrita em uma família que apresentava ataques distônicos precipitados por exercícios prolongados (Lance, 1977; Bhatia, 1999). A PED tem transmissão autossômica dominante, com pequena redução da penetrância. O locus *DYT18* está no braço curto do cromossomo 1, 1p31.3-p35 (Weber et al., 2008).

O quadro clínico inicia-se na infância e é caracterizado por ataques de movimentos distônicos, coreicos e balísticos, que afetam primariamente os MMSS e MMII. A distonia é o distúrbio do movimento mais comum (Margari et al., 2000; Münchau et al, 2000b; Weber et al., 2008). Os ataques podem durar de poucos minutos a cerca de uma hora. Os ataques podem afetar os membros que são exercitados exclusivamente (Plant et al., 1984; Weber et al., 2008). Acompanhando os sintomas

podem-se incluir crises convulsivas, migrânea, diminuição da função cognitiva, retardo mental e comportamento agressivo e impulsivo (Münchau et al., 2000b; Weber et al., 2008).

Duas mutações *missense* e uma deleção 4-bp foram identificadas no gene *SLC2A1* em membros de três famílias afetadas pela PED. O gene *SLC2A1* é composto por 10 éxons e codifica a proteína transportadora de glicose 1 (GLUT1) (Weber et al., 2008). A difusão passiva da glicose através de membranas celulares é facilitada pela GLUT1. A GLUT1 é a molécula primária para mediação do transporte de glicose (a) para dentro dos eritrócitos, (b) através do endotélio da barreira hemato-encefálica, e (c) para dentro e para fora dos astrócitos. Esses dois últimos sítios de transporte devem contribuir para os sintomas neurológicos observados, desde que ambos estão envolvidos no processo nutricional das células do sistema nervoso. É concebível que a demanda de energia aumenta sob condições de exercícios prolongados e excede a oferta de energia, que é reduzida em pacientes com mutações no gene *SLC2A1*. Essa hipótese é embasada pelo sucesso terapêutico da administração de glicose intravenosa durante o exercício físico e pela dieta cetogênica permanente, na qual o maior aporte de energia ao encéfalo é mudado de glicose para corpos cetônicos. Desde que os núcleos da base são particularmente sensíveis a hipoxia e déficits de energia, é possível que as discinesias da PED sejam causadas por um déficit de energia transitório aos núcleos da base (Pulsinelli, 1985; Weber et al., 2008).

A distonia DYT9 ou CSE foi uma condição autossômica dominante descrita em uma única grande família com fenótipo semelhante a PNKD-1. O locus gênico foi mapeado em uma região de 12 cM no cromossomo 1p21-p13.3 (Auburger et al., 1996). A idade de início dos sintomas variou entre 2 e 15 anos. Os episódios de movimentos involuntários, distonia dos membros e disartria duraram pelo menos 20 minutos, com frequência entre duas vezes ao dia e duas vezes ao ano. Os episódios puderam ser induzidos por álcool, cafeína, fadiga e estresse emocional. Entretanto, diferente da PNKD-1, os episódios puderam ser precipitados por exercícios físicos. Entre os 18 pacientes estudados, cinco apresentaram paraplegia espástica durante os períodos de discinesia (Auburger et al., 1996). Posteriormente, a mesma família foi reavaliada e uma mutação para o gene *SLC2A1* encontrada (Weber et al., 2011).



## 5 O PROJETO DE ESTUDO DA DISTONIA CERVICAL NO HC-UFPR

O grupo de pesquisadores do Setor de Distúrbios do Movimento HC-UFPR estudou anteriormente uma amostra de 85 pacientes com distonia cervical no projeto que resultou na dissertação de mestrado do autor do presente estudo. Os pacientes foram avaliados quanto às alterações clínicas e resposta à quimiodesenervação com toxina botulínica (Camargo, 2007). Na época, foi exteriorizada a frustração dos pesquisadores pela impossibilidade de continuidade de avaliação dos pacientes através de estudos genéticos. “Limitações técnicas e econômicas não permitiram a realização de testes genéticos nos pacientes deste estudo. Possivelmente alguns pacientes entre os 45 com distonia focal e segmentar e os nove com distonia generalizada que receberam a etiologia ‘indeterminada’ possam ter alterações genéticas não investigadas” (Camargo, 2007, p. 66).

Os resultados da análise molecular de pacientes com distonias têm trazido novas perspectivas, interpretações e abordagens clínicas. Entre as distonias com herança monogênica conhecidas (DYT1 a DYT25), muitas incluem distonia cervical como forma de apresentação clínica (Klein, 2009; Müller, 2009; Lohmann e Klein, 2013). Entretanto, apesar da identificação de vários loci gênicos associados com a distonia, os genes *TOR1A* (*DYT1*), *THAP-1* (*DYT6*), *CIZ1* (*DYT23*), *ANO-3* (*DYT24*) e *GNAL* (*DYT25*) são os únicos identificados para distonias “primárias” (isoladas) (Ozelius et al., 1997b; Fucks et al., 2009; Charlesworth et al., 2012; Xiao et al., 2012; Fucks et al., 2013).

Com o relato no último ano dos genes *CIZ1* (*DYT23*), *ANO-3* (*DYT24*) e *GNAL* (*DYT25*), foram abertas novas perspectivas para o estudo da distonia cervical. Em relação ao gene *CIZ1*, uma mutação c.790A>G (p.S264G) no éxon 7 foi encontrada em uma família com distonia cervical de início tardio que não progredia para forma generalizada (Xiao et al., 2012). Seis mutações no gene *ANO3* foram localizadas em uma família na qual a maioria dos casos de distonia iniciaram-se pelo pescoço, com irradiação máxima para região craniana ou MMSS (Charlesworth et al., 2012). Fucks et al. (2013) confirmaram várias mutações no gene *GNAL* como causadoras de distonia, com a média de idade de início dos sintomas de 31,3 anos. A maioria dos

afetados (82%) teve início da doença pelo pescoço, e 93% tinham envolvimento cervical no momento do exame.

Esses genes foram associados às distonias somente muito recentemente, após a avaliação clínica e genética dos pacientes deste estudo já ter sido iniciada. Entretanto, devido à grande associação das mutações nesses genes à distonia cervical, os pacientes deste estudo devem futuramente ser novamente convidados para uma avaliação quanto à possibilidade do diagnóstico de distonia DYT23, ou distonia DYT24, ou distonia DYT25 (Charlesworth et al., 2012; Xiao et al., 2012; Fucks et al., 2013). Pacientes com outras distonias e/ou outros distúrbios do movimento devem fazer parte de extensões deste projeto, para investigação de outros genes.

Para este estudo, através de colaboração com o Serviço de Neurologia da Universidade Federal de Minas Gerais, iniciou-se a investigação dos pacientes com distonia cervical com o diagnóstico “indeterminado” através do estudo molecular genético para os genes *DYT1*, (*TOR1A*) e *DYT6* (*THAP-1*).

Nesse sentido, com este trabalho, o Setor de Distúrbios do Movimento do HC-UFPR busca dar sequência ao estudo da distonia cervical, trazendo sua contribuição à área de pesquisa que mais se desenvolve dentro dos distúrbios do movimento, a associação clínico-genética.

## OBJETIVOS

1 – Descrever as diferenças clínicas entre pacientes com distonia cervical com história familiar e sem história familiar.

2 – Determinar a frequência dos genes *DYT1 (TOR1-A)* e *DYT6 (THAP-1)* em pacientes com distonia cervical;

3 – Associar as características clínicas dos pacientes com distonia cervical com a presença de mutações no gene *DYT1 (TOR1-A)*;

4 – Associar as características clínicas dos pacientes com distonia cervical com a presença de mutações no gene *DYT6 (THAP-1)*;

5 – Associar as mutações nos genes *DYT1 (TOR1-A)* e *DYT6 (THAP-1)* com a presença de outros distúrbios do movimento.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1 SELEÇÃO DOS PACIENTES

Foram selecionados 88 pacientes com distonia cervical que compareceram nos ambulatórios de Toxina Botulínica e Distúrbios do Movimento do Serviço de Neurologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, entre junho de 2008 e junho de 2009. Em relação ao gênero, 56 do sexo feminino e 32 do sexo masculino, em uma relação de 1,75:1.

O consentimento informado para os propósitos da pesquisa foram obtidos de todos os pacientes (Apêndice 1). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná sob número 1676.093/2008-06 (Apêndice 2).

Os **critérios de inclusão** foram:

1. Apresentar distonia cervical primária ou de origem indeterminada:
  - a. O diagnóstico de distonia primária requeria: (1) história perinatal e de desenvolvimento normais; (2) nenhuma história de doença ou medicamentos que pudessem precipitar o aparecimento de distonia; (3) nenhuma evidência de alterações piramidais, cerebelares, sensoriais ou cognitivas ao exame; (4) afastamento de causas secundárias por exames específicos.
2. Apresentar distonia acometendo a região cervical independentemente do padrão de distribuição da distonia (focal, segmentar, multifocal, hemidistonia ou distonia generalizada).

Os **critérios de exclusão** foram:

1. Apresentar causa secundária para distonia:
  - a. Para exclusão, no diagnóstico de distonia tardia foram usados os critérios de Burke et al. (1982) modificados: (1) presença de uma distonia crônica; (2) uso de neurolépticos ou outras drogas que sabidamente causam distonia, precedendo (no máximo dois meses)

- ou concomitante ao início dos sintomas; (3) exclusão de outras causas secundárias; (4) exclusão de história familiar de distonia.
- b. Para distonia secundária a traumatismo cervical foram empregados os critérios de Cardoso e Jankovic (1995): (1) o trauma deve ter sido intenso o bastante para causar sintomas locais persistentes por, pelo menos, duas semanas ou requerer avaliação médica em duas semanas após o trauma periférico; (2) o início da distonia deve ter ocorrido em alguns dias ou meses (até um ano) após o trauma; (3) o início da distonia deve estar anatomicamente relacionado ao local do trauma.
  - c. A distonia cervical foi relacionada a lesões do encéfalo quando anteriores (até um ano) ou concomitantes ao início dos sintomas distônicos em: traumatismo crânio-encefálico (TCE), acidente vascular encefálico, encefalite, ou tumor encefálico.
  - d. A paralisia cerebral distônica foi associada a uma história de trauma de parto com anoxia perinatal.
2. Apresentar causa determinada de distonia-plus ou doença heredodegenerativa:
- a. A presença de distonia concomitante a uma doença heredodegenerativa, ou distúrbio neuroquímico gerando a distonia associada a outro distúrbio do movimento, foram considerados, respectivamente, distonia em doença heredodegenerativa e distonia-plus (Fahn et al., 1998).
- 3. Apresentar distonia psicogênica ou pseudodistonia;
  - 4. Recusar-se à realização da investigação diagnóstica;
  - 5. Impossibilidade de comparecer para as reavaliações;
  - 6. Não assinar consentimento informado.

## 2 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Todos os pacientes tiveram o diagnóstico de distonia cervical feito por mais de um neurologista e confirmado pelo coordenador do Setor de Distúrbios do Movimento.

Na sequência, foram avaliados pelo autor, através de detalhada história clínica, exame físico e neurológico, buscando características clínicas, associação com outros distúrbios do movimento e doenças neurológicas, dados de epidemiologia, tempo de evolução da doença, história de trauma, uso de medicamentos, sinais e sintomas que indicassem causa secundária e história familiar de distonia ou outros distúrbios do movimento. O tremor de cabeça foi classificado como tremor distônico (tipo não-não) e como tremor tipo-essencial ou tremor essencial-*like* em MMSS (Deuschl et al., 1998; Münchau et al., 2001).

Os exames complementares foram solicitados conforme protocolo estabelecido por Friedman e Standaert (2001). Todos os pacientes foram submetidos a exame de neuroimagem do encéfalo (TC e/ou RNM) e radiografias de coluna. A investigação complementar incluiu hemograma, TSH, VDRL, ceruloplasmina, função hepática e renal em todos os pacientes. A tomografia computadorizada de coluna cervical, ressonância nuclear magnética de crânio e outros exames laboratoriais foram solicitados de acordo com a avaliação clínica de cada paciente.

Os pacientes foram, então, classificados de acordo com a apresentação clínica de distonia cervical (torcicolo, laterocolo, retrocolo, anterocolo e associações) e de acordo com a distribuição em distonia focal, segmentar, multifocal, hemidistonia e generalizada (Fahn et al., 1998; Tarsy e Simon, 2006).

Os pacientes foram avaliados na admissão em relação à gravidade, à incapacidade e à dor, através de (Apêndice 3 – Protocolo de avaliação):

- *Toronto Western Spasmodic Torticollis Rating Scale* (TWSTRS) - Severity;
- Segmento cervical da Escala de Fahn-Marsden para distonia (FMS);
- Escala de incapacidade de Jankovic (JDS);
- Escala analógica de dor (0= ausência de dor, 1-3= dor leve, 4-6= dor moderada, 7-9= dor forte, 10= dor incapacitante) para a dor referida na região cervical.

Para fins de apresentação e discussão dos resultados, a classificação dos pacientes em distonia primária, distonia em doença heredodegenerativa e distonia-plus foi revista a partir da nova classificação das distonias de abril de 2013 para: distonia

isolada, persistente, progressiva, herdada ou idiopática (esporádica ou familiar); e distonia combinada, persistente, progressiva, herdada ou idiopática (esporádica ou familiar), com ou sem evidência de degeneração ou lesão estrutural (Albanese et al., 2013).

### **3 AVALIAÇÃO GENÉTICA**

#### **3.1 Coleta do material**

O material para análise foi obtido a partir do sangue periférico. Foram colhidos por venólise, com o sistema de *vacuntainer*, 5 mL de sangue da veia antecubital e colocados em tubos contendo anticoagulante ácido etilenodiamino tetracético (EDTA). O estoque foi feito a -20°C até a extração do DNA para análise.

#### **3.2 Extração do DNA**

O DNA genômico foi extraído no Laboratório Genética (Curitiba-PR), sob coordenação do Prof. Dr. Salmo Raskin, a partir de linfócitos do sangue periférico dos pacientes, utilizando-se de técnicas padronizadas publicadas em manuais como o de Sambrook e Russel (2001): *Molecular Cloning: a laboratory manual*, New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press (Sambrook e Russel, 2001).

#### **3.3 Análise para *DYT1* e *DYT6***

As análises que se seguiram foram realizadas nos laboratórios da Universidade Federal de Minas Gerais, sob a coordenação da Prof<sup>ª</sup> Dra. Sarah Teixeira Camargos e do Prof. Dr. Francisco Eduardo Costa Cardoso. Foram testados os genes *DYT1* e *DYT6*.

### 3.3.1 Reação em cadeia de polimerase (PCR) – Amplificação do DNA para escaneamento de mutações nos genes *DYT1* (*TOR1-A*) e *DYT6* (*THAP1*)

As amplificações foram feitas usando *GoTaq*<sup>®</sup> *Colorless Master Mix* (Promega, Madison, WI), em um volume final de 25 µL, contendo 100 ng de DNA genômico e 10 pmol de cada *primer* (*foward* 3' - 5' e *reverse* 5'- 3') (Tabela 5). Os ciclos de temperatura foram realizados em um programa com o mesmo padrão para o gene *DYT1* e para os éxons 2 e 3 do gene *DYT6*: 95°C (5 min), seguido de 35 ciclos de 95°C (30 seg), 55°C (30 seg), 72°C (45 seg) e uma extensão final de 72°C por 10 minutos. A temperatura de anelamento para o éxon 1 do gene *DYT6* foi de 60°C.

TABELA 5 – PRIMERS USADOS PARA AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DOS PRODUTOS DA PCR (GENES *DYT1* E *DYT6*)

Gene	Primer	Sequência (5'→3')	Uso
<i>THAP1</i>	THAP1_1F	AAGAAGCGAGGGAATCCAAC	Éxon 1
	THAP1_1R	CCCCACCCCGGCTGAGA	
	THAP1_2F	TTGGGTGCCTTTATTTATTT	Éxon 2
	THAP1_2R	CAAAAAGCAACCCAATATTTTA	
	THAP1_3F	TGGTCAGTCCACAGATTCTTTT	Éxon 3
	THAP1_3R	TGTGGTATTGCCCCATTAGA	
<i>TOR1-A</i>	TOR1-A_5F	AATGTGTATCCGAGTGGAAATG	Éxon 5
	TOR1-A_5R	TGCCAATCATGACTGTCAATC-	

Para pesquisa de mutações no gene *TOR1-A*, foi sequenciado o éxon 5 a partir dos *primers* descritos por Ozelius et al. (1997b). Para pesquisa de mutações no gene *THAP-1*, foram sequenciados os éxons a partir dos *primers* descritos por Xiao et al. (2010).

Do produto final da PCR final foram utilizados 4 µL, acrescidos de 1 µL de *SYBR*<sup>®</sup>*Safe* para eletroforese em gel de agarose a 2% (1g de agarose e 50 ml de Tris-acetato-EDTA). A forma contendo o gel foi colocada no interior de uma mini-cuba de eletroforese horizontal (Figura 9). Foram adicionados cerca de 300 ml de Tris-acetato-EDTA (TAE) até a submersão completa do gel, em pelo menos 1mm. O DNA foi aplicado no gel, e a tampa da cuba foi conectada a uma fonte de corrente contínua com



1 a 5 V/cm. O intercalamento entre as pares de bases dos ácidos nucleicos foi analisado por transluminação ultravioleta. Após a confirmação de que os controles negativos estavam sem contaminação por DNA (ausência de visualização de bandas), o produto de PCR foi purificado.

Para purificação do produto da PCR foram adicionados 60 µL de *QIAquick PCR Purification* (Qiagen, Valencia, CA) a cada PCR. Transferiu-se a mistura para a *MultiScreen PCRµ96 Filter Plate* (Millipore - Corporation, New York, NY) (Figura 9). Colocou-se a placa no vácuo por aproximadamente três a quatro minutos em 20 a 25 mmHg ou até que não houvesse líquido na placa. Ressuspendeu-se em 25 µL de água e colocou-se a placa no agitador por 10 minutos, e transferiu-se o produto de PCR purificado para uma placa limpa de 96 reações.

### 3.3.2 Reação de sequenciamento dos produtos da PCR (genes *DYT1* e *DYT6*)

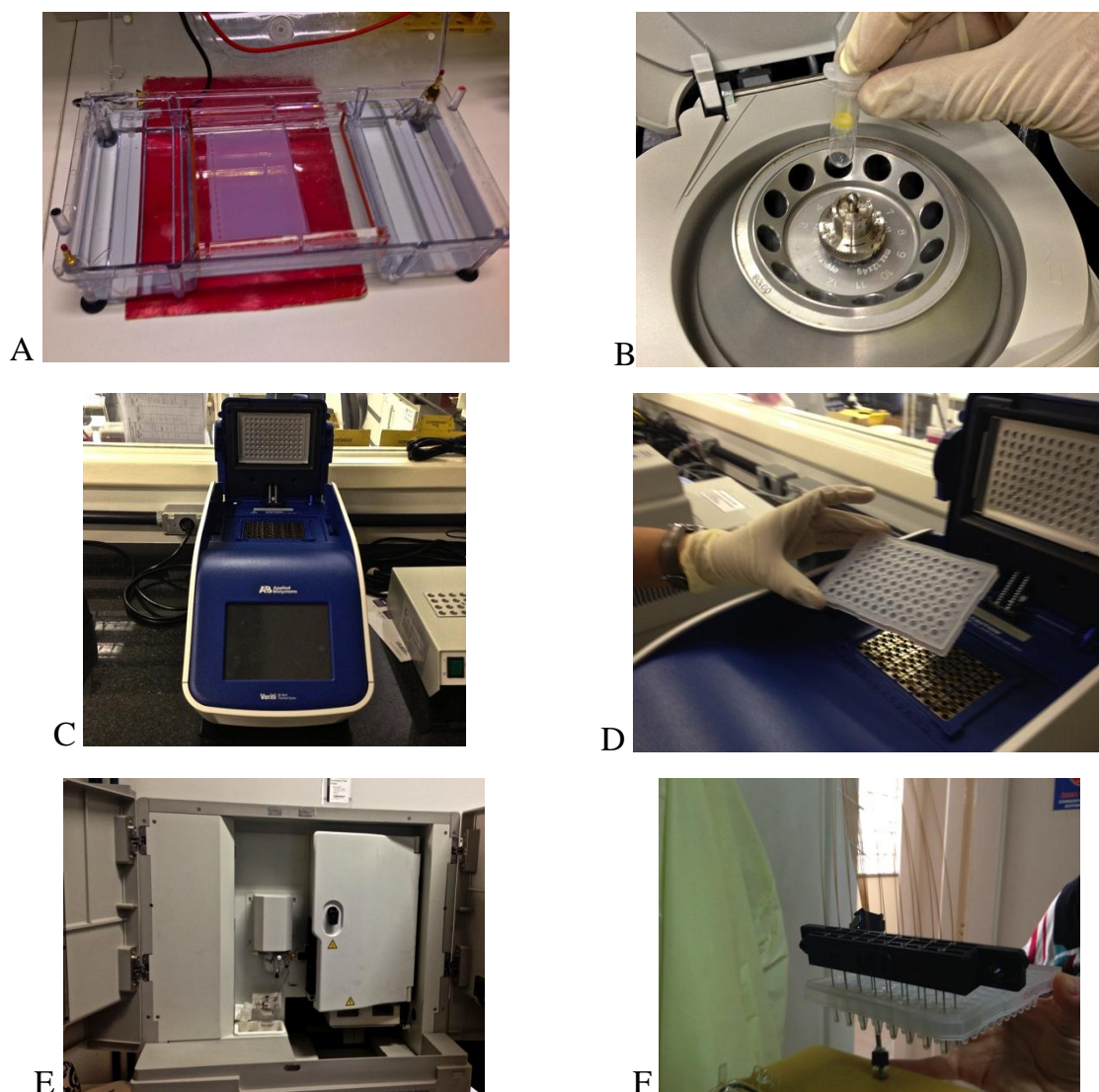
Para cada gene, 5 ng de DNA genômico foi utilizado em um volume total de 10 µL de reação de sequenciamento, contendo 3,2 pmol de *primer* (*forward* ou *reverse*), 1 µL de *BigDye* (*BigDye Terminator V3.1*, Applied Biosystems, Foster City, CA) e 2 µL do tampão do fabricante (*Sequencing Buffer*). Foram usados os mesmos *primers* da primeira amplificação (Tabela 5). A reação de sequenciamento foi feita com 30 ciclos de 95°C (20 seg), 55°C (15 seg), 60°C (60 seg).

Para purificação da reação de sequenciamento, foi seguido o protocolo do kit *BigDye Terminator V3.1* (Applied Biosystems, Foster City, CA) de precipitação com Etanol/EDTA/Acetato de sódio. Para um volume final de 20 µL de reações de sequenciamento, a purificação foi realizada em placas de 96 poços. Foram adicionados 2 µL de EDTA e 2 µL de acetato de sódio 3M a 125 mM para cada poço, também foram adicionados 50 µL de Etanol a 100% e, em seguida, a placa foi selada e coberta com papel alumínio, misturada por inversão quatro vezes, e incubada à temperatura ambiente por 15 minutos. Após o período de incubação, a placa foi centrifugada a 3000 x g por 30 minutos; imediatamente após o término da centrifugação, a placa foi invertida para descartar o sobrenadante e foi realizado um *spin*, na centrífuga, a 185 x g, com a placa virada para baixo. Em seguida, foram adicionados 70 µL de Etanol a

70% a cada poço e novamente centrifugado a 1650 x g por 15 minutos à temperatura de 4° C. Novamente a placa foi invertida e um *spin* realizado a 185 x g por minuto. A placa foi colocada no banho seco para garantir que não ficasse resíduo de álcool nas amostras. A amostra foi ressuspensa com 10 µL de formamida.

Após a purificação da reação de sequenciamento, o produto foi processado no ABI3730XL (*Applied Biosystems*, Foster City, CA) (Figura 9).

FIGURA 9 – MATERIAIS USADOS NO SEQUENCIAMENTO DOS GENES



A – Mini cuba com gel de agarose 2% preparado para início da eletroforese.

B – *MultiScreen PCRµ96 Filter Plate* (*Millipore - Corporation*, New York, NY) no agitador.

C e D – Amplificação dos éxons.

E e F – *ABI3730XL* (*Applied Biosystems*, Foster City, CA) para processamento da reação de sequenciamento

#### 4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram testados quanto ao padrão de distribuição (normal ou não). As diferenças estatísticas das médias entre os grupos foram determinadas utilizando-se os testes *t de Student* uni-caudal para distribuições normais, e o teste de *Mann-Whitney* para distribuições não-normais. Para diferenças entre valores encontrados e esperados, foi utilizado o teste exato de *Fisher*. Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  DP (desvio padrão). Toda a análise estatística foi realizada com os programas *Office Excel* e *Statistica for Windows* versão 99. As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

### 1 AVALIAÇÃO CLÍNICA

#### 1.1 Características Clínicas e Epidemiológicas

A maioria dos 88 pacientes com distonia cervical incluídos no estudo era de Curitiba e Região Metropolitana (Gráfico 1). Ocorreram 16 famílias com 23 (26,74%) pacientes (Tabela 6). Os outros pacientes não tinham ou não souberam informar sobre história familiar de distonia. Não houve casos de pacientes adotados. Os pacientes com história familiar de distonia foram considerados como casos familiares e os 65 sem história familiar foram considerados como casos esporádicos.

GRAFICO 1 – ORIGEM DOS PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL

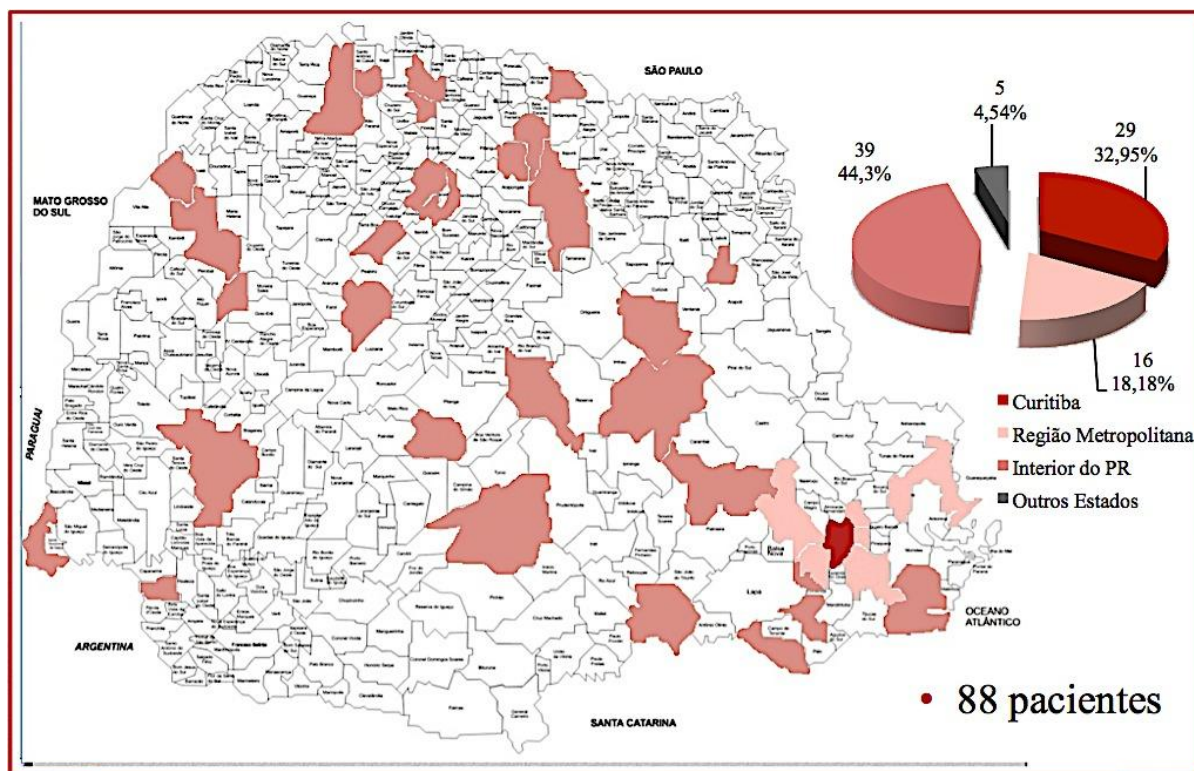


TABELA 6 – APRESENTAÇÃO DAS FAMÍLIAS COM DISTONIA CERVICAL

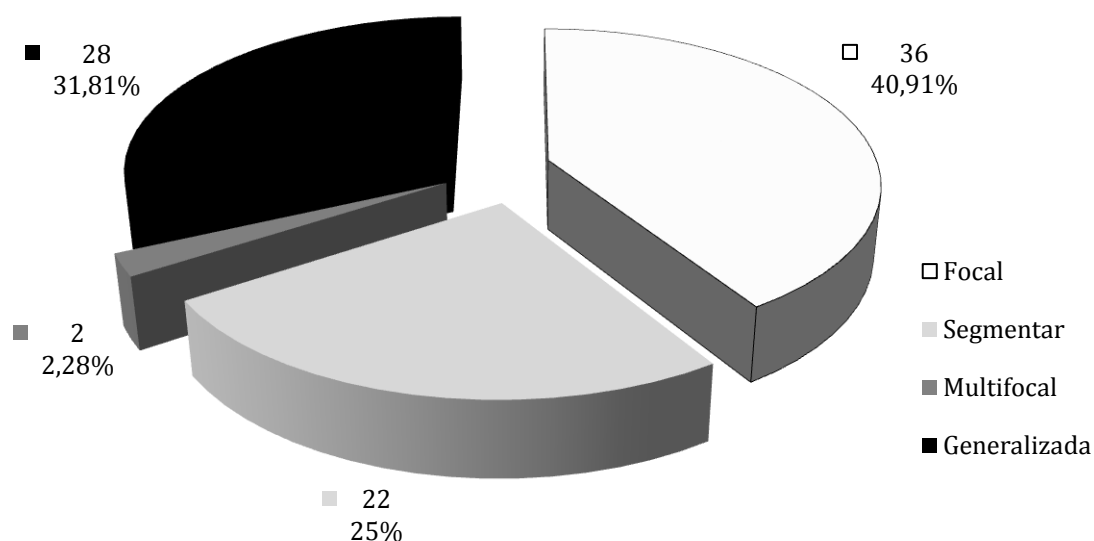
Família	Paciente	Idade	Idade de Início	Forma de Apresentação	Quadro Clínico
Família 1	1. III-21	24 anos	20 anos	Generalizada	Início com distonia craniana evoluindo com distonia generalizada (síndrome de Meige, cervical, axial e MIE)
	2. III-22	18 anos	12 anos	Generalizada	Início com distonia no MSD evoluindo com distonia generalizada (quatro membros, axial, cervical, e craniana)
Família 2	3. III-16	13 anos	7 anos	Generalizada	Início pelos MMII evoluindo com generalização (quatro membros, axial e cervical)
Família 3	4. II-3	35 anos	11 anos	Generalizada	Início pelo MID com generalização (quatro membros, axial e cervical). Filho de pais consanguíneos. Fez palidotomia direita.
	5. II-7	30 anos	10 anos	Segmentar	Início pelo MSD evoluindo para MSE e cervical.
Família 4	6. II-1	92 anos	70 anos	Segmentar	Início com distonia do MSD e cervical. Bradicinesia e rigidez.
	7. III-11	68 anos	56 anos	Focal	Distonia cervical. Ausência de parkinsonismo.
Família 5	8. II-5	10 anos	4 anos	Generalizada	Início pelos MMII evoluindo com generalização (quatro membros, axial e cervical).
Família 6	9. II-12	47 anos	30 anos	Segmentar	Distonia cervical, síndrome de Meige e tremor cefálico.
Família 7	10. II-7	40 anos	5 anos	Multifocal	Início com distonia no MIE. Apresentou distonia cervical após tratamento para THB. Irmã com distonia em MMII > D.
Família 8	11. II-11	60 anos	57 anos	Segmentar	Início com distonia cervical associada à cirurgia de tireoide. Evoluiu com distonia de laringe, síndrome de Meige e MSD. Irmã e sobrinha com distonia cervical e oromandibular.
Família 9	12. III-4	47 anos	39 anos	Segmentar	Distonia oromandibular e cervical. Outros familiares com distonia cervical (focal).

Família	Paciente	Idade	Idade de Início	Forma de Apresentação	Quadro Clínico
Família 10	13. III-8	31 anos	9 anos	Generalizada	Início com discretas alterações em MMSS e cervical evoluindo com generalização (axial). Predomínio cervical.
Família 11	14. II-1	33 anos	12 anos	Generalizada	Início com distonia no MIE com evolução para MSD. Aos 15 anos apresentou generalização (quatro membros, axial e cervical). Pai com distonia cervical.
Família 12	15. II-1	17 anos	2 anos	Generalizada	Início do quadro com retardo mental e distonia cervical. Evoluiu com generalização (craniana, MMSS, MMII e axial). Irmão com quadro de distonia cervical sem retardo. Pais consanguíneos.
Família 13	16. III-6	49 anos	27 anos	Generalizada	Início com distonia cervical evoluindo com generalização (laringe, MSE, axial).
Família 14	17. III-7	25 anos	18 anos	Segmentar	Início com distonia do MSD evoluindo para distonia cervical e oromandibular
	18. III-11	16 anos	6 anos	Generalizada	Início com distonia do MSE evoluindo com generalização, primeiro cervical, oromandibular e depois MSD, axial e MMII.
Família 15	19. II-14	49 anos	37 anos	Focal	Distonia cervical e tremor cefálico. Mãe com quadro semelhante.
	20. III-44	27 anos	25 anos	Focal	Distonia cervical e tremor cefálico.
	21. III-45	25 anos	24 anos	Focal	Discreta distonia cervical
	22. III-46	18 anos	17 anos	Focal	Distonia cervical
Família 16	23. II-8	67 anos	64 anos	Segmentar	Início com blefaroespasma evoluindo com distonia cervical. Rigidez e bradicinesia. Sobrinha com blefaroespasma

MMII – membros inferiores, MSD – membro superior direito, MSE – membro superior esquerdo, MID – membro inferior direito, MIE – membro inferior esquerdo, THB – transtorno de humor bipolar.  
Os heredogramas das famílias com distonia cervical encontram-se nos anexos do estudo.

A distonia cervical como manifestação distônica única, forma focal, foi encontrada em 36 (40,91%) pacientes. Outros 22 (25%) pacientes tinham distonia segmentar, seis (28,57%) dos quais com distonia craniana, 13 (59,1 %) com distonia em MMSS, três (13,67%) com distonia craniana e distonia em MMSS e um com distonia craniana e distonia de laringe. Os dois (2,28%) pacientes com distonia multifocal apresentavam distonia em membro inferior esquerdo associada. A distonia generalizada foi observada em 28 (31,81%) pacientes (Gráfico 2).

GRÁFICO 2 – CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL POR LOCAL DE AFECÇÃO (DISTRIBUIÇÃO)

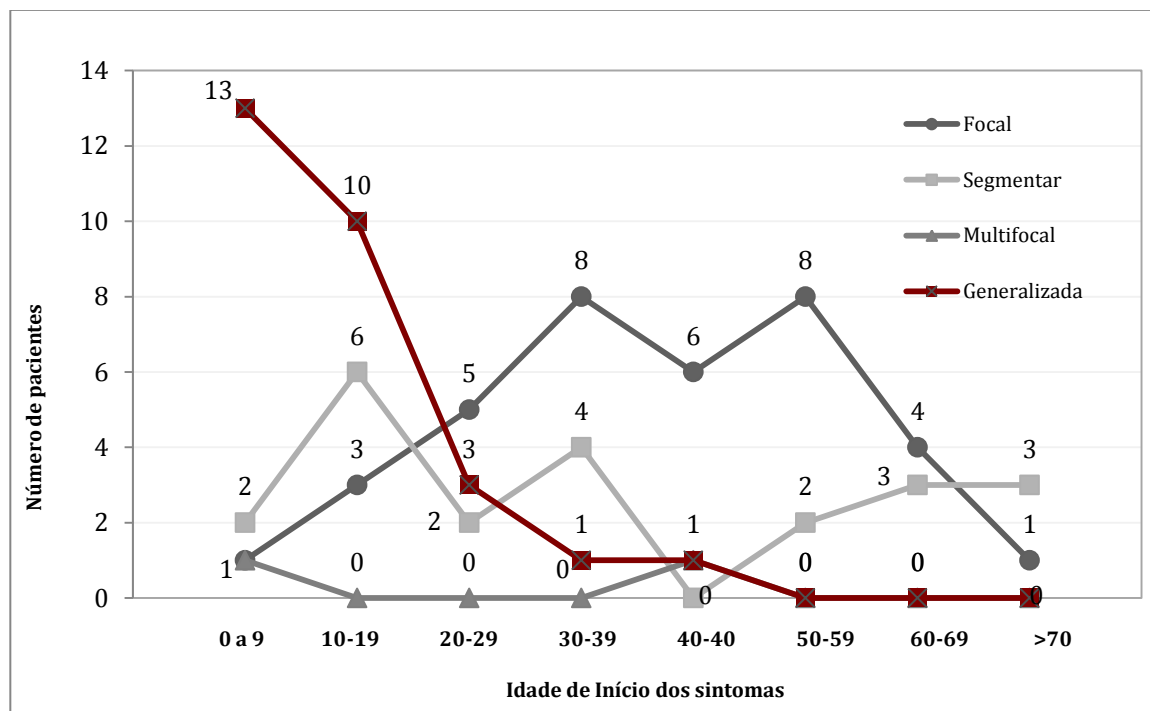


n=88

A idade de início dos sintomas variou de 5 meses a 72 anos (média de  $30,47 \pm 21,16$  anos). A média de idade de início dos sintomas de pacientes com distonia focal,  $41,05 \pm 16,87$  anos, e distonia segmentar,  $35,55 \pm 24,13$  anos, foram maiores do que a encontrada em pacientes com distonia generalizada,  $12,36 \pm 9,10$  anos ( $p < 0,001$ ). A incidência de distonia generalizada caiu progressivamente da primeira até a quinta década de vida. Nas sétima e oitava décadas de vida somente foram encontrados pacientes iniciando quadros de distonia focal e segmentar (Gráfico 3).

O gênero não influenciou no início dos sintomas. A média de idade de início da distonia em homens foi de  $28,01 \pm 21,66$  anos e em mulheres de  $32,28 \pm 20,42$  anos ( $p=0,175$ ).

GRÁFICO 3 – CASOS DISTONIA CERVICAL POR FAIXA ETÁRIA DE INÍCIO DO QUADRO



n=88

A média de idade de início da distonia em casos esporádicos foi de  $32,37 \pm 21,09$  anos e em casos familiares de  $24,78 \pm 20,48$  anos (Tabela 8). Apesar de não haver diferença estatisticamente significativa ( $p=0,227$ ), observou-se uma maior proporção de distonias generalizadas no grupo de pacientes com história familiar e uma maior proporção de pacientes com distonia focal no grupo sem história familiar. Houve um início mais precoce das distonias generalizadas em comparação com as focais e segmentares tanto nos casos esporádicos quanto nos familiares ( $p < 0,001$ ). As principais características dos casos esporádicos e dos casos familiares estão listados na Tabela 7.

Entre os pacientes com distonia generalizada, não houve diferença entre o local de início, se mais rostral ou caudal, nos membros ou crânio cervical, entre pacientes com história familiar ou não ( $p=0,643$  a  $p=1$ ) (Tabela 8).



TABELA 7 – COMPARAÇÃO ENTRE CASOS ESPORÁDICOS E CASOS FAMILIARES DE DISTONIA CERVICAL

Local de Início	Casos Esporádicos	Casos Familiares	Total	<i>p</i>
Número de pacientes	65	23	88	-
Relação ♂:♀	1:1,95	1:1,3	1:1,75	-
Idade de início*:				
Distonia focal	42,45±16,89 (23)	32,2±13,49 (5)	41,05±16,87 (28)	<i>p</i> =0,10
Distonia segmentar	34±23,58 (15)	42±22,62 (7)	35,55±24,13 (22)	<i>p</i> =0,24
Distonia multifocal	42 (1)	5 (1)	24,5±24,75(2)	-
Distonia generalizada	13,12±9,93 (18)	11±7,16 (10)	12,36±9,10 (28)	<i>p</i> =0,28
Todas as formas	32,37±21,09(65)	24,78±20,48(23)	30,47±21,16 (88)	<i>p</i> =0,07
Relação distonia focal : distonia generalizada	1,83:1	1:2,2	1:1	<i>p</i> =0,227

\* idades apresentadas em anos (média ± desvio padrão)

TABELA 8 – LOCAL DE INÍCIO DA DISTONIA GENERALIZADA (N=28) COM MANIFESTAÇÃO CERVICAL (CASOS ESPORÁDICOS X CASOS FAMILIARES)

Local de Início	Casos esporádicos	Casos Familiares	Total
<b>Crânio-cervical</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>9</b>
Crânio-facial	1	1	2
Cervical	4	3	7
<b>Membros</b>	<b>12</b>	<b>7</b>	<b>19</b>
MMSS	5	4	9
Membros inferiores	7	3	10

Em relação às apresentações clínicas da distonia cervical (torcicolo, laterocolo, retrocolo e anterocolo), uma única forma foi observada em 46 (52,27%) pacientes, duas formas em 36 (40,9%) pacientes e três em quatro pacientes. Entre os pacientes com distonia generalizada, 19 (67,86%) apresentavam mais de um tipo de distonia cervical. O maior número de pacientes com um tipo de distonia cervical encontrava-se no grupo com distonia focal, 25 (65,8%) pacientes.

O torcicolo foi a apresentação de distonia cervical mais prevalente, estando presente em 64 (72,73%) dos pacientes. O laterocolo foi observado em 42 (47,73 %) pacientes. Os 17 (19,32%) pacientes com retrocolo e os 11 (12,5%) casos de anterocolo estavam em combinação com outras formas de apresentação, não tendo

sido observados casos isolados. A maior combinação observada foi torcicolo e laterocolo (Tabela 9).

TABELA 9 – DIVISÃO DOS PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL POR FORMA DE APRESENTAÇÃO CLÍNICA

Apresentação	Casos Esporádicos (n=65)	Casos Familiares (n=23)	Total (n=88)	<i>p</i> *
<b>1 Tipo</b>	<b>34</b>	<b>12</b>	<b>46</b>	<i>p</i> =1
Torcicolo	23	9	32	
Laterocolo	11	3	14	
Retrocolo	0	0	0	
Anterocolo	0	0	0	
<b>2 Tipos</b>	<b>27</b>	<b>10</b>	<b>37</b>	<i>p</i> =1
Torcicolo + Laterocolo	10	5	15	
Torcicolo + Retrocolo	6	2	8	
Torcicolo + Anterocolo	3	2	5	
Laterocolo + Retrocolo	6	0	6	
Laterocolo + Anterocolo	2	1	3	
<b>3 Tipos</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<i>p</i> =1
Torcicolo + Laterocolo + Retrocolo	2	1	3	
Torcicolo + Laterocolo + Anterocolo	2	0	2	

- Entre casos esporádicos e familiares

## 1.2 Avaliação da gravidade da distonia

A gravidade ocasionada pelas alterações motoras cervicais, medidas pela escala TWSTRS, foi maior entre os pacientes com distonia focal esporádicos ( $16,06 \pm 4,21$ ) que nos casos focais familiares ( $11,66 \pm 7,56$ ) ( $p=0,03$ , Gráfico 4).

A gravidade das alterações motoras, medida pela escala TWSTRS, foi maior entre os pacientes com distonia generalizada do que entre os pacientes com distonia focal ( $p=0,012$ ). Esta diferença foi resultado, principalmente, da maior gravidade observada no grupo de pacientes sem história familiar ( $p=0,009$ ) (Gráfico 5). Não houve diferença entre a gravidade na apresentação da distonia cervical entre pacientes com distonia focal e distonia segmentar ( $p=0,13$ ) e na gravidade medida entre pacientes com distonia segmentar e distonia generalizada ( $p=0,19$ ). Pelo mesmo instrumento de avaliação, os pacientes com dois e três tipos de distonia apresentavam maior gravidade do que aqueles com um tipo de distonia cervical ( $p<0,001$ ).

GRÁFICO 4 – COMPARAÇÃO DA GRAVIDADE DA DISTONIA CERVICAL ENTRE PACIENTES COM DIFERENTES APRESENTAÇÕES DE DISTONIA PELA TWSTRS

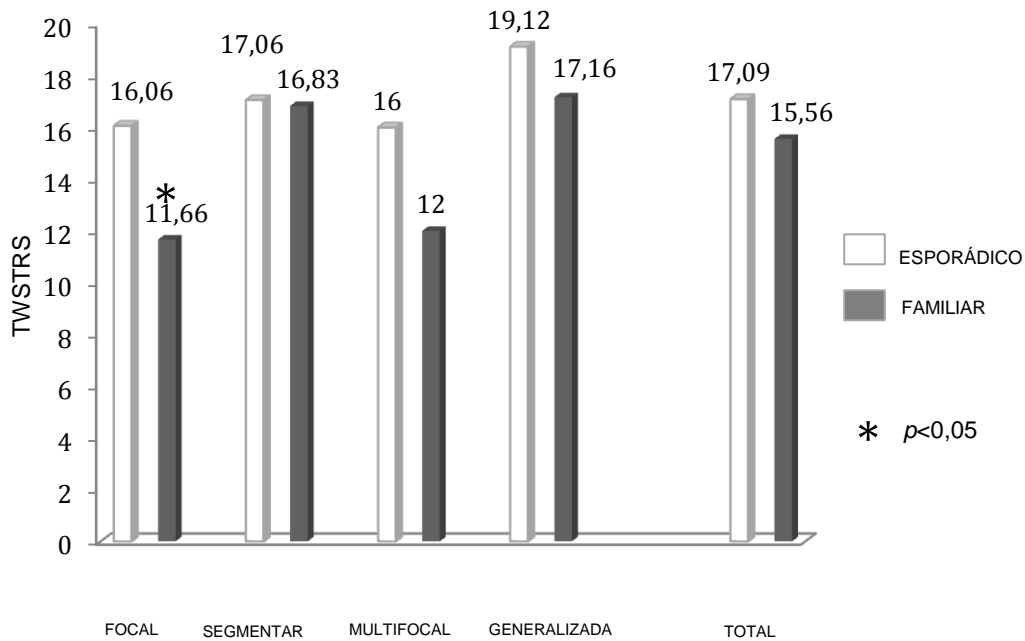
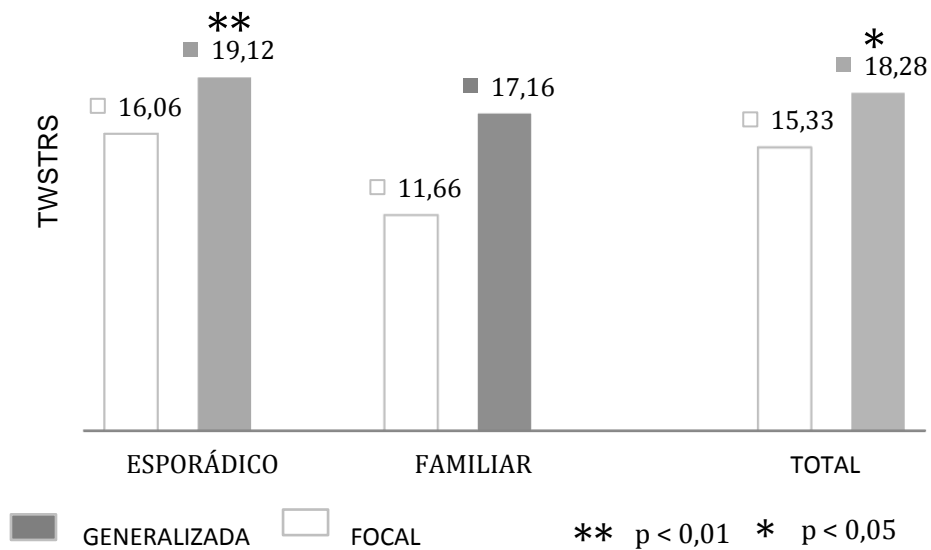


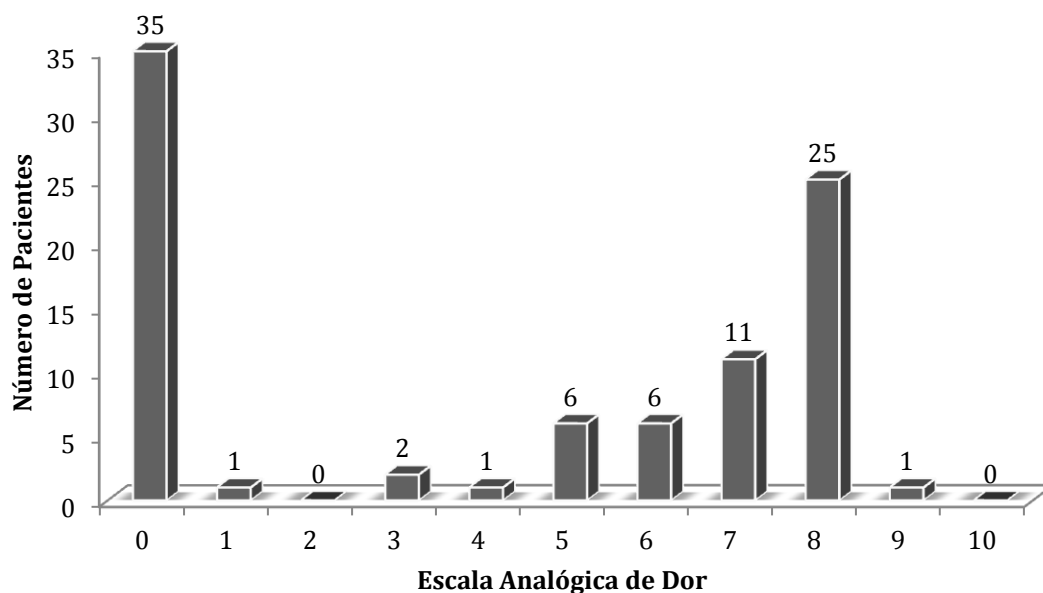
GRÁFICO 5 – COMPARAÇÃO DA GRAVIDADE ENTRE PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL NAS APRESENTAÇÕES DE DISTONIA FOCAL E DISTONIA GENERALIZADA PELA TWSTRS



### 1.3 Avaliação da dor cervical na distonia

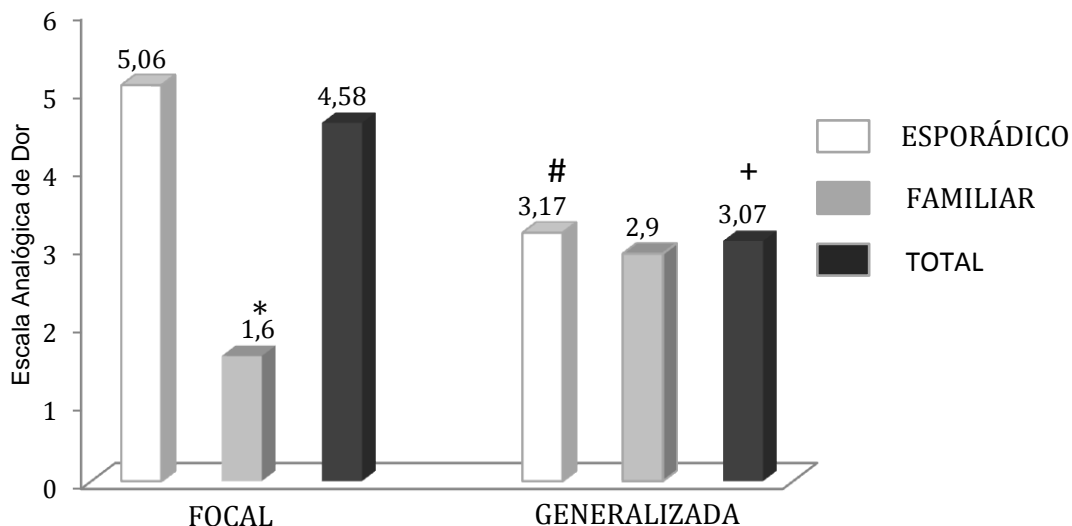
Diferentes graus de dor na região cervical foram relatados por 53 (60,23%) dos pacientes. Destes, 26 (49,06%) referiram uma dor de caráter elevado (Gráfico 6). A presença de espasmos e jerks, relatados por 13 (14,77%) pacientes, foi um fator de agravamento da dor ( $p < 0,001$ ).

GRÁFICO 6 – CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL POR INTENSIDADE DE DOR CERVICAL



Os pacientes com quadro esporádico apresentaram maior nível de dor que os pacientes com história familiar ( $p = 0,029$ ). Os pacientes com distonia focal, com história familiar, relataram dor com menor intensidade (Gráfico 7). Quando comparados pacientes com um movimento ou com combinações de movimentos distônicos cervicais, houve maior intensidade de dor no grupo com dois e três movimentos ( $p = 0,025$ ).

GRÁFICO 7 – COMPARAÇÃO DA DOR ENTRE PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL NAS APRESENTAÇÕES DE DISTONIA FOCAL E DISTONIA GENERALIZADA PELA ESCALA ANALÓGICA VISUAL DE DOR



+  $p < 0,05$  entre o total de pacientes com distonia focal e o total de pacientes com distonia generalizada

#  $p < 0,05$  entre os pacientes com distonia focal e distonia generalizada sem história familiar

\* $p < 0,05$  entre os pacientes com distonia focal com história familiar

#### 1.4 Presença de outros distúrbios do movimento

Algum tipo de tremor foi observado em 32 (36,37%) pacientes. Um tremor distônico cefálico (tipo “não-não”) ocorreu em 23 (71,88%) pacientes e um tremor tipo-essencial de MMSS em 15 (46,88%). Uma história familiar de tremor foi observada em 10 (31,25%) dos pacientes. Na ausência de tremores, uma história familiar de tremor somente foi observada em pacientes com história familiar de distonia. Com os tremores e as distonias, uma história familiar de distúrbio do movimento foi relatada por 26 (29,55%) dos pacientes.

Três pacientes, um com distonia generalizada e dois com distonia segmentar apresentavam parkinsonismo associado. Os pacientes com distonia segmentar também tinham história familiar de distonia e iniciaram seus quadros com 64 e 70 anos (família 4 e família 16). O paciente com distonia generalizada iniciou seu quadro aos 17 anos pelo pescoço, evoluindo para distonia generalizada em dois anos. Seus pais eram consanguíneos e tinha história familiar de alterações psiquiátricas, principalmente

transtornos do humor, inclusive com suicídio. Não houve resposta da distonia e do parkinsonismo à levodopa nesses casos e nos outros desta série. Outros quatro pacientes, dois com distonia segmentar e dois com distonia generalizada, apresentaram mioclonias: todos nos MMSS e um também na face. A idade de início variou entre 12 e 23 anos ( $15,5 \pm 5,07$  anos) e não havia história familiar de distonia ou outro distúrbio do movimento. Dois pacientes descreveram melhora parcial das mioclonias com a ingestão de bebidas alcoólicas.

## 2 GENÉTICA

Todos os 88 pacientes avaliados clinicamente tiveram a coleta do sangue periférico realizada. Algumas dificuldades técnicas, como por exemplo, no transporte do material, no isolamento do DNA, e em coleta inadequada do material para análise, não permitiram a análise genética em seis pacientes (cinco esporádicos e um pertencente a família 8 - Anexos). O contato para coleta do sangue nesses pacientes não foi possível. Portanto, a pesquisa para mutações nos genes *DYT1* e *DYT6* foi realizada em 82 (93,2%) pacientes.

### 2.1 Gene *DYT1*

Entre os 82 pacientes analisados, dois pacientes apresentaram a deleção 3-bp (deleção GAG) no éxon 5 do gene *DYT1* (Figura 10), em heterozigose.

A primeira era uma paciente da família 2 (Figura 11), com início dos sintomas aos 7 anos, e seis anos de evolução de doença na inclusão neste estudo. O início do quadro se deu pelos MMII, evoluindo com generalização (quatro membros, axial e cervical). Os outros casos de distonia na família foram generalizadas (Tabela 12).

A segunda era uma paciente da família 11 (Figura 12), com início dos sintomas aos 12 anos, e 21 anos de história de doença ao exame clínico do estudo. O início da distonia ocorreu no MIE, com evolução para MSD. Aos 15 anos apresentou generalização (quatro membros, axial e cervical). O pai não compareceu para

avaliação clínica, mas segundo a paciente, apresentava distonia cervical. Não houve relato de outros casos na família (Tabela 10).

FIGURA 10 – CROMATOGRAMA COM PACIENTE APRESENTANDO A MUTAÇÃO NO GENE *DYT1* (c.907GAGdel)

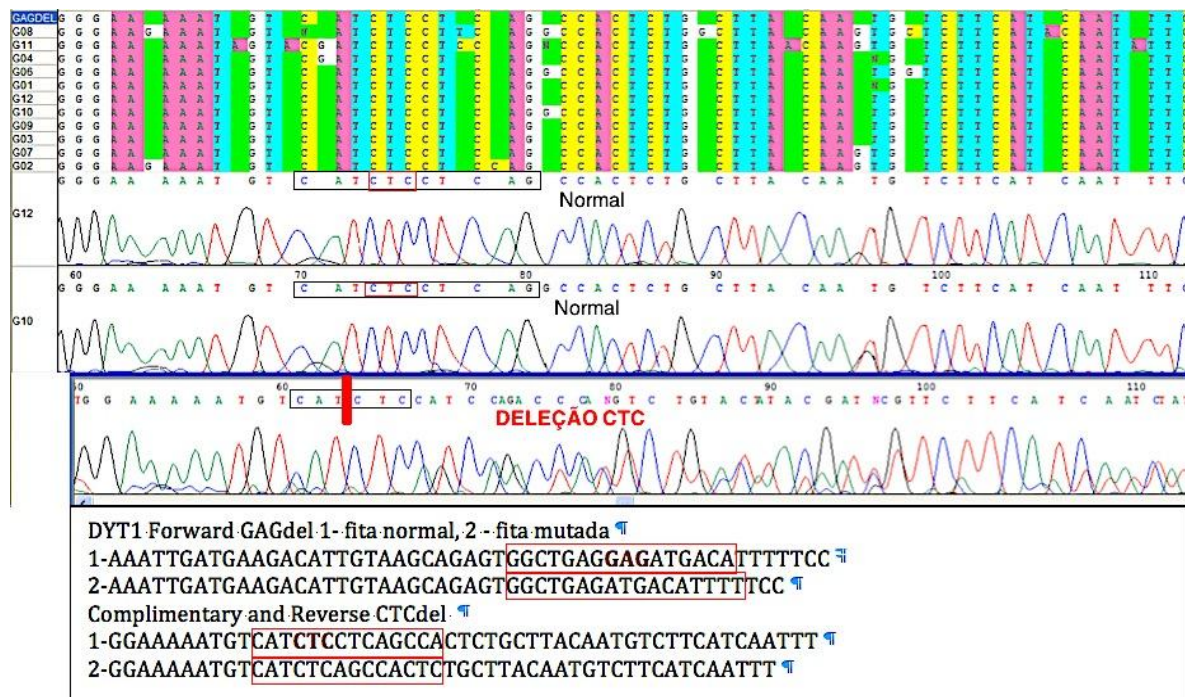


TABELA 10 – CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES COM PRESENÇA DE MUTAÇÃO NO GENE *DYT1*

Família/ Paciente	Gênero	Tipo de distonia	Idade de início (anos)	Tempo de evolução (anos)	Local de início	Familiares afetados
III-16, Família 2	Feminino	Generalizada	7	6	MMII	Pai iniciou distonia com 12 anos, atualmente generalizada. Tio e prima com distonia generalizada
II-1, Família 11	Feminino	Generalizada	12	21	MMII	Pai com distonia cervical

FIGURA 11 – HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 2

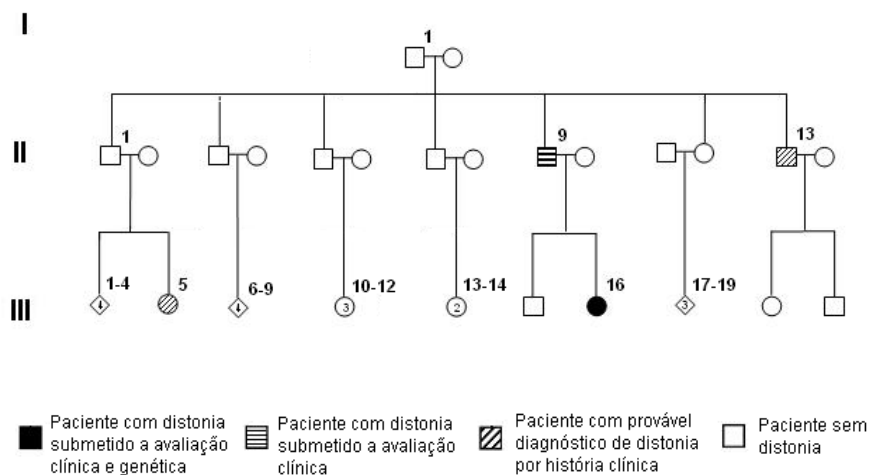
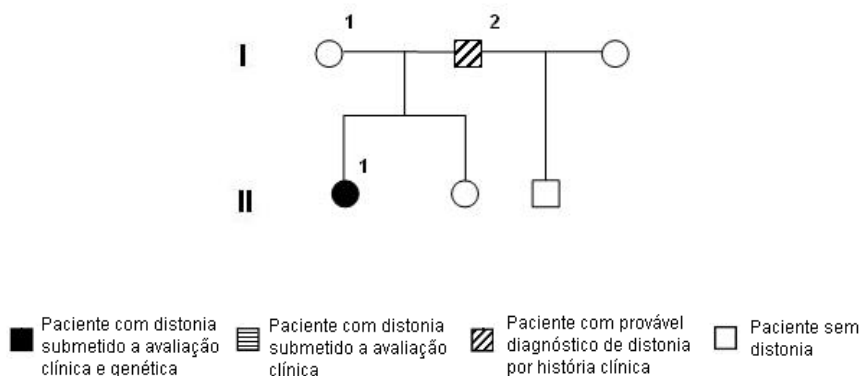


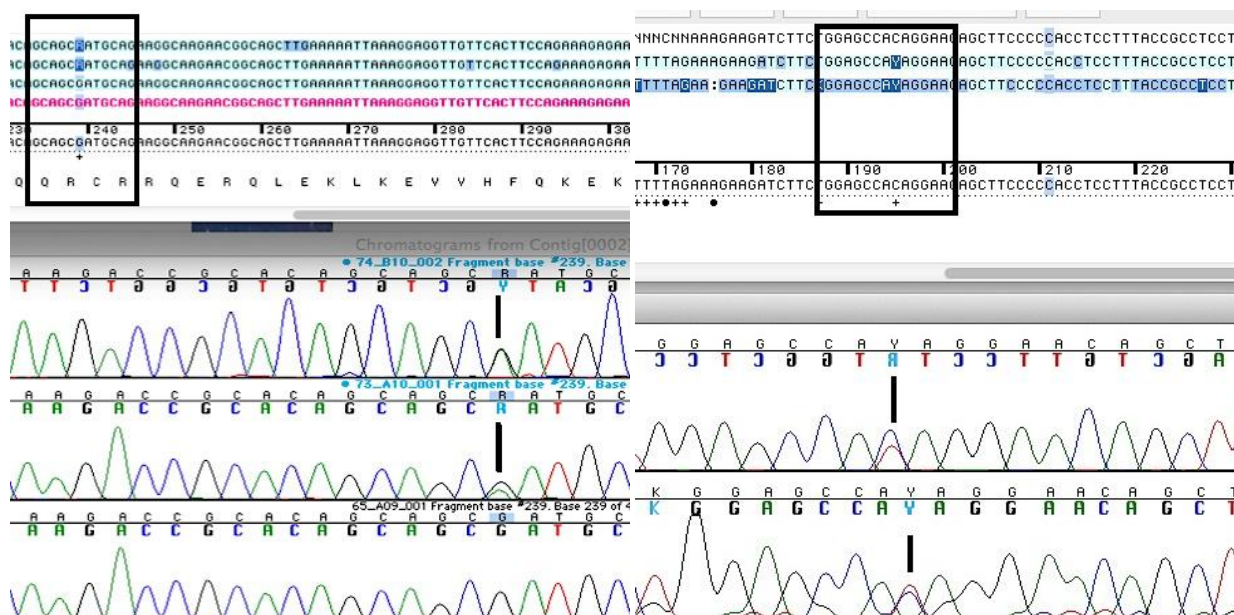
FIGURA 12 – HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 11



## 2.2 Gene *DYT6*

Entre os 82 pacientes analisados, três pacientes (um masculino e duas pacientes femininas), um caso esporádico e duas pacientes em uma mesma família (Família 14), apresentaram mutações no gene *DYT6* (Figura 13). Todos iniciaram o quadro pelos MMSS, entre 6 e 22 anos ( $15,33 \pm 6,79$ ). Dois deles evoluíram para quadros de distonia generalizada e um para distonia segmentar (Tabela 11).



FIGURA 13 – MUTAÇÕES NO GENE *DYT6* (*THAP-1*)

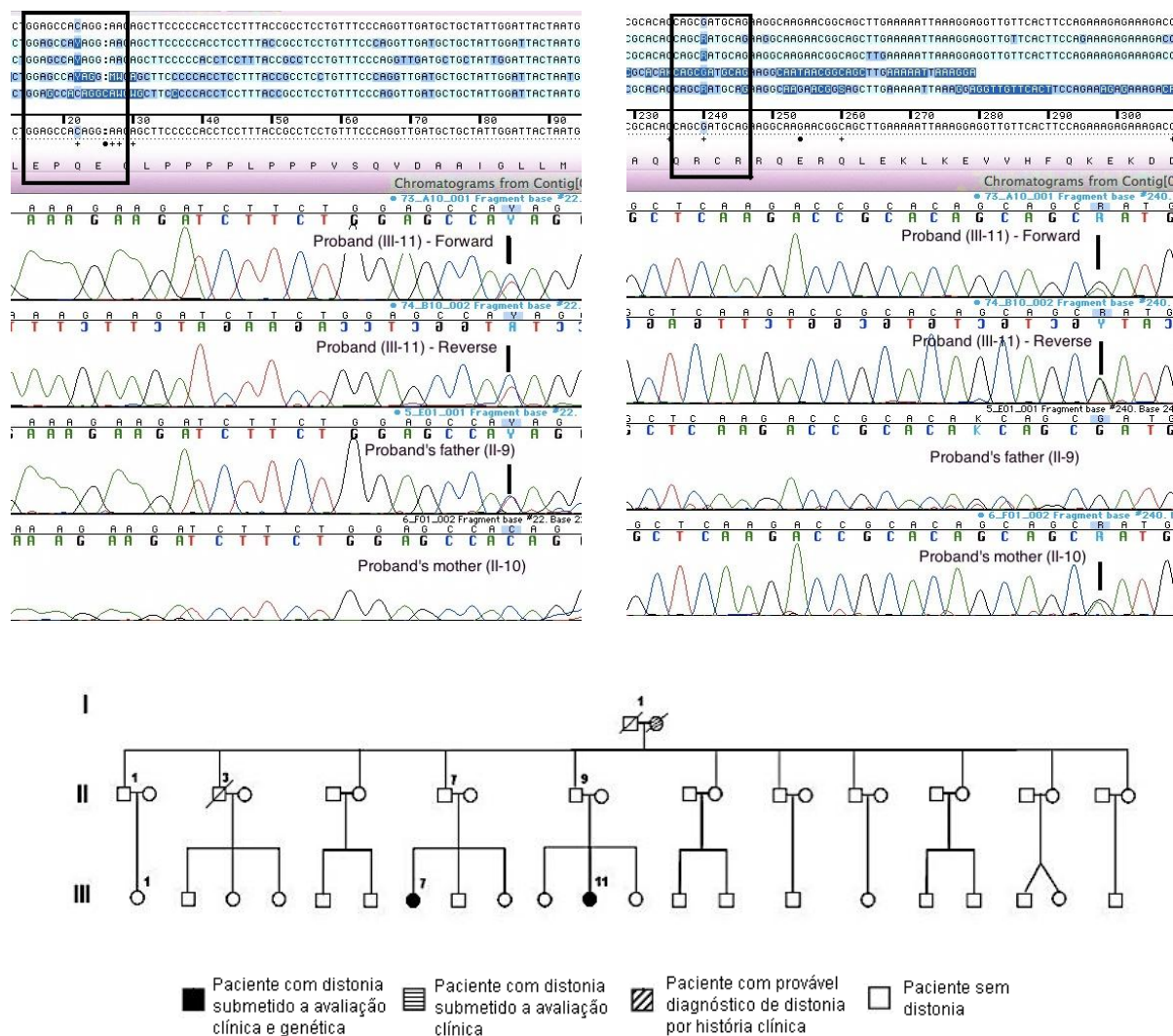
À esquerda – Mutação *missense* c.506G>A (p.Arg169Gln) em heterozigose. O primeiro criptograma é de um paciente afetado em *reverse*, o segundo é do mesmo paciente em *forward*, e o terceiro é de um paciente normal.

À direita – Mutação *nonsense* c.289A>G (p.Gln97X) em heterozigose. O primeiro criptograma é de um paciente afetado em *reverse*, o segundo é do mesmo paciente em *forward*.

Os pontos de mutação encontram-se marcados com um bastão vertical.

Nesses pacientes com alteração no gene *DYT6*, foi localizada uma mutação inédita c.289A>G (p.Gln97X), no éxon 3 em heterozigose (Figura 13). Em uma paciente da família 14, houve, também em heterozigose (heterozigose composta), a presença de uma mutação descrita anteriormente c.506G>A (p.Arg169Gln) no éxon 32 (Figura 13, Tabela 12) (Holden et al., 2010). Os pais dessa paciente foram convidados para um exame clínico e coleta de amostra de sangue periférico para análise de mutações no gene *DYT6*. Ambos eram assintomáticos. O pai, família 14, tinha a inédita mutação c.289A>G (p.Gln97X) em heterozigose simples. A mãe, sem história familiar de distonia, tinha a mutação c.506G>A (p.Arg169Gln) também em heterozigose simples (Figura 14).

FIGURA 14 – RELAÇÃO DAS MUTAÇÕES NO GENE *DYT6* (*THAP-1*) EM ALGUNS MEMBROS DA FAMÍLIA 14



**Acima à esquerda** – Sequenciamento do gene *DYT6* demonstrando a mutação c.289A>G (p.Gln97X) no probando (III-11) e no pai do probando (II-9)

**Acima à direita** - Sequenciamento do gene *DYT6* demonstrando a mutação c.506G>A (p.Arg169Gln) no probando (III-11) e na mãe do probando (II-10)

O probando tinha ambas mutações em heterozigose composta. O pai e a mãe do probando tinham mutações diferentes em heterozigose simples.

**Abaixo** – Heredograma da família 14, com a demonstração das duas pacientes afetadas.

TABELA 11 – CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES COM PRESENÇA DE MUTAÇÕES NO GENE *THAP1*

Família/ Paciente	Gênero	Mutações	Tipo de distonia	Idade de início (anos)	Tempo de evolução (anos)	Local de início	Locais acometidos no momento da avaliação	Alterações de fala	Familiares afetados
III-7, Família 14	Feminino	c.289A>G (p.Gln97X), no éxon 3	Segmentar	18	7	MSD	Torcicolo e distonia oromandibular	Nenhuma	Familiar I-2 (avó), com movimentos faciais discretos, disfonia e disartria iniciados tardiamente
III-11, Família 14	Feminino	c.289A>G (p.Gln97X), c.506G>A (p.Arg169Gln) no éxon 3	Generalizada	6	10	MSE	Torcicolo, oromandibular, MMSS, axial e MMII	Disartria e disfonia	
Isolado	Masculino	c.289A>G (p.Gln97X), no éxon 3	Generalizada	22	14	MSD	Torcicolo, axial, oromandibular e nos quatro membros com predomínio direito	Disartria	Sem história familiar

MMSS – membros superiores, MMII – Membros inferiores

## DISCUSSÃO

Apesar de aspectos culturais e econômicos que dificultaram alguns pontos deste estudo, foi possível atingir uma amostra com dados representativos para responder os questionamentos propostos sobre as características clínicas e genéticas dos pacientes com distonia cervical. O maior fator facilitador para isso foi o fato de o ambulatório de Toxina Botulínica do HC-UFPR ser referência estadual, e o único ambulatório público na região metropolitana de Curitiba, para tratamento de distonia cervical.

O total de pacientes com história familiar de distúrbios do movimento (29,54%, 26,14% com história familiar de distonia) esteve aquém dos 44% encontrados por Jankovic et al. (1991), provavelmente pela dificuldade de acesso de grande parte dos pacientes aos seus parentes, pelo nível social e econômico, e pela presença pouco comum de etnias relacionadas à transmissão genética das distonias no sul do Brasil. A relação de algumas etnias com tipos específicos de distonia é bastante clara. Em alguns casos a presença de determinada distonia está relacionada unicamente a uma etnia, como a distonia DYT3 aos filipinos (Müller, 2009). Apesar do conhecimento da presença de judeus Ashkenazi e alemães menonitas no Paraná, etnias respectivamente relacionadas às distonias objetivos deste estudo, DYT1 e DYT6, não foram encontrados pacientes com essas ascendências na amostra de paciente estudada (Ozelius et al., 1992; Bressman et al., 2009).

A relação feminino:masculino encontrada neste estudo foi de 1,75:1. Essa predominância de distonia cervical em pacientes do gênero feminino (1,5:1) já havia sido demonstrada em trabalho anterior no HC-UFPR que incluiu também aqueles com distonia com causa conhecida (distonias isoladas e combinadas com e sem alterações degenerativas, e adquiridas) (Camargo et al., 2008). Com exceção do estudo de Jahanshahi et al. (1990), com mesmo número de pacientes de ambos os sexos, diversos estudos publicados corroboram esse predomínio de distonia em mulheres em uma relação de 1,4:1 até 5,2:1 (Friedman e Fahn, 1986; Duane et al., 1988; Jankovic et al., 1990, 1991; Chan et al., 1991; Andrade e Ferraz, 1992; Cheng et al., 1996; Asgeirsson

et al., 2006). Foi observado um início mais precoce dos sintomas em homens que em mulheres, em uma média de 5,18 anos. Apesar de não ocorrer significância estatística, esses valores foram representativos e maiores que os 2,2 anos de diferença observados por Soland et al. (1996), que sugeriu esse início precoce em mulheres como uma das características da doença.

O início dos sintomas ocorreu principalmente entre a quarta e sexta décadas de vida (61,2%), como demonstrado por Chan et al. (1991) e Jankovic et al. (1991). Houve uma tendência de início mais precoce dos quadros quando havia uma história familiar, principalmente em distonias focais, porém, esse dado não se confirmou estatisticamente significativo. Dados anteriores aos deste estudo também apontavam para um início dos casos familiares de forma mais precoce que os casos esporádicos (Elia et al., 2006). Independentemente da história familiar, as formas generalizadas tiveram seu início muito mais precocemente, e formas focais e segmentares mais tardiamente.

Este estudo pode demonstrar um número maior de pacientes com distonia generalizada no grupo de pacientes com história familiar e um número expressivamente maior de pacientes com distonia focal no grupo esporádico. Esses dados parecem confirmar uma maior tendência de início precoce, com espalhamento mais rápido da distonia, em pacientes com história familiar (O’Riordan et al., 2004b; Elia et al., 2006). Aceita-se amplamente a regra na evolução das distonias que diz que as distonias iniciadas na infância tendem a ter início nos membros inferiores e se espalhar para o restante do corpo, enquanto as distonias iniciadas em adultos normalmente iniciam-se na metade superior do corpo e tendem a permanecer focais (Weiss et al., 2006). Com o aumento da idade, há um padrão caudal-rostral para a localização do sítio de início na seguinte ordem: distonia de MMII, câibra do escrivão, distonia cervical, disfonia espasmódica, e blefaroespasmo/distonia oromandibular (O’Riordan et al., 2004b). Um estudo comparando a história natural da distonia em casos familiares e esporádicos demonstrou que a evolução dos sintomas para outros sítios pode ocorrer em ambos os grupos com o passar do tempo. Contudo, uma progressão após 5, 10, 15, 20 ou 25 anos foi mais pronunciada em casos de distonia com história familiar (Elia et al., 2006).

Os pacientes deste estudo que evoluíram com distonia generalizada iniciaram seus quadros em igual proporção pelos membros ou pela região crânio cervical. Não houve, diferentemente dos estudos publicados, uma tendência dos quadros generalizados com história familiar de iniciarem seus quadros distônicos pelos MMII (O’Riordan et al., 2004b; Elia et al., 2006). Essa tendência de início em membros com generalização, não observada neste estudo, tem sido amplamente relatada para as distonias com herança monogênica. Segundo os estudos realizados nos últimos anos, a distonia DYT1 tem início focal nos membros, predominantemente em MMII, com posterior generalização ainda na infância (Németh, 2002; O’Riordan et al., 2004b). A distonia DYT3 tem início focal com generalização em dois a cinco anos (Lee et al., 2001). A distonia DYT5, ou distonia dopa-responsiva, é uma distonia generalizada, com início em MMII, tipicamente da infância. Ao contrário, nas distonias DYT7 e DYT13, o início é mais tardio e a tendência é de se manter focal. Entretanto, quando a distonia DYT13 ocorre na infância, há uma maior tendência à generalização (Bentivoglio et al., 1997, 2004; Németh, 2002). Apesar de ter início em MMSS, na infância, e evoluir de forma generalizada, a distonia DYT6 pode apresentar-se nas formas focal ou segmentar, ter seu início crânio cervical, e até mesmo ocorrer sem história familiar (Bressman et al., 2009; Houlden et al., 2010).

A apresentação mais comum de distonia cervical encontrada foi o torcicolo, seguido por laterocolo, como demonstrado em estudos anteriores. A presença de retrocolo foi menos comum do que a relatada em outras séries (Chan et al., 1991; Jankovic et al., 1991; Barbosa et al., 1995; Kutvonen et al., 1997; Camargo et al., 2008). Neste estudo, os pacientes com distonia secundária a medicamentos foram excluídos. O retrocolo, os espasmos cervicais e um envolvimento distônico de outras regiões chegam a ser até quatro vezes mais prevalentes em pacientes com distonia cervical secundária ao uso de neurolépticos. As formas de apresentação em torcicolo e laterocolo, tremor de cabeça, história familiar de distonia e o gesto antagonista são mais comuns em distonia “primária” (Molho et al., 1998). Em trabalho anterior realizado no HC-UFPR, contendo pacientes com múltiplas etiologias, incluindo 8,25% de casos secundários ao uso de neurolépticos, a presença de retrocolo foi mais alta (37,6%) que no presente estudo (12,5%) (Camargo et al., 2008).

Pacientes com dois e três tipos de movimentos distônicos apresentaram índices de gravidade e dor maiores que aqueles mostrados por pacientes com uma única apresentação. Pacientes com distonia generalizada, com maior número de pacientes com mais de uma apresentação, apresentaram graus de gravidade maiores. Portanto, pode-se sugerir que o maior número de movimentos distônicos do pescoço e sítios extra-cervicais de distonia são fatores de agravo para distonia cervical (Camargo et al., 2008). Um dado que chamou a atenção, não relatado em outras séries, foi de que, de forma estatisticamente significativa, quando pacientes com história familiar permanecem com distonia cervical na forma focal, além do início mais precoce, tendem a ter quadros mais brandos do que os pacientes esporádicos.

Esses dados se repetiram quando a dor cervical foi avaliada. O grupo com menores índices de dor foi o de pacientes com distonia focal com história familiar, com diferença estatisticamente significante para os pacientes esporádicos com a mesma forma de distonia. A alta incidência de dor distingue a distonia cervical de outras distonias focais e contribui significativamente para a incapacidade do paciente (Bressman, 2000; Chan et al., 1991). Diferentes graus de dor na região cervical foram relatados por 60,23% dos pacientes, semelhante aos 63% a 75% descritos na literatura (Lowenstein et al., 1988; Kutvonen et al., 1997).

Todos os pacientes estudados tiveram seus exames laboratoriais normais e seus exames de neuroimagem normais ou com alterações inespecíficas, não relacionadas ao quadro distônico. Dessa forma, puderam ser incluídos no estudo como pacientes com distonia “primária” ou com causa indeterminada. A análise dos genes *DYT1* (*TOR1-A*) e *DYT6* (*THAP-1*), para distonias “primárias”, foi o objetivo deste estudo. Foi executada uma pesquisa de mutações nesses genes em 82 pacientes com distonia cervical. Foi identificada a deleção *in-frame* 3-bp (deleção GAG), no gene *DYT1*, em dois pacientes. Essa deleção foi identificada em praticamente todos os casos de distonia DYT1 estudados até o momento, independente de origem étnica (Ozelius et al., 1997a, 1997b; Valente et al., 1998; Németh, 2002). Para o gene *DYT6*, três pacientes apresentaram a mutação *nonsense*, inédita, c.289A>G (p.Gln97X). Um paciente também tinha a mutação c.506G>A (p.Arg169Gln), previamente descrita, associada (Houlden et al., 2010).

Com a exceção da presença de distonia cervical, os dois pacientes desta amostra com a mutação no gene *DYT1* apresentaram quadros típicos de distonia DYT1, iniciando em MMII com progressão para generalização. A maioria dos indivíduos com a deleção GAG – *DYT1* desenvolve uma distonia precoce e de início nos membros com extensão para o tronco, em sentido caudal para rostral, sem evolução para o pescoço ou para a cabeça e generalização e média em cinco anos. Entretanto, em concordância com os achados deste estudo, esse envolvimento crânio-cervical também tem sido relatado por outros autores, e faz parte de um grande portfólio de apresentações fenotípicas, que além das apresentações generalizadas clássicas, pode conter doença focal ou segmentar (Bressman et al., 2000; Misbahuddin e Warner, 2001; O’Riordan et al., 2004b). Além disso, como pode ser observado em um paciente desta amostra, com um quadro generalizado e o pai apresentando apenas distonia cervical focal, a gravidade da distonia pode variar bastante na mesma família, desde formas focais e segmentares até formas generalizadas graves (Jarman e Wood, 2002).

No presente grupo de pacientes, com inclusão de pacientes a partir do diagnóstico de distonia cervical, esse início da distonia em MMII pode ser considerado um fator preditivo para distonia DYT1. Não houve início crânio-cervical ou permanência nas formas cervical focal ou segmentar da distonia em nenhum paciente com mutação para o gene *DYT1* neste estudo. Esses achados comprovam a raridade do início da distonia DYT1 com apresentação focal ou início no pescoço. Todos os pacientes estudados por Valente et al. (1998) com distonia segmentar crânio-cervical (n=37) demonstraram análise negativa para a mutação GAG para o gene *DYT1*. Entre os pacientes com distonias focais, 98% (n=60) tiveram testes negativos para mutação no gene *DYT1*. Mesmo na grande maioria dos casos “atípicos”, a distonia inicia-se em um dos membros, embora se espalhe subsequentemente para a região crânio-cervical em vários pacientes, principalmente nos pacientes com fenótipo de distonia generalizada (Gambarin et al., 2006).

As duas pacientes com distonia DYT1 no presente estudo tiveram os fatores preditivos de acordo com a *Task Force of European Section of Movement Disorders Society and the European Federation of Neurological Societies* para o diagnóstico de distonia DYT1. Elas iniciaram os quadros precocemente pelos MMII, evoluíram com



generalização, e os familiares também tinham distonia. Entretanto a presença de distonia na segunda família era de uma distonia focal cervical, no pai.

A família 3 e a família 5 deste estudo também se comportaram fenotipicamente como famílias com distonia DYT1, com os mesmos fatores preditivos, contudo, a avaliação para alterações no gene *DYT1* demonstrou-se negativa. Nas duas famílias, os pacientes-índice tinham os fatores preditivos fundamentais: início antes dos 30 anos (4 a 11 anos), início em um dos membros, e história familiar positiva para distonia. O único fator que lhes tirava a alcunha de “típicos” foi a presença de distonia cervical (Ozelius et al., 1997b; Albanese et al., 2006). Essas famílias não diferem de outras relatadas em outros estudos para alterações no gene *DYT1* nos quais pacientes afetados com um típico fenótipo DYT1 não tiveram a deleção GAG (Valente et al., 1998). Foi observado também que nas famílias com mutações para o gene *DYT1* ocorreram pacientes assintomáticos que poderiam corresponder a pacientes livres de mutação ou com mutação presente, mas sem manifestações clínicas devido a penetrância fenotípica que encontra-se entre 30-40%, indicando a possibilidade de existência de importantes fatores ambientais e/ou genéticos que modificadores da expressão do fenótipo (Bressman et al., 2000; Edwards et al., 2003).

Discordando da ideia corrente de que os pacientes com distonia DYT1 são sempre “típicos”, Gambarin et al. (2006) relataram uma grande família italiana com uma considerável variabilidade clínica em quatro membros com diagnóstico de distonia DYT1. O probando, com 53 anos, era do gênero masculino e iniciou seu quadro aos 43 anos, com retrocolo evoluindo em dez anos para os MMSS. O exame apresentava, além desses achados, movimentos distônicos leves dos pés e das mãos, sendo diagnosticado como distonia generalizada. Além desse paciente, nessa família os autores puderam sumarizar os mais “atípicos” fenótipos DYT1 descritos: idade tardia de início, limitação da distonia, envolvimento do pescoço e musculatura facial, além de uma grande variabilidade intra-familiar. Esse estudo também demonstrou que uma limitação à distonia focal ou à segmentar pode ser encontrada em pacientes com DYT1. Embora a progressão para distonia generalizada pareça ser o normal, um considerável número de casos (21%) pode permanecer na forma focal após um longo período de seguimento (Bressman et al., 2000). Contudo, a maioria dos pacientes com

esse fenótipo têm, em suas famílias, um parente com distonia generalizada (Gambarin et al., 2006). Portanto, como foi feito neste trabalho, no qual 65,9% dos pacientes tinham distonia cervical nas formas focal ou segmentar, parece ser justificável um estudo clínico considerar a possibilidade da mutação *DYT1* em pacientes com distonia focal.

Apesar dessa possibilidade de investigação, os dados obtidos neste estudo parecem confirmar uma falta de associação entre quadros de distonia focal cervical e a distonia *DYT1*. Entre os 20 casos de distonia focal cervical submetidos à avaliação para mutações no gene *DYT1*, nenhum apresentou alterações. A família 6, a família 9 e a família 15 foram famílias somente com distonia cervical focal. Os seis membros testados para o gene *DYT1*, com idade de início entre 17 e 39 anos, não apresentaram alterações no exame. Corroborando com esses achados, não se tem relato de distonia *DYT1* em famílias com distonia cervical nas formas focal ou segmentar (Bressman et al., 1996; Jarman et al., 1999; Maniak et al., 2003; Naiya et al., 2006). Bressman et al. (1996) estudaram duas famílias com pacientes apresentando distonia cervical de início na adolescência ou idade adulta, média de 30,9 anos (15-62 anos) na primeira e de 35,2 anos (18-49 anos) na segunda, com herança autossômica dominante e penetrância reduzida. Não houve presença de mutações no gene *DYT1*.

Então, apesar da variabilidade do fenótipo, dois achados clínicos permanecem com certa constância: 1) início dos sintomas antes dos 20 anos e, 2) início dos sintomas pelos membros (Edwards et al., 2003). Com base nesse princípio, as recomendações para estudos clínicos para *DYT1* têm sido modificadas. Esses estudos deveriam ser feitos em: a) pacientes que iniciaram o quadro por um membro antes dos 26 anos e; b) seus parentes sintomáticos e assintomáticos. A partir dos dados obtidos neste estudo, sugere-se que testes de rotina em pacientes com distonia focal de início após 26 anos para distonia *DYT1* parecem não ser justificáveis (Gajos et al., 2007).

Apesar da distonia *DYT1* e da distonia *DYT6* estarem classificadas no mesmo grupo de distonias com herança monogênica, entre as distonias isoladas de início precoce, os dados deste trabalho, em concordância com a literatura, puderam demonstrar que o espectro de apresentação clínica da distonia *DYT6* é diferente da distonia *DYT1* (Almasy et al., 1997; Saunders-Pullmann et al., 2007; Bressman et al.,

2009; Djarmati et al., 2009; Fuchs et al., 2009). Foram encontrados três pacientes, com idade de início dos sintomas entre 6 e 22 anos, um pouco mais tardiamente que a média dos pacientes com distonia DYT1 (7 e 12 anos), corroborando dados de estudos anteriores que apontam para o início dos sintomas da distonia DYT6 principalmente na segunda década de vida, com idade de início podendo variar de 2 a 69 anos (Bressman et al., 2009; Fuchs et al., 2009; Houlden et al., 2010; Xiao et al., 2010; Clot et al., 2011; Blanchard et al., 2011, Dobričić et al., 2013). Os achados clínicos em alguns membros das primeiras famílias com DYT6 estudadas se sobrepunham aos sintomas da distonia DYT1. Contudo, observando-se essas famílias com uma visão mais abrangente, as diferenças emergiram. Primeiro, a média de idade,  $18,9 \pm 10,9$  anos (5 a 38 anos), foi maior que na distonia DYT1, e a distribuição da idade de início foi mais ampla; o número de indivíduos com início antes dos 20 anos foi igual ao de indivíduos após os 20 anos. Depois, a distonia DYT1 tende a iniciar-se nos membros e raramente espalha-se para a musculatura do pescoço e da face (Almasy et al., 1997).

Entre os pacientes deste estudo diagnosticados com a distonia DYT6 (um caso isolado e dois da mesma família), todos iniciaram seus quadros precocemente (idade média de  $15,33 \pm 6,79$  anos), pelos MMSS. Desde os primeiros estudos, observou-se que, nos pacientes com distonia DYT6, quando os quadros são iniciados pelos membros, diferentemente da DYT1, há um predomínio dos MMSS (Bressman et al., 2009; Houlden et al., 2010; Blanchard et al., 2011; Lohmann et al., 2013). Em algumas séries, a distonia de membro superior pode ser o primeiro sintoma somente em uma minoria dos casos (Xiao et al., 2010; Cheng et al., 2012a). Nesses casos, um início dos sintomas na região cervical ou na região craniana pode atingir índice maior que 80% (Xiao et al., 2010; Clot et al., 2011).

Todos os pacientes DYT6 desta série apresentaram uma evolução segmentar crânio-cervical, com posterior generalização em dois deles. A distonia generalizada, seguida pela forma segmentar, é a forma de apresentação mais comum na maioria das séries com maior número de pacientes DYT6 (Fuchs et al., 2009; Houlden et al., 2010; Clot et al., 2011; Blanchard et al., 2011, Dobričić et al., 2013). Outros estudos, ao contrário, encontraram um predomínio de pacientes com distonia focal (Bressmann et al., 2009, Xiao et al., 2010; Söhn et al., 2010). Nesses estudos, o início foi

predominantemente cervical. Um dado considerável é que a maioria dos pacientes com distonia focal é de pacientes com distonia cervical iniciada tardiamente (Xiao et al., 2010, Söhn et al., 2010). Esses mesmos estudos confirmam o valor em se realizar pesquisa de mutações para o gene *DYT6*, independentemente da apresentação da distonia cervical, apesar dos dados deste estudo não confirmarem distonia *DYT6* em distonia focal.

Outro tópico relevante foi que nesta série de casos de distonia *DYT6* houve um paciente isolado e pacientes com história familiar. A maioria dos estudos, com grande variação percentual, comprovam que a distonia *DYT6* pode ocorrer independentemente de uma história familiar de distonia (Groen et al., 2010, Houlden et al., 2010; Xiao et al., 2010; Cheng et al., 2012a; Lohmann et al., 2013). A penetrância do gene é um fator que pode determinar essa heterogeneidade nas características fenotípicas. Calcula-se em cerca de 60% a penetrância do gene *DYT6* (Sauders-Pullmann et al., 2007). Devido à expressão gênica variável e a redução na penetrância, fatores genéticos adicionais e fatores ambientais parecem contribuir para a manifestação da doença e para a gravidade dos sinais e sintomas (Söhn et al., 2010).

Na família deste estudo podem-se evocar esses fatores e conceitos, claramente. Provavelmente, a avó paterna tenha sido oligossintomática para distonia *DYT6*. Todos os seus filhos eram assintomáticos, inclusive os pais das duas pacientes afetadas. Entre as duas pacientes, a idade de início foi diferente, e uma permaneceu com distonia segmentar, ao passo que a segunda evoluiu com distonia generalizada. A baixa penetrância pode também ser responsável pelo grande número de casos isolados descritos até o momento, inclusive um paciente com distonia generalizada neste estudo.

Na família com distonia *DYT6*, não houve outros casos sintomáticos, além dos relatados. Entretanto, espontaneamente, os entrevistados mencionaram que a matriarca da família, já falecida, apresentava voz fraca, dificuldade em articular as palavras, portanto, muito difícil de ser entendida. Uma das pacientes sintomáticas dessa família apresentava disartria com disfonia. O paciente esporádico também tinha disartria. Os distúrbios da fala e voz são parte do quadro clínico da distonia *DYT6* (Bressmann et al., 2009). Com um quadro de distonia generalizada de início precoce associado à

disfonia, a distonia DYT6 assemelha-se muito à distonia DYT4. A distonia DYT4 ocorre em uma família australiana com herança autossômica dominante com penetrância completa, com disfonia “em sussurro”, e também distonia desde quadros focais até generalizados (Parker, 1985; Ahmad et al., 1993). Contudo, os pacientes com distonia DYT6 não apresentam ataxia, parkinsonismo ou coreia, além dos distúrbios psiquiátricos (ansiedade até psicose) que ocorrem em alguns pacientes DYT4 (Parker, 1985; Wilcox et al., 2011). Antes da associação da distonia DYT4 à mutação Arg2Gly (c.4C>G) no gene *TUBB4* (Tubulina beta-4), devido à semelhança fenotípica, tentou-se uma associação da família australiana com alterações no gene *DYT6*, que resultou negativa (Djamarti et al., 2009; Hersheson et al., 2013; Lohmann et al., 2013). A distonia DYT17, também classificada entre as distonias isoladas de início precoce, pode se apresentar com grave disfonia e disartria. A principal diferenciação com a distonia DYT6 se faz por um padrão de herança autossômico recessivo (Chouery et al., 2008). Os achados que ajudam na diferenciação entre as distonias DYT6 e DYT16 são as características da distonia laríngea, que é invariavelmente presente mais tardiamente na distonia DYT6, e não são todos os pacientes que irão desenvolvê-la; a gravidade do envolvimento laríngeo na DYT16; e a distonia DYT16 é recessiva, enquanto DYT6 é autossômica dominante, embora a penetrância incompleta possa dar a falsa interpretação de uma herança recessiva ou de um quadro esporádico (Camargos et al., 2008b; Seibler et al., 2008; Camargos et al., 2012).

Neste estudo, os três pacientes apresentavam a mutação *nonsense* c.289A>G (p.Gln97X). É uma mutação inédita, levando à alteração na região rica em prolina da proteína, uma região com poucas mutações descritas (Groen et al., 2010; Houlden et al., 2010; Söhn et al., 2010; Xiao et al., 2010; Cheng et al., 2012). Apesar dessa diferença, os fenótipos dos pacientes deste estudo foram muito semelhantes à maioria dos pacientes descritos com mutações em outras regiões do gene *DYT6*. Esses achados confirmam a impressão de outros autores de que não é possível fazer uma relação entre a localização da mutação com o fenótipo resultante. Como exemplo, tanto a mutação *nonsense* c.17C>T quanto a mutação *frameshift* c.135\_139delinsGGGTTTA, no

domínio THAP, resultam em fenótipos muito semelhantes aos encontrados neste estudo (Bressmann et al., 2009, Fucks et al., 2009, Houlden et al., 2010).

Uma paciente deste estudo apresentava a mutação *missense* c.506G>A (p.Arg169Gln) associada a mutação c.289A>G (p.Gln97X) . Pode-se observar uma diferença fenotípica entre as duas pacientes da mesma família, ambas com a mutação c.289A>G (p.Gln97X), mas apenas uma com a mutação *missense* c.506G>A (p.Arg169Gln). A paciente com as duas mutações, além de começar o quadro mais precocemente e evoluir com generalização, tinha uma distonia cervical leve e disartria com disfonia. Uma única outra paciente foi descrita com a mesma mutação c.506G>A, com um fenótipo similar à paciente deste estudo. Trata-se de uma paciente que iniciou os sintomas aos 3 anos pelos MMII e, ao ser examinada aos 30 anos, tinha uma distonia generalizada espalhada para região cervical, câimbra do escrivão e tremor de MMSS e cabeça (Houlden et al., 2010). A mutação c.506G>A está localizada na região do domínio em mola. Como os fenótipos não correspondem às mutações nas regiões gênicas do domínio THAP, o mesmo ocorre no domínio em mola. Em todas as outras mutações relatadas nessa região, o padrão fenotípico foi um início predominantemente pelo pescoço, com início mais tardio (até 67 anos), permanecendo focal como distonia cervical, ou distonia segmentar (Bonetti et al., 2009; Groen et al., 2010; Söhn et al., 2010; Xiao et al., 2010; Cheng et al., 2012; Song et al., 2011; Dobricic et al., 2013; Lohmann et al., 2013; Newmann et al., 2013)

Neste estudo, a família com presença de mutações para DYT6 representou 7,69% das famílias com casos de início precoce. Apesar do correto interesse pela associação genótipo/fenótipo do gene *DYT6* nas distonias, a presença de mutações nesse gene pode estar relacionada a apenas cerca de 25% de famílias com distonia “primária” de início precoce (Bressmann et al., 2009). Ainda, neste estudo, outras famílias se encaixariam perfeitamente em um fenótipo típico de DYT6, porém, os resultados dos exames genéticos foram negativos. Esses achados também foram salientados por outros pesquisadores (Bressmann et al., 2009). Nas famílias 1, 3 e 10 os pacientes tiveram distonia generalizada iniciadas pelos MMSS ou pescoço entre 9 e 20 anos. Na família 3, os pais eram assintomáticos, similar ao ocorrido na família DYT6 (família 14). Portanto, a falta de qualquer correlação óbvia entre estabilização

da proteína, ligação da proteína ao DNA e fenótipos associados, junto com o aumento do número de mutações *DYT6* detectadas, sugerem que fatores adicionais podem contribuir para a fisiopatologia de *DYT6* (Campagne et al., 2012).

Clinicamente, a família 2 (*DYT1*) e a família 14 (*DYT6*) apresentam muitos pontos em comum. Grande parte dessa semelhança fenotípica se dá pela grande variabilidade gênica e baixa penetrância que ambos os genes (*DYT1* e *DYT6*) têm, proporcionando uma ampla variedade de quadros clínicos na mesma família, desde casos assintomáticos até complexas e graves distonias generalizadas. Recentemente, tem se tentado associar vias patogênicas para se traçar uma fisiopatologia comum para as duas distonias. O gene *DYT1* tem sido apontado como um alvo direto da proteína THAP1. A modulação específica da expressão da Torsina A não é observada em células não-neuronais após uma *knockdown* ou superexpressão de THAP1, nem em fibroblastos ou em linfócitos (Gavarini et al., 2010; Kaiser et al., 2010). Essa falta de efeito poderia ser explicada por características dos tecidos e/ou estágios específicos do desenvolvimento (Kaiser et al., 2010). Então, apesar de poucos estudos, e eles apenas abordarem análises *in vitro*, seria possível se aventar uma correlação fisiopatológica para a distonia *DYT6* na inter-relação entre os genes *DYT1* e *DYT6* (Gavarini et al., 2010; Kaiser et al., 2010; Kamm et al., 2011). Além disso, como os fenótipos associados com as mutações em *DYT1* e *DYT6* são muito similares, seria tentador especular que ambas as distonias (*DYT1* e *DYT6*) compartilhassem o mesmo mecanismo de doença, uma alteração da expressão/função de *DYT1* (Kaiser et al., 2010). Entretanto, a hipótese de que mutações ou outras variações na sequência de *DYT6* poderiam influenciar a penetrância de *DYT1* em pacientes com *DYT1* não tem sido confirmada (Kamm et al., 2011; Palada et al., 2012). Esses estudos não deixam de ser excitantes na medida em que indicam a possível ligação entre duas distonias “primárias” no nível molecular, porém, ainda as suas principais colaborações encontram-se em estimular novos experimentos (Müller, 2010).

Não foi possível uma associação dos genes *DYT1* e *DYT6* com os casos de distonia com parkinsonismo ou mioclonias desta amostra. A família 4 e a família 16 tinham pacientes com parkinsonismo. Esse achado unicamente já poderia afastar a possibilidade dos diagnósticos de *DYT1* e *DYT6*. Além disso, as duas famílias com

quadros focais e segmentares de início crânio-cervical e em MMSS não apontam para um fenótipo DYT1. Entretanto, essa distribuição faz recordar quadro de distonia DYT6. Portanto, este estudo pode sugerir que, mesmo na presença de quadros distônicos compatíveis com distonia DYT6, o achado de sinais parkinsonianos deve servir de alerta para outras hipóteses diagnósticas. Para aventar-se a hipótese de uma das distonias com parkinsonismo, os pacientes estudados não responderam à levodopa, começaram o quadro tardiamente e tinham uma evolução lenta e início tardio, não lembrando os fenótipos das distonias DYT5 e DYT12. Um paciente esporádico iniciou seu quadro aos 17 anos com distonia cervical e evoluiu para generalização e parkinsonismo em apenas dois anos. Esse paciente não tinha os fatores clínicos preditivos para distonia DYT1 e a rápida evolução de um incapacitante parkinsonismo não o classificava como um típico paciente DYT6. Apesar de não poderem ser detectados sinais bulbares ou alterações psiquiátricas, o fato de ter origem em uma família com muitos casos de doença psiquiátrica, e ter iniciado o quadro antes dos 40 anos, poderia colocá-lo como um candidato ao diagnóstico de distonia DYT12 (Pittock et al., 2000; Brashear et al., 2007 e 2012; McKeon et al., 2007).

Quatro pacientes deste estudo apresentavam mioclonias, nenhum com história familiar tanto de distonia quanto de mioclonia. Apesar disso, poderiam ser encarados como pacientes com fenótipo de distonia DYT6. O início foi crânio-cervical em três e o outro no membro superior direito. Todos tiveram um quadro de distonia de início na segunda ou terceira décadas de vida, evoluindo para distonia segmentar ou generalizada. A mioclonia pode fazer parte do fenótipo DYT6, quando normalmente são observados abalos nos mesmos membros que apresentam distonia (Clot et al., 2011). Três tiveram resultados negativos para mutações no gene *DYT6*. Em um paciente com distonia segmentar iniciada no pescoço, aos 23 anos, não foi possível avaliação laboratorial genética.

Apesar do fenótipo de uma distonia de início precoce, associada às mioclonias, e em dois pacientes ter havido melhora dos sintomas com a ingestão de álcool, a ausência de uma história familiar compatível (principalmente se de origem paterna) não autoriza a hipótese diagnóstica de MD nos pacientes com mioclonias neste estudo (Grünewald et al., 2008; Kinugawa et al., 2009). Apesar de alguns autores sugerirem



uma testagem mais ampla para o gene *SGCE*, a associação de ausência de história familiar e de sintomas psiquiátricos nesses pacientes não os define como candidatos ao teste genético para MD (Grundmann et al., 2004).

Com esses dados podemos sugerir, em concordância com estudos prévios, que a análise para mutações no gene *DYT1* em pacientes com distonia cervical pode ser realizada nos pacientes com quadros generalizados e com história familiar de distonia. Também em conformidade com estudos anteriores, a análise para o gene *DYT6* pode ser realizada em pacientes com distonia cervical, independentemente da distribuição ou da história familiar. A princípio, mutações nos genes *DYT1* e *DYT6* não estão associadas a outros distúrbios do movimento.

## CONCLUSÕES

1. Ocorreram diferenças entre pacientes com distonia cervical com história familiar e sem história familiar de distonia:
  - a. A distonia focal é mais comum em pacientes sem história familiar e tende a ser mais grave e mais dolorosa nesses pacientes que em pacientes com distonia focal, com história familiar de distonia.
  - b. A distonia generalizada é mais comum em pacientes com história familiar, e tende a ser mais dolorosa e grave nos pacientes esporádicos do que nos casos familiares.
2. Os gene *DYT1* (*TOR1-A*) foi presente em casos generalizados com comprometimento cervical associado. O gene *DYT6* (*THAP-1*) foi presente em casos segmentar e generalizados. Não houve presença dos genes estudados em pacientes com distonia cervical focal.
3. Nos pacientes com distonia DYT1:
  - a. Os dois pacientes com distonia DYT1, nesta amostra, apresentaram a deleção *in-frame* 3-bp (deleção GAG) em heterozigose no éxon 5.
  - b. Os quadros se iniciaram pelos membros inferiores, evoluindo com generalização, em pacientes com história familiar de distonia.
  - c. Não foram observados casos esporádicos, ou casos de distonia focal.
4. Nos pacientes com distonia DYT6
  - a. Todos os três casos foram relacionados a uma nova mutação *nonsense* c.289A>G (p.Gln97X), em heterozigose.
  - b. Uma paciente, com início bastante precoce dos sintomas, tinha associação da mutação *nonsense* c.289A>G (p.Gln97X) herdada do pai e da mutação *missense* c.506G>A (p.Arg169Gln) herdada da mãe.
  - c. Os quadros se iniciaram pelos membros com evolução segmentar crânio-cervical ou posterior generalização.

- d. Foram observados quadros familiares e esporádico.
5. Não ocorreu relação dos pacientes com distonia DYT1 e com distonia DYT6 com parkinsonismo, mioclonias ou outros distúrbios do movimento.

## REFERÊNCIAS

- Ahmad F, Davis MB, Waddy HM, Oley CA, Marsden CD, Harding AE. Evidence for locus heterogeneity in autosomal dominant torsion dystonia. *Genomics*. 1993 Jan;15(1):9-12.
- Albanese A, Barnes MP, Bhatia KP, Fernandez-Alvarez E, Filippini G, Gasser T, Krauss JK, Newton A, Rektor I, Savoiaro M, Valls-Sole J. A systematic review on the diagnosis and treatment of primary (idiopathic) dystonia and dystonia plus syndromes: report of an EFNS/MDS-ES Task Force. *Eur J Neurol*. 2006 May;13(5):433-44.
- Albanese A, Bhatia K, Bressman SB, DeLong MR, Fahn S, Fung VS, Hallett M, Jankovic J, Jinnah HA, Klein C, Lang AE, Mink JW, Teller JK. Phenomenology and classification of dystonia: A consensus update. *Mov Disord*. 2013 Jun 15;28(7):863-73.
- Almasy L, Bressman SB, Raymond D, Kramer PL, Greene PE, Heiman GA, Ford B, Yount J, de Leon D, Chouinard S, Saunders-Pullman R, Brin MF, Kapoor RP, Jones AC, Shen H, Fahn S, Risch NJ, Nygaard TG. Idiopathic torsion dystonia linked to chromosome 8 in two Mennonite families. *Ann Neurol*. 1997 Oct;42(4):670-3.
- Andrade LA, Ferraz HB. Idiopathic dystonia. Clinical profile of 76 Brazilian patients. *Arq Neuropsiquiatr*. 1992 Dec;50(4):426-32.
- Asgeirsson H, Jakobsson F, Hjaltason H, Jonsdottir H, Sveinbjornsdottir S. Prevalence study of primary dystonia in Iceland. *Mov Disord*. 2006 Mar;21(3):293-8.
- Asmus F, Zimprich A, Tezenas Du Montcel S, Kabus C, Deuschl G, Kupsch A, Ziemann U, Castro M, Kuhn AA, Strom TM, Vidailhet M, Bhatia KP, Durr A, Wood NW, Brice A, Gasser T. Myoclonus-dystonia syndrome: epsilon-sarcoglycan mutations and phenotype. *Ann Neurol*. 2002 Oct;52(4):489-92.
- Auburger G, Ratzlaff T, Lunkes A, Nelles HW, Leube B, Binkofski F, Kugel H, Heindel W, Seitz R, Benecke R, Witte OW, Voit T. A gene for autosomal dominant paroxysmal choreoathetosis/spasticity (CSE) maps to the vicinity of a potassium channel gene cluster on chromosome 1p, probably within 2 cM between D1S443 and D1S197. *Genomics*. 1996 Jan 1;31(1):90-4.
- Augood SJ, Martin DM, Ozelius LJ, Breakefield XO, Penney JB Jr, Standaert DG. Distribution of the mRNAs encoding torsinA and torsinB in the normal adult human brain. *Ann Neurol*. 1999 Nov;46(5):761-9.
- Barbosa ER, Silva HC, SB M, Haddad MS, Carrilho PE. Tratamento das distonias cervicais com toxina botulínica: Análise de 19 casos. *Arq Bras Neurocirurg*. 1995;14(3):135-138
- Bennett LB, Roach ES, Bowcock AM. A locus for paroxysmal kinesigenic dyskinesia maps to human chromosome 16. *Neurology*. 2000 Jan 11;54(1):125-30.
- Bentivoglio AR, Del Grosso N, Albanese A, Cassetta E, Tonali P, Frontali M. Non-DYT1 dystonia in a large Italian family. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997 Apr;62(4):357-60.
- Bentivoglio AR, Ialongo T, Contarino MF, Valente EM, Albanese A. Phenotypic characterization of DYT13 primary torsion dystonia. *Mov Disord*. 2004 Feb;19(2):200-6.
- Bessière D, Lacroix C, Campagne S, Ecochard V, Guillet V, Mourey L, Lopez F, Czaplicki J, Demange P, Milon A, Girard JP, Gervais V. Structure-function analysis of the THAP zinc finger of

THAP1, a large C2CH DNA-binding module linked to Rb/E2F pathways. *J Biol Chem.* 2008 Feb 15;283(7):4352-63.

Beukers RJ, Booij J, Weisscher N, Zijlstra F, van Amelsvoort TA, Tijssen MA. Reduced striatal D2 receptor binding in myoclonus-dystonia. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2009 Feb;36(2):269-74.

Bhatia KP. The paroxysmal dyskinesias. *J Neurol.* 1999 Mar;246(3):149-55.

Bhidayasiri R, Jen JC, Baloh RW. Three brothers with a very-late-onset writer's cramp. *Mov Disord.* 2005 Oct;20(10):1375-7.

Blanchard A, Ea V, Roubertie A, Martin M, Coquart C, Claustres M, Bérout C, Collod-Bérout G. DYT6 dystonia: review of the literature and creation of the UMD Locus-Specific Database (LSDB) for mutations in the THAP1 gene. *Hum Mutat.* 2011 Nov;32(11):1213-24. (a)

Blanchard A, Roubertie A, Simonetta-Moreau M, Ea V, Coquart C, Frederic MY, Gallouedec G, Adenis JP, Benatru I, Borg M, Burbaud P, Calvas P, Cif L, Damier P, Destee A, Faivre L, Guyant-Marechal L, Janik P, Janoura S, Kreisler A, Lusakowska A, Odent S, Potulska-Chromik A, Rudzińska M, Thobois S, Vuillaume I, Tranchant C, Tuffery-Giraud S, Coubes P, Sablonnière B, Claustres M, Collod-Bérout G. Singular DYT6 phenotypes in association with new THAP1 frameshift mutations. *Mov Disord.* 2011 Aug 1;26(9):1775-7. (b)

Blau N, Thöny B. Tetrahydrobiopterin in biomedical research. *J Inherit Metab Dis.* 2009 Feb;32(1):1-2.

Bonetti M, Barzaghi C, Brancati F, Ferraris A, Bellacchio E, Giovanetti A, Ialongo T, Zorzi G, Piano C, Petracca M, Albanese A, Nardocci N, Dallapiccola B, Bentivoglio AR, Garavaglia B, Valente EM. Mutation screening of the DYT6/THAP1 gene in Italy. *Mov Disord.* 2009 Dec 15;24(16):2424-7.

Borges V, de Carvalho Aguiar P, Ferraz HB, Ozelius LJ. Novel and de novo mutations of the SGCE gene in Brazilian patients with myoclonus-dystonia. *Mov Disord.* 2007 Jun 15;22(8):1208-9.

Borges V, Ferraz HB, de Andrade LA. Alcohol-sensitive hereditary essential myoclonus with dystonia: a study of 6 Brazilian patients. *Neurol Sci.* 2000 Dec;21(6):373-7.

Brashear A, Cook JF, Hill DF, Amponsah A, Snively BM, Light L, Boggs N, Suerken CK, Stacy M, Ozelius L, Sweadner KJ, McCall WV. Psychiatric disorders in rapid-onset dystonia-parkinsonism. *Neurology.* 2012 Sep 11;79(11):1168-73.

Brashear A, DeLeon D, Bressman SB, Thyagarajan D, Farlow MR, Dobyens WB. Rapid-onset dystonia-parkinsonism in a second family. *Neurology.* 1997 Apr;48(4):1066-9.

Brashear A, Dobyens WB, de Carvalho Aguiar P, Borg M, Frijns CJ, Gollamudi S, Green A, Guimaraes J, Haake BC, Klein C, Linazasoro G, Münchau A, Raymond D, Riley D, Saunders-Pullman R, Tijssen MA, Webb D, Zaremba J, Bressman SB, Ozelius LJ. The phenotypic spectrum of rapid-onset dystonia-parkinsonism (RDP) and mutations in the ATP1A3 gene. *Brain.* 2007 Mar;130(Pt 3):828-35.

Bräutigam C, Steenbergen-Spanjers GC, Hoffmann GF, Dionisi-Vici C, van den Heuvel LP, Smeitink JA, Wevers RA. Biochemical and molecular genetic characteristics of the severe form of tyrosine hydroxylase deficiency. *Clin Chem.* 1999 Dec;45(12):2073-8.

Bräutigam C, Wevers RA, Jansen RJ, Smeitink JA, de Rijk-van Andel JF, Gabreëls FJ, Hoffmann GF. Biochemical hallmarks of tyrosine hydroxylase deficiency. *Clin Chem.* 1998 Sep;44(9):1897-904.

- Bressman SB. Dystonia update. *Clin Neuropharmacol*. 2000 Sep-Oct;23(5):289-51.
- Bressman SB. Genetics of dystonia: an overview. *Parkinsonism Relat Disord*. 2007;13 Suppl 3:S347-55.
- Bressman SB, Fahn S, Burke RE. Paroxysmal non-kinesigenic dystonia. *Adv Neurol*. 1988;50:403-13.
- Bressman SB, de Leon D, Kramer PL, Ozelius LJ, Brin MF, Greene PE, Fahn S, Breakefield XO, Risch NJ. Dystonia in Ashkenazi Jews: clinical characterization of a founder mutation. *Ann Neurol*. 1994 Nov;36(5):771-7. (a)
- Bressman SB, Heiman GA, Nygaard TG, Ozelius LJ, Hunt AL, Brin MF, Gordon MF, Moskowitz CB, de Leon D, Burke RE, et al. A study of idiopathic torsion dystonia in a non-Jewish family: evidence for genetic heterogeneity. *Neurology*. 1994 Feb;44(2):283-7. (b)
- Bressman SB, Raymond D, Fuchs T, Heiman GA, Ozelius LJ, Saunders-Pullman R. Mutations in THAP1 (DYT6) in early-onset dystonia: a genetic screening study. *Lancet Neurol*. 2009 May;8(5):441-6.
- Bressman SB, Sabatti C, Raymond D, de Leon D, Klein C, Kramer PL, Brin MF, Fahn S, Breakefield X, Ozelius LJ, Risch NJ. The DYT1 phenotype and guidelines for diagnostic testing. *Neurology*. 2000 May 9;54(9):1746-52.
- Bressman SB, Saunders-Pullman R. Primary dystonia: Moribund or viable. *Mov Disord*. 2013 Jun 15;28(7):906-13.
- Bressman SB, Warner TT, Almasy L, Uitti RJ, Greene PE, Heiman GA, Raymond D, Ford B, de Leon D, Fahn S, Kramer PL, Risch NJ, Maraganore DM, Nygaard TG, Harding AE. Exclusion of the DYT1 locus in familial torticollis. *Ann Neurol*. 1996 Oct;40(4):681-4.
- Bruno MK, Hallett M, Gwinn-Hardy K, Sorensen B, Considine E, Tucker S, Lynch DR, Mathews KD, Swoboda KJ, Harris J, Soong BW, Ashizawa T, Jankovic J, Renner D, Fu YH, Ptacek LJ. Clinical evaluation of idiopathic paroxysmal kinesigenic dyskinesia: new diagnostic criteria. *Neurology*. 2004 Dec 28;63(12):2280-7.
- Bruno MK, Lee HY, Auburger GW, Friedman A, Nielsen JE, Lang AE, Bertini E, Van Bogaert P, Averyanov Y, Hallett M, Gwinn-Hardy K, Sorenson B, Pandolfo M, Kwiecinski H, Servidei S, Fu YH, Ptáček L. Genotype-phenotype correlation of paroxysmal nonkinesigenic dyskinesia. *Neurology*. 2007 May 22;68(21):1782-9.
- Burdette AJ, Churchill PF, Caldwell GA, Caldwell KA. The early-onset torsion dystonia-associated protein, torsinA, displays molecular chaperone activity in vitro. *Cell Stress Chaperones*. 2010 Sep;15(5):605-17.
- Burke RE, Fahn S, Jankovic J, Marsden CD, Lang AE, Gollomp S, Ilson J. Tardive dystonia: late-onset and persistent dystonia caused by antipsychotic drugs. *Neurology*. 1982 Dec;32(12):1335-46.
- Calderon DP, Fremont R, Kraenzlin F, Khodakhah K. The neural substrates of rapid-onset Dystonia-Parkinsonism. *Nat Neurosci*. 2011 Mar;14(3):357-65.
- Callan AC, Bunning S, Jones OT, High S, Swanton E. Biosynthesis of the dystonia-associated AAA+ ATPase torsinA at the endoplasmic reticulum. *Biochem J*. 2007 Jan 15;401(2):607-12
- Calne, DB. Introduction. In: Tsui JK, Calne D. *Handbook of distonia*. New York: Marcel Dekker, Inc, 1995. p. 1-3

Camargo CH. Distonia Cervical: achados clínicos e terapêuticos em 85 pacientes. Curitiba, 2007.102 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Interna) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Camargo CH, Teive HA, Becker N, Baran MH, Scola RH, Werneck LC. Cervical dystonia: clinical and therapeutic features in 85 patients. *Arq Neuropsiquiatr*. 2008 Mar;66(1):15-21.

Camargos ST, Cardoso F, Momeni P, Gianetti JG, Lees A, Hardy J, Singleton A. Novel GCH1 mutation in a Brazilian family with dopa-responsive dystonia. *Mov Disord*. 2008 Jan 30;23(2):299-302. (a)

Camargos S, Lees AJ, Singleton A, Cardoso F. DYT16: the original cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012 Oct;83(10):1012-4.

Camargos S, Scholz S, Simón-Sánchez J, Paisán-Ruiz C, Lewis P, Hernandez D, Ding J, Gibbs JR, Cookson MR, Bras J, Guerreiro R, Oliveira CR, Lees A, Hardy J, Cardoso F, Singleton AB. DYT16, a novel young-onset dystonia-parkinsonism disorder: identification of a segregating mutation in the stress-response protein PRKRA. *Lancet Neurol*. 2008 Mar;7(3):207-15. (b)

Campagne S, Muller I, Milon A, Gervais V. Towards the classification of DYT6 dystonia mutants in the DNA-binding domain of THAP1. *Nucleic Acids Res*. 2012 Oct;40(19):9927-40.

Cao S, Gelwix CC, Caldwell KA, Caldwell GA. Torsin-mediated protection from cellular stress in the dopaminergic neurons of *Caenorhabditis elegans*. *J Neurosci*. 2005 Apr 13;25(15):3801-12.

Carbon M, Niethammer M, Peng S, Raymond D, Dhawan V, Chaly T, Ma Y, Bressman S, Eidelberg D. Abnormal striatal and thalamic dopamine neurotransmission: Genotype-related features of dystonia. *Neurology*. 2009 Jun 16;72(24):2097-103

Carbon M, Raymond D, Ozelius L, Saunders-Pullman R, Frucht S, Dhawan V, Bressman S, Eidelberg D. Metabolic changes in DYT11 myoclonus-dystonia. *Neurology*. 2013 Jan 22;80(4):385-91.

Cardoso F, Jankovic J. Peripherally induced tremor and parkinsonism. *Arch Neurol*. 1995 Mar;52(3):263-70.

Cassetta E, Del Grosso N, Bentivoglio AR, Valente EM, Frontali M, Albanese A. Italian family with cranial cervical dystonia: clinical and genetic study. *Mov Disord*. 1999 Sep;14(5):820-5.

Cayrol C, Lacroix C, Mathe C, Ecochard V, Ceribelli M, Loreau E, Lazar V, Dessen P, Mantovani R, Aguilar L, Girard JP. The THAP-zinc finger protein THAP1 regulates endothelial cell proliferation through modulation of pRB/E2F cell-cycle target genes. *Blood*. 2007 Jan 15;109(2):584-94.

Chan J, Brin MF, Fahn S. Idiopathic cervical dystonia: clinical characteristics. *Mov Disord*. 1991;6(2):119-26.

Chan SL, Tammariello SP, Estus S, Mattson MP. Prostate apoptosis response-4 mediates trophic factor withdrawal-induced apoptosis of hippocampal neurons: actions prior to mitochondrial dysfunction and caspase activation. *J Neurochem*. 1999 Aug;73(2):502-12.

Charlesworth G, Plagnol V, Holmström KM, Bras J, Sheerin UM, Preza E, Rubio-Agusti I, Ryten M, Schneider SA, Stamelou M, Trabzuni D, Abramov AY, Bhatia KP, Wood NW. Mutations in ANO3 cause dominant craniocervical dystonia: ion channel implicated in pathogenesis. *Am J Hum Genet*. 2012 Dec 7;91(6):1041-50.

- Chen DH, Matsushita M, Rainier S, Meaney B, Tisch L, Feleke A, Wolff J, Lipe H, Fink J, Bird TD, Raskind WH. Presence of alanine-to-valine substitutions in myofibrillogenesis regulator 1 in paroxysmal nonkinesigenic dyskinesia: confirmation in 2 kindreds. *Arch Neurol*. 2005 Apr;62(4):597-600.
- Chen P, Burdette AJ, Porter JC, Ricketts JC, Fox SA, Nery FC, Hewett JW, Berkowitz LA, Breakefield XO, Caldwell KA, Caldwell GA. The early-onset torsion dystonia-associated protein, torsinA, is a homeostatic regulator of endoplasmic reticulum stress response. *Hum Mol Genet*. 2010
- Chen WJ, Lin Y, Xiong ZQ, Wei W, Ni W, Tan GH, Guo SL, He J, Chen YF, Zhang QJ, Li HF, Lin Y, Murong SX, Xu J, Wang N, Wu ZY. Exome sequencing identifies truncating mutations in PRRT2 that cause paroxysmal kinesigenic dyskinesia. *Nat Genet*. 2011 Nov 20;43(12):1252-5.
- Cheng FB, Ozelius LJ, Wan XH, Feng JC, Ma LY, Yang YM, Wang L. THAP1/DYT6 sequence variants in non-DYT1 early-onset primary dystonia in China and their effects on RNA expression. *J Neurol*. 2012 Feb;259(2):342-7. (a)
- Cheng FB, Wan XH, Feng JC, Ma LY, Hou B, Feng F, Wang L, Yang YM. Subcellular distribution of THAP1 and alterations in the microstructure of brain white matter in DYT6 dystonia. *Parkinsonism Relat Disord*. 2012 Sep;18(8):978-82. (b)
- Cheng FB, Wan XH, Feng JC, Wang L, Yang YM, Cui LY. Clinical and genetic evaluation of DYT1 and DYT6 primary dystonia in China. *Eur J Neurol*. 2011 Mar;18(3):497-503.
- Cheng JT, Liu A, Wasmuth J, Liu BP, Truong D. Clinical evidence of genetic anticipation in adult-onset idiopathic dystonia. *Neurology*. 1996 Jul;47(1):215-9.
- Chouery E, Kfoury J, Delague V, Jalkh N, Bejjani P, Serre JL, Mégarbané A. A novel locus for autosomal recessive primary torsion dystonia (DYT17) maps to 20p11.22-q13.12. *Neurogenetics*. 2008 Oct;9(4):287-93.
- Claypool DW, Duane DD, Ilstrup DM, Melton LJ 3rd. Epidemiology and outcome of cervical dystonia (spasmodic torticollis) in Rochester, Minnesota. *Mov Disord*. 1995 Sep;10(5):608-14.
- Clouaire T, Roussigne M, Ecochard V, Mathe C, Amalric F, Girard JP. The THAP domain of THAP1 is a large C2CH module with zinc-dependent sequence-specific DNA-binding activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 May 10;102(19):6907-12.
- Clot F, Grabli D, Burbaud P, Aya M, Derkinderen P, Defebvre L, Damier P, Krystkowiak P, Pollak P, Leguern E, San C, Camuzat A, Roze E, Vidailhet M, Durr A, Brice A. Screening of the THAP1 gene in patients with early-onset dystonia: myoclonic jerks are part of the dystonia 6 phenotype. *Neurogenetics*. 2011 Feb;12(1):87-9.
- Colthurst DR, Campbell DG, Proud CG. Structure and regulation of eukaryotic initiation factor eIF-2. Sequence of the site in the alpha subunit phosphorylated by the haem-controlled repressor and by the double-stranded RNA-activated inhibitor. *Eur J Biochem*. 1987 Jul 15;166(2):357-63.
- Corvol JC, Studler JM, Schonn JS, Girault JA, Hervé D. Galpha(olf) is necessary for coupling D1 and A2a receptors to adenylyl cyclase in the striatum. *J Neurochem*. 2001 Mar;76(5):1585-8.
- Dang MT, Yokoi F, Cheetham CC, Lu J, Vo V, Lovinger DM, Li Y. An anticholinergic reverses motor control and corticostriatal LTD deficits in Dyt1 ΔGAG knock-in mice. *Behav Brain Res*. 2012 Jan 15;226(2):465-72.



Dauer WT, Burke RE, Greene P, Fahn S. Current concepts on the clinical features, aetiology and management of idiopathic cervical dystonia. *Brain*. 1998 Apr;121 ( Pt 4):547-60.

Daube JR, Peters HA. Hereditary essential myoclonus. *Arch Neurol*. 1966 Dec;15(6):587-594.

Davidenkow S. Auf hereditär-abiotrophischer Grundlage akut auftretende, regressierende und episodische Erkrankungen des Nervensystems und Bemerkungen über die familiäre subakute, myoklonische Dystonie. *Z ges Neurol Psychiat* 1926;104:596-622.

de Carvalho Aguiar P, Fuchs T, Borges V, Lamar KM, Silva SM, Ferraz HB, Ozelius L. Screening of Brazilian families with primary dystonia reveals a novel THAP1 mutation and a de novo TOR1A GAG deletion. *Mov Disord*. 2010 Dec 15;25(16):2854-7.

de Carvalho Aguiar P, Sweadner KJ, Penniston JT, Zaremba J, Liu L, Caton M, Linazasoro G, Borg M, Tijssen MA, Bressman SB, Dobyns WB, Brashear A, Ozelius LJ. Mutations in the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> -ATPase alpha3 gene ATP1A3 are associated with rapid-onset dystonia parkinsonism. *Neuron*. 2004 Jul 22;43(2):169-75.

de Carvalho Aguiar PM, Ozelius LJ. Classification and genetics of dystonia. *Lancet Neurol*. 2002 Sep;1(5):316-25.

de Fusco M, Marconi R, Silvestri L, Atorino L, Rampoldi L, Morgante L, Ballabio A, Aridon P, Casari G. Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat Genet*. 2003 Feb;33(2):192-6.

Deng H, Le WD, Jankovic J. Genetic study of an American family with DYT3 dystonia (lubag). *Neurosci Lett*. 2008 Dec 26;448(2):180-3.

Demirkiran M, Jankovic J. Paroxysmal dyskinesias: clinical features and classification. *Ann Neurol*. 1995 Oct;38(4):571-9.

Destarac L. Torticollis spasmodique et spasmes fonctionelles. *Revue Neurologique*. 1901; 9: 591-597.

Deuschl G, Bain P, Brin M. Consensus statement of the Movement Disorder Society on Tremor. Ad Hoc Scientific Committee. *Mov Disord*. 1998;13 Suppl 3:2-23.

Dhaenens CM, Krystkowiak P, Douay X, Charpentier P, Bele S, Destée A, Sablonnière B. Clinical and genetic evaluation in a French population presenting with primary focal dystonia. *Mov Disord*. 2005 Jul;20(7):822-5.

Djarmati A, Schneider SA, Lohmann K, Winkler S, Pawlack H, Hagenah J, Brüggemann N, Zittel S, Fuchs T, Raković A, Schmidt A, Jabusch HC, Wilcox R, Kostić VS, Siebner H, Altenmüller E, Münchau A, Ozelius LJ, Klein C. Mutations in THAP1 (DYT6) and generalised dystonia with prominent spasmodic dysphonia: a genetic screening study. *Lancet Neurol*. 2009 May;8(5):447-52.

Djarmati A, Svetel M, Momcilovic D, Kostic V, Klein C. Significance of recurrent mutations in the myofibrillogenesis regulator 1 gene. *Arch Neurol*. 2005 Oct;62(10):1641.

Dobričić VS, Kresojević ND, Svetel MV, Janković MZ, Petrović IN, Tomić AD, Novaković IV, Kostić VS. Mutation screening of the DYT6/THAP1 gene in Serbian patients with primary dystonia. *J Neurol*. 2013 Apr;260(4):1037-42.

Dobyns WB, Ozelius LJ, Kramer PL, Brashear A, Farlow MR, Perry TR, Walsh LE, Kasarskis EJ, Butler IJ, Breakefield XO. Rapid-onset dystonia-parkinsonism. *Neurology*. 1993 Dec;43(12):2596-602.

Doheny DO, Brin MF, Morrison CE, Smith CJ, Walker RH, Abbasi S, Müller B, Garrels J, Liu L, de Carvalho Aguiar P, Schilling K, Kramer P, de Leon D, Raymond D, Saunders-Pullman R, Klein C, Bressman SB, Schmand B, Tijssen MA, Ozelius LJ, Silverman JM. Phenotypic features of myoclonus-dystonia in three kindreds. *Neurology*. 2002 Oct 22;59(8):1187-96.

Drinnan SL, Hope BT, Snutch TP, Vincent SR. G(olf) in the basal ganglia. *Mol Cell Neurosci*. 1991 Feb;2(1):66-70.

Duane DD. Spasmodic torticollis: clinical and biologic features and their implications for focal dystonia. *Adv Neurol*. 1988;50:473-92.

Duan W, Guo Z, Mattson MP. Participation of par-4 in the degeneration of striatal neurons induced by metabolic compromise with 3-nitropropionic acid. *Exp Neurol*. 2000 Sep;165(1):1-11.

Duan W, Zhang Z, Gash DM, Mattson MP. Participation of prostate apoptosis response-4 in degeneration of dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 1999 Oct;46(4):587-97.

Edwards M, Wood N, Bhatia K. Unusual phenotypes in DYT1 dystonia: a report of five cases and a review of the literature. *Mov Disord*. 2003 Jun;18(6):706-11.

Elia AE, Filippini G, Bentivoglio AR, Fasano A, Ialongo T, Albanese A. Onset and progression of primary torsion dystonia in sporadic and familial cases. *Eur J Neurol*. 2006 Oct;13(10):1083-8.

Ettinger AJ, Feng G, Sanes JR. epsilon-Sarcoglycan, a broadly expressed homologue of the gene mutated in limb-girdle muscular dystrophy 2D. *J Biol Chem*. 1997 Dec 19;272(51):32534-8.

Evidente VG, Nolte D, Niemann S, Advincula J, Mayo MC, Natividad FF, Müller U. Phenotypic and molecular analyses of X-linked dystonia-parkinsonism ("lubag") in women. *Arch Neurol*. 2004 Dec;61(12):1956-9.

Fahn S. The varied clinical expressions of dystonia. *Neurol Clin*. 1984 Aug;2(3):541-54.

Fahn S, Bressman SB, Marsden CD. Classification of dystonia. *Adv Neurol*. 1998;78:1-10.

Fahn S, Moskowitz CB. X-linked recessive dystonia and parkinsonism in Filipino males. *Ann Neurol* 1988;24:179.

Fink JK, Hedera P, Mathay JG, Albin RL. Paroxysmal dystonic choreoathetosis linked to chromosome 2q: clinical analysis and proposed pathophysiology. *Neurology*. 1997 Jul;49(1):177-83.

Fink JK, Rainer S, Wilkowski J, Jones SM, Kume A, Hedera P, Albin R, Mathay J, Girbach L, Varvil T, Otterud B, Leppert M. Paroxysmal dystonic choreoathetosis: tight linkage to chromosome 2q. *Am J Hum Genet*. 1996 Jul;59(1):140-5.

Forsgren L, Holmgren G, Almay BG, Drugge U. Autosomal dominant torsion dystonia in a Swedish family. *Adv Neurol*. 1988;50:83-92.

Fouad GT, Servidei S, Durcan S, Bertini E, Ptáček LJ. A gene for familial paroxysmal dyskinesia (FPD1) maps to chromosome 2q. *Am J Hum Genet*. 1996 Jul;59(1):135-9.

Friedman A, Fahn S. Spontaneous remissions in spasmodic torticollis. *Neurology*. 1986 Mar;36(3):398-400.

- Friedman J, Standaert DG. Dystonia and its disorders. *Neurol Clin.* 2001 Aug;19(3):681-705, vii.
- Frucht SJ. The definition of dystonia: Current concepts and controversies. *Mov Disord.* 2013 Jun 15;28(7):884-8.
- Fuchs T, Gavarini S, Saunders-Pullman R, Raymond D, Ehrlich ME, Bressman SB, Ozelius LJ. Mutations in the THAP1 gene are responsible for DYT6 primary torsion dystonia. *Nat Genet.* 2009 Mar;41(3):286-8.
- Fuchs T, Saunders-Pullman R, Masuho I, Luciano MS, Raymond D, Factor S, Lang AE, Liang TW, Trosch RM, White S, Ainehsazan E, Hervé D, Sharma N, Ehrlich ME, Martemyanov KA, Bressman SB, Ozelius LJ. Mutations in GNAL cause primary torsion dystonia. *Nat Genet.* 2013 Jan;45(1):88-92.
- Furukawa Y, Kish SJ. Dopa-responsive dystonia: recent advances and remaining issues to be addressed. *Mov Disord.* 1999 Sep;14(5):709-15.
- Furukawa Y, Lang AE, Trugman JM, Bird TD, Hunter A, Sadeh M, Tagawa T, St George-Hyslop PH, Guttman M, Morris LW, Hornykiewicz O, Shimadzu M, Kish SJ. Gender-related penetrance and de novo GTP-cyclohydrolase I gene mutations in dopa-responsive dystonia. *Neurology.* 1998 Apr;50(4):1015-20.
- Furukawa Y, Nygaard TG, Güttlich M, Rajput AH, Pifl C, DiStefano L, Chang LJ, Price K, Shimadzu M, Hornykiewicz O, Haycock JW, Kish SJ. Striatal biopterin and tyrosine hydroxylase protein reduction in dopa-responsive dystonia. *Neurology.* 1999 Sep 22;53(5):1032-41.
- Gajos A, Piaskowski S, Sławek J, Ochudło S, Opala G, Łobińska A, Honczarenko K, Budrewicz S, Koszewicz M, Pelszyńska B, Liberski PP, Bogucki A. Phenotype of the DYT1 mutation in the TOR1A gene in a Polish population of patients with dystonia. A preliminary report. *Neurol Neurochir Pol.* 2007 Nov-Dec;41(6):487-94.
- Gambaran M, Valente EM, Liberini P, Barrano G, Bonizzato A, Padovani A, Moretto G, Fiorio M, Dallapiccola B, Smania N, Fiaschi A, Tinazzi M. Atypical phenotypes and clinical variability in a large Italian family with DYT1-primary torsion dystonia. *Mov Disord.* 2006 Oct;21(10):1782-4.
- Gasser T, Oertel WH. Genetics of Parkinson's disease and other movement disorders. In: Pulst SM. *Neurogenetics.* New York: Oxford University Press, 2000. P.351-72
- Gavarini S, Cayrol C, Fuchs T, Lyons N, Ehrlich ME, Girard JP, Ozelius LJ. Direct interaction between causative genes of DYT1 and DYT6 primary dystonia. *Ann Neurol.* 2010 Oct;68(4):549-53.
- Gerace L. TorsinA and torsion dystonia: Unraveling the architecture of the nuclear envelope. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Jun 15;101(24):8839-40.
- Gerfen CR. The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *Trends Neurosci.* 1992 Apr;15(4):133-9.
- Gilman CP, Mattson MP. Do apoptotic mechanisms regulate synaptic plasticity and growth-cone motility? *Neuromolecular Med.* 2002;2(2):197-214.
- Gimenez-Rolden S, Delgado G, Marin M, et al. Hereditary torsion dystonia in gypsies. *Adv Neurol.* 1988; 50: 73–81.
- Gonzalez-Alegre P, Paulson HL. Aberrant cellular behavior of mutant torsinA implicates nuclear envelope dysfunction in DYT1 dystonia. *J Neurosci.* 2004 Mar 17;24(11):2593-601.

- Goodchild RE, Dauer WT. Mislocalization to the nuclear envelope: an effect of the dystonia-causing torsinA mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Jan 20;101(3):847-52.
- Goodchild RE, Dauer WT. The AAA+ protein torsinA interacts with a conserved domain present in LAP1 and a novel ER protein. *J Cell Biol*. 2005 Mar 14;168(6):855-62.
- Gordon KL, Gonzalez-Alegre P. Consequences of the DYT1 mutation on torsinA oligomerization and degradation. *Neuroscience*. 2008 Dec 2;157(3):588-95.
- Goto S, Lee LV, Munoz EL, Tooyama I, Tamiya G, Makino S, Ando S, Dantes MB, Yamada K, Matsumoto S, Shimazu H, Kuratsu J, Hirano A, Kaji R. Functional anatomy of the basal ganglia in X-linked recessive dystonia-parkinsonism. *Ann Neurol*. 2005 Jul;58(1):7-17.
- Graeber MB, Kupke KG, Müller U. Delineation of the dystonia-parkinsonism syndrome locus in Xq13. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Sep 1;89(17):8245-8.
- Granata A, Schiavo G, Warner TT. TorsinA and dystonia: from nuclear envelope to synapse. *J Neurochem*. 2009 Jun;109(6):1596-609.
- Granata A, Watson R, Collinson LM, Schiavo G, Warner TT. The dystonia-associated protein torsinA modulates synaptic vesicle recycling. *J Biol Chem*. 2008 Mar 21;283(12):7568-79.
- Grattan-Smith PJ, Wevers RA, Steenbergen-Spanjers GC, Fung VS, Earl J, Wilcken B. Tyrosine hydroxylase deficiency: clinical manifestations of catecholamine insufficiency in infancy. *Mov Disord*. 2002 Mar;17(2):354-9.
- Graybiel AM, Canales JJ, Capper-Loup C. Levodopa-induced dyskinesias and dopamine-dependent stereotypies: a new hypothesis. *Trends Neurosci*. 2000 Oct;23(10 Suppl):S71-7.
- Grimes DA, Bulman D, George-Hyslop PS, Lang AE. Inherited myoclonus-dystonia: evidence supporting genetic heterogeneity. *Mov Disord*. 2001 Jan;16(1):106-10.
- Grimes DA, Han F, Lang AE, St George-Hyslop P, Racacho L, Bulman DE. A novel locus for inherited myoclonus-dystonia on 18p11. *Neurology*. 2002 Oct 22;59(8):1183-6.
- Groen JL, Ritz K, Contarino MF, van de Warrenburg BP, Aramideh M, Foncke EM, van Hilten JJ, Schuurman PR, Speelman JD, Koelman JH, de Bie RM, Baas F, Tijssen MA. DYT6 dystonia: mutation screening, phenotype, and response to deep brain stimulation. *Mov Disord*. 2010 Oct 30;25(14):2420-7.
- Grötzsch H, Pizzolato GP, Ghika J, Schorderet D, Vingerhoets FJ, Landis T, Burkhard PR. Neuropathology of a case of dopa-responsive dystonia associated with a new genetic locus, DYT14. *Neurology*. 2002 Jun 25;58(12):1839-42.
- Grundmann K, Laubis-Herrmann U, Dressler D, Vollmer-Haase J, Bauer P, Stuhmann M, Schulte T, Schöls L, Topka H, Riess O. Lack of mutations in the epsilon-sarcoglycan gene in patients with different subtypes of primary dystonias. *Mov Disord*. 2004 Nov;19(11):1294-7.
- Grünewald A, Djarmati A, Lohmann-Hedrich K, Farrell K, Zeller JA, Allert N, Papengut F, Petersen B, Fung V, Sue CM, O'Sullivan D, Mahant N, Kupsch A, Chuang RS, Wiegers K, Pawlack H, Hagenah J, Ozelius LJ, Stephani U, Schuit R, Lang AE, Volkmann J, Münchau A, Klein C. Myoclonus-dystonia: significance of large SGCE deletions. *Hum Mutat*. 2008 Feb;29(2):331-2.

Guo Q, Fu W, Xie J, Luo H, Sells SF, Geddes JW, Bondada V, Rangnekar VM, Mattson MP. Par-4 is a mediator of neuronal degeneration associated with the pathogenesis of Alzheimer disease. *Nat Med*. 1998 Aug;4(8):957-62.

Han F, Racacho L, Lang AE, Bulman DE, Grimes DA. Refinement of the DYT15 locus in myoclonus dystonia. *Mov Disord*. 2007 Apr 30;22(6):888-92.

Hersheson J, Mencacci NE, Davis M, Macdonald N, Trabzuni D, Ryten M, Pittman A, Paudel R, Kara E, Fawcett K, Plagnol V, Bhatia KP, Medlar AJ, Stanescu HC, Hardy J, Kleta R, Wood NW, Houlden H. Mutations in the autoregulatory domain of  $\beta$ -tubulin 4a cause hereditary dystonia. *Ann Neurol*. 2012 Dec 13.

Hervé D, Le Moine C, Corvol JC, Belluscio L, Ledent C, Fienberg AA, Jaber M, Studler JM, Girault JA. Galpha(olf) levels are regulated by receptor usage and control dopamine and adenosine action in the striatum. *J Neurosci*. 2001 Jun 15;21(12):4390-9.

Herzfeld T, Nolte D, Müller U. Structural and functional analysis of the human TAF1/DYT3 multiple transcript system. *Mamm Genome*. 2007 Nov;18(11):787-95.

Hewett JW, Gonzalez-Agosti C, Slater D, Ziefer P, Li S, Bergeron D, Jacoby DJ, Ozelius LJ, Ramesh V, Breakefield XO. Mutant torsinA, responsible for early-onset torsion dystonia, forms membrane inclusions in cultured neural cells. *Hum Mol Genet*. 2000 May 22;9(9):1403-13.

Hewett JW, Tannous B, Niland BP, Nery FC, Zeng J, Li Y, Breakefield XO. Mutant torsinA interferes with protein processing through the secretory pathway in DYT1 dystonia cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Apr 24;104(17):7271-6.

Holmgren G, Ozelius L, Forsgren L, Almay BG, Holmberg M, Kramer P, Fahn S, Breakefield XO. Adult onset idiopathic torsion dystonia is excluded from the DYT 1 region (9q34) in a Swedish family. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1995 Aug;59(2):178-81.

Houlden H, Schneider SA, Paudel R, Melchers A, Schwingenschuh P, Edwards M, Hardy J, Bhatia KP. THAP1 mutations (DYT6) are an additional cause of early-onset dystonia. *Neurology*. 2010 Mar 9;74(10):846-50.

Hubsch C, Vidailhet M, Rivaud-Péchoux S, Pouget P, Brochard V, Degos B, Péllisson D, Golmard JL, Gaymard B, Roze E. Impaired saccadic adaptation in DYT11 dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011 Oct;82(10):1103-6.

Hwu WL, Wang PJ, Hsiao KJ, Wang TR, Chiou YW, Lee YM. Dopa-responsive dystonia induced by a recessive GTP cyclohydrolase I mutation. *Hum Genet*. 1999 Sep;105(3):226-30.

Ichinose H, Ohye T, Matsuda Y, Hori T, Blau N, Burlina A, Rouse B, Matalon R, Fujita K, Nagatsu T. Characterization of mouse and human GTP cyclohydrolase I genes. Mutations in patients with GTP cyclohydrolase I deficiency. *J Biol Chem*. 1995 Apr 28;270(17):10062-71.

Ichinose H, Ohye T, Takahashi E, Seki N, Hori T, Segawa M, Nomura Y, Endo K, Tanaka H, Tsuji S, et al. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation caused by mutations in the GTP cyclohydrolase I gene. *Nat Genet*. 1994 Nov;8(3):236-42.

Imamura M, Araishi K, Noguchi S, Ozawa E. A sarcoglycan-dystroglycan complex anchors Dp116 and utrophin in the peripheral nervous system. *Hum Mol Genet*. 2000 Dec 12;9(20):3091-100.

Jahanshahi M, Marion MH, Marsden CD. Natural history of adult-onset idiopathic torticollis. *Arch Neurol*. 1990 May;47(5):548-52.

Jankovic J, Fahn S. Dystonic disorders. In: Jankovic J, Tolosa E. Parkinson's disease and movement disorders. 3<sup>a</sup> edição. Baltimore: Williams and Wilkins; 1998, p. 513-51.

Jankovic J, Leder S, Warner D, Schwartz K. Cervical dystonia: clinical findings and associated movement disorders. *Neurology*. 1991 Jul;41(7):1088-91.

Jankovic J, Schwartz K, Donovan DT. Botulinum toxin treatment of cranial-cervical dystonia, spasmodic dysphonia, other focal dystonias and hemifacial spasm. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1990 Aug;53(8):633-9.

Jarman PR, del Grosso N, Valente EM, Leube B, Cassetta E, Bentivoglio AR, Waddy HM, Uitti RJ, Maraganore DM, Albanese A, Frontali M, Auburger G, Bressman SB, Wood NW, Nygaard TG. Primary torsion dystonia: the search for genes is not over. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999 Sep;67(3):395-7.

Jarman PR, Wood WW. Genetics of movement disorders and ataxia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73(SupplII):ii22-6.

Jech R, Bareš M, Křepelová A, Uργοšík D, Havránková P, Růžička E. DYT 6--a novel THAP1 mutation with excellent effect on pallidal DBS. *Mov Disord*. 2011 Apr;26(5):924-5.

Johnstone RW, See RH, Sells SF, Wang J, Muthukkumar S, Englert C, Haber DA, Licht JD, Sugrue SP, Roberts T, Rangnekar VM, Shi Y. A novel repressor, par-4, modulates transcription and growth suppression functions of the Wilms' tumor suppressor WT1. *Mol Cell Biol*. 1996 Dec;16(12):6945-56.

Jones DT, Reed RR. Golf: an olfactory neuron specific-G protein involved in odorant signal transduction. *Science*. 1989 May 19;244(4906):790-5.

Juhaszova M, Blaustein MP. Na<sup>+</sup> pump low and high ouabain affinity alpha subunit isoforms are differently distributed in cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Mar 4;94(5):1800-5.

Kaiser FJ, Osmanovic A, Rakovic A, Erogullari A, Uflacker N, Braunholz D, Lohnau T, Orolicki S, Albrecht M, Gillissen-Kaesbach G, Klein C, Lohmann K. The dystonia gene DYT1 is repressed by the transcription factor THAP1 (DYT6). *Ann Neurol*. 2010 Oct;68(4):554-9.

Kamal N, Bhat DP, Carrick E. Dopa-responsive dystonia (Segawa syndrome). *Indian Pediatr*. 2006 Jul;43(7):635-8.

Kamm C, Boston H, Hewett J, Wilbur J, Corey DP, Hanson PI, Ramesh V, Breakefield XO. The early onset dystonia protein torsinA interacts with kinesin light chain 1. *J Biol Chem*. 2004 May 7;279(19):19882-92.

Kamm C, Leung J, Joseph S, Dobyns WB, Brashear A, Breakefield XO, Ozelius LJ. Refined linkage to the RDP/DYT12 locus on 19q13.2 and evaluation of GRIK5 as a candidate gene. *Mov Disord*. 2004 Jul;19(7):845-7.

Kamm C, Uflacker N, Asmus F, Schrader C, Wolters A, Wittstock M, Pahnke J, Gasser T, Volkmann J, Münchau A, Hagenah J, Benecke R, Klein C, Lohmann K. No evidence for THAP1/DYT6 variants as disease modifiers in DYT1 dystonia. *Mov Disord*. 2011 Sep;26(11):2136-7.

Khan NL, Wood NW, Bhatia KP. Autosomal recessive, DYT2-like primary torsion dystonia: a new family. *Neurology*. 2003 Dec 23;61(12):1801-3.

Kinugawa K, Vidailhet M, Clot F, Apartis E, Grabli D, Roze E. Myoclonus-dystonia: an update. *Mov Disord*. 2009 Mar 15;24(4):479-89.

Klein C [Homepage na Internet]. Milwaukee, WI: The Movement Disorder Society - Web Site Edition: February/March 2009 [acesso em 20 jun. 2009]. The twists and turns of dystonia genes and loci: an update [aproximadamente 2 telas]. Disponível em: [http://www.movementdisorders.org/monthly\\_edition/2009/02/twists\\_and\\_turns.php](http://www.movementdisorders.org/monthly_edition/2009/02/twists_and_turns.php).

Klein C, Ozelius LJ. Dystonia: clinical features, genetics, and treatment. *Curr Opin Neurol*. 2002 Aug;15(4):491-7.

Klein C, Ozelius LJ, Hagenah J, Breakefield XO, Risch NJ, Vieregge P. Search for a founder mutation in idiopathic focal dystonia from Northern Germany. *Am J Hum Genet*. 1998 Dec;63(6):1777-82.

Konakova M, Huynh DP, Yong W, Pulst SM. Cellular distribution of torsin A and torsin B in normal human brain. *Arch Neurol*. 2001 Jun;58(6):921-7.

Koukouni V, Valente EM, Cordivari C, Bhatia KP, Quinn NP. Unusual familial presentation of epsilon-sarcoglycan gene mutation with falls and writer's cramp. *Mov Disord*. 2008 Oct 15;23(13):1913-5.

Kramer PL, Mineta M, Klein C, Schilling K, de Leon D, Farlow MR, Breakefield XO, Bressman SB, Dobyns WB, Ozelius LJ, Brashear A. Rapid-onset dystonia-parkinsonism: linkage to chromosome 19q13. *Ann Neurol*. 1999 Aug;46(2):176-82.

Kupke KG, Lee LV, Müller U. Assignment of the X-linked torsion dystonia gene to Xq21 by linkage analysis. *Neurology*. 1990 Sep;40(9):1438-42.

Kutvonen O, Dastidar P, Nurmikko T. Pain in spasmodic torticollis. *Pain*. 1997 Feb;69(3):279-86.

Kyllerman M, Forsgren L, Sanner G, Holmgren G, Wahlström J, Drugge U. Alcohol-responsive myoclonic dystonia in a large family: dominant inheritance and phenotypic variation. *Mov Disord*. 1990;5(4):270-9.

Lance JW. Familial paroxysmal dystonic choreoathetosis and its differentiation from related syndromes. *Ann Neurol*. 1977 Oct;2(4):285-93.

Lee HY, Huang Y, Bruneau N, Roll P, Roberson ED, Hermann M, Quinn E, Maas J, Edwards R, Ashizawa T, Baykan B, Bhatia K, Bressman S, Bruno MK, Brunt ER, Caraballo R, Echenne B, Fejerman N, Frucht S, Gurnett CA, Hirsch E, Houlden H, Jankovic J, Lee WL, Lynch DR, Mohammed S, Müller U, Nespeca MP, Renner D, Rochette J, Rudolf G, Saiki S, Soong BW, Swoboda KJ, Tucker S, Wood N, Hanna M, Bowcock AM, Szepietowski P, Fu YH, Ptáček LJ. Mutations in the gene PRRT2 cause paroxysmal kinesigenic dyskinesia with infantile convulsions. *Cell Rep*. 2012 Jan 26;1(1):2-12.

Lee HY, Xu Y, Huang Y, Ahn AH, Auburger GW, Pandolfo M, Kwiecinski H, Grimes DA, Lang AE, Nielsen JE, Averyanov Y, Servidei S, Friedman A, Van Bogaert P, Abramowicz MJ, Bruno MK, Sorensen BF, Tang L, Fu YH, Ptáček LJ. The gene for paroxysmal non-kinesigenic dyskinesia encodes an enzyme in a stress response pathway. *Hum Mol Genet*. 2004 Dec 15;13(24):3161-70.

Lee LV, Maranon E, Demaisip C, Peralta O, Borres-Icasiano R, Arancillo J, Rivera C, Munoz E, Tan K, Reyes MT. The natural history of sex-linked recessive dystonia parkinsonism of Panay, Philippines (XDP). *Parkinsonism Relat Disord*. 2002 Oct;9(1):29-38.

Lee LV, Munoz EL, Tan KT, Reyes MT. Sex linked recessive dystonia parkinsonism of Panay, Philippines (XDP). *Mol Pathol*. 2001 Dec;54(6):362-8.

Lee LV, Pascasio FM, Fuentes FD, Viterbo GH. Torsion dystonia in Panay, Philippines. *Adv Neurol*. 1976;14:137-51.

Leube B, Hendgen T, Kessler KR, Knapp M, Benecke R, Auburger G. Evidence for DYT7 being a common cause of cervical dystonia (torticollis) in Central Europe. *Am J Med Genet*. 1997 Sep 19;74(5):529-32. (a)

Leube B, Kessler KR, Goecke T, Auburger G, Benecke R. Frequency of familial inheritance among 488 index patients with idiopathic focal dystonia and clinical variability in a large family. *Mov Disord*. 1997 Nov;12(6):1000-6. (b)

Leube B, Rudnicki D, Ratzlaff T, Kessler KR, Benecke R, Auburger G. Idiopathic torsion dystonia: assignment of a gene to chromosome 18p in a German family with adult onset, autosomal dominant inheritance and purely focal distribution. *Hum Mol Genet*. 1996 Oct;5(10):1673-7.

Leung JC, Klein C, Friedman J, Vieregge P, Jacobs H, Doheny D, Kamm C, DeLeon D, Pramstaller PP, Penney JB, Eisengart M, Jankovic J, Gasser T, Bressman SB, Corey DP, Kramer P, Brin MF, Ozelius LJ, Breakefield XO. Novel mutation in the TOR1A (DYT1) gene in atypical early onset dystonia and polymorphisms in dystonia and early onset parkinsonism. *Neurogenetics*. 2001 Jul;3(3):133-43.

Lisker R, Mutchinick O, Reyes ME, Santos MA, Flores T, García Ramos G. Herencia autosómica recesiva en una familia mexicana con distonia de torsion. *Rev. invest. Clín*. 1984;36(3):265-8.

Liu Z, Zolkiewska A, Zolkiewski M. Characterization of human torsinA and its dystonia-associated mutant form. *Biochem J*. 2003 Aug 15;374(Pt 1):117-22.

Lohmann K, Klein C. Genetics of dystonia: What's known? What's new? What's next? *Mov Disord*. 2013 Jun 15;28(7):899-905.

Lohmann K, Uflacker N, Erogullari A, Lohnau T, Winkler S, Dendorfer A, Schneider SA, Osmanovic A, Svetel M, Ferbert A, Zittel S, Kühn AA, Schmidt A, Altenmüller E, Münchau A, Kamm C, Wittstock M, Kupsch A, Moro E, Volkmann J, Kostic V, Kaiser FJ, Klein C, Brüggemann N. Identification and functional analysis of novel THAP1 mutations. *Eur J Hum Genet*. 2012 Feb;20(2):171-5. (a)

Lohmann K, Wilcox RA, Winkler S, Ramirez A, Rakovic A, Park JS, Arns B, Lohnau T, Groen J, Kasten M, Brüggemann N, Hagenah J, Schmidt A, Kaiser FJ, Kumar KR, Zschiedrich K, Alvarez-Fischer D, Altenmüller E, Ferbert A, Lang AE, Münchau A, Kostic V, Simonyan K, Agzarian M, Ozelius LJ, Langeveld AP, Sue CM, Tijssen MA, Klein C. Whispering dysphonia (DYT4 dystonia) is caused by a mutation in the TUBB4 gene. *Ann Neurol*. 2012 Dec 13. (b)

Lowenstein DH, Aminoff MJ. The clinical course of spasmodic torticollis. *Neurology*. 1988 Apr;38(4):530-2.

Maita N, Hatakeyama K, Okada K, Hakoshima T. Structural basis of bipterin-induced inhibition of GTP cyclohydrolase I by GFRP, its feedback regulatory protein. *J Biol Chem*. 2004 Dec 3;279(49):51534-40.

Maita N, Okada K, Hatakeyama K, Hakoshima T. Crystal structure of the stimulatory complex of GTP cyclohydrolase I and its feedback regulatory protein GFRP. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Feb 5;99(3):1212-7.



Makino S, Kaji R, Ando S, Tomizawa M, Yasuno K, Goto S, Matsumoto S, Tabuena MD, Maranon E, Dantes M, Lee LV, Ogasawara K, Tooyama I, Akatsu H, Nishimura M, Tamiya G. Reduced neuron-specific expression of the TAF1 gene is associated with X-linked dystonia-parkinsonism. *Am J Hum Genet.* 2007 Mar;80(3):393-406.

Malpass K. Movement disorders: Advancing our understanding of dystonias--genetic studies reveal TUBB4 mutation in patients with dystonia type 4. *Nat Rev Neurol.* 2013 Feb;9(2):59.

Maniak S, Sieberer M, Hagenah J, Klein C, Vieregge P. Focal and segmental primary dystonia in north-western Germany--a clinico-genetic study. *Acta Neurol Scand.* 2003 Mar;107(3):228-32.

Marelli C, Canafoglia L, Zibordi F, Ciano C, Visani E, Zorzi G, Garavaglia B, Barzaghi C, Albanese A, Soliveri P, Leone M, Panzica F, Scaioli V, Pincherle A, Nardocci N, Franceschetti S. A neurophysiological study of myoclonus in patients with DYT11 myoclonus-dystonia syndrome. *Mov Disord.* 2008 Oct 30;23(14):2041-8.

Margari L, Perniola T, Illiceto G, Ferrannini E, de Iaco MG, Presicci A, Santostasi R, Ventura P. Familial paroxysmal exercise-induced dyskinesia and benign epilepsy: a clinical and neurophysiological study of an uncommon disorder. *Neurol Sci.* 2000 Jun;21(3):165-72.

Marini C, Guerrini R. The role of the nicotinic acetylcholine receptors in sleep-related epilepsy. *Biochem Pharmacol.* 2007 Oct 15;74(8):1308-14.

Marsden CD. Paroxysmal choreoathetosis. *Adv Neurol.* 1996;70:467-70.

Martin JN, Bair TB, Bode N, Dauer WT, Gonzalez-Alegre P. Transcriptional and proteomic profiling in a cellular model of DYT1 dystonia. *Neuroscience.* 2009 Dec 1;164(2):563-72.

Mattson MP, Duan W, Chan SL, Camandola S. Par-4: an emerging pivotal player in neuronal apoptosis and neurodegenerative disorders. *J Mol Neurosci.* 1999 Aug-Oct;13(1-2):17-30

McGrail KM, Phillips JM, Sweadner KJ. Immunofluorescent localization of three Na,K-ATPase isozymes in the rat central nervous system: both neurons and glia can express more than one Na,K-ATPase. *J Neurosci.* 1991 Feb;11(2):381-91.

McKeon A, Ozelius LJ, Hardiman O, Greenway MJ, Pittock SJ. Heterogeneity of presentation and outcome in the Irish rapid-onset dystonia-parkinsonism kindred. *Mov Disord.* 2007 Jul 15;22(9):1325-7.

Miyamoto R, Ohta E, Kawarai T, Koizumi H, Sako W, Izumi Y, Obata F, Kaji R. Broad spectrum of dystonia associated with a novel thanatosis-associated protein domain-containing apoptosis-associated protein 1 mutation in a Japanese family with dystonia 6, torsion. *Mov Disord.* 2012 Sep 1;27(10):1324-5.

Misbahuddin A, Placzek M, Lennox G, Taanman JW, Warner TT. Myoclonus-dystonia syndrome with severe depression is caused by an exon-skipping mutation in the epsilon-sarcoglycan gene. *Mov Disord.* 2007 Jun 15;22(8):1173-5.

Misbahuddin A, Warner TT. Dystonia: an update on genetics and treatment. *Curr Opin Neurol.* 2001 Aug;14(4):471-5.

Molho ES, Feustel PJ, Factor SA. Clinical comparison of tardive and idiopathic cervical dystonia. *Mov Disord.* 1998 May;13(3):486-9.

- Moretti P, Hedera P, Wald J, Fink J. Autosomal recessive primary generalized dystonia in two siblings from a consanguineous family. *Mov Disord*. 2005 Feb;20(2):245-7
- Mount LA, Reback S. Familial paroxysmal choreoathetosis: preliminary report of a hitherto undescribed clinical syndrome. *Arch Neurol* 1940;44:841-846.
- Müller U. A molecular link between dystonia 1 and dystonia 6? *Ann Neurol*. 2010 Oct;68(4):418-20.
- Müller U. The monogenic primary dystonias. *Brain*. 2009 Aug;132(Pt 8):2005-25.
- Müller B, Hedrich K, Kock N, Dragasevic N, Svetel M, Garrels J, Landt O, Nitschke M, Pramstaller PP, Reik W, Schwinger E, Sperner J, Ozelius L, Kostic V, Klein C. Evidence that paternal expression of the epsilon-sarcoglycan gene accounts for reduced penetrance in myoclonus-dystonia. *Am J Hum Genet*. 2002 Dec;71(6):1303-11.
- Münchau A, Schrag A, Chuang C, MacKinnon CD, Bhatia KP, Quinn NP, Rothwell JC. Arm tremor in cervical dystonia differs from essential tremor and can be classified by onset age and spread of symptoms. *Brain*. 2001 Sep;124(Pt 9):1765-76.
- Münchau A, Valente EM, Davis MB, Stinton V, Wood NW, Quinn NP, Bhatia KP. A Yorkshire family with adult-onset cranio-cervical primary torsion dystonia. *Mov Disord*. 2000 Sep;15(5):954-9. (a)
- Münchau A, Valente EM, Shahidi GA, Eunson LH, Hanna MG, Quinn NP, Schapira AH, Wood NW, Bhatia KP. A new family with paroxysmal exercise induced dystonia and migraine: a clinical and genetic study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2000 May;68(5):609-14. (b)
- Naiya T, Biswas A, Neogi R, Datta S, Misra AK, Das SK, Ray K, Ray J. Clinical characterization and evaluation of DYT1 gene in Indian primary dystonia patients. *Acta Neurol Scand*. 2006 Sep;114(3):210-5.
- Napolitano F, Pasqualetti M, Usiello A, Santini E, Pacini G, Sciamanna G, Errico F, Tassone A, Di Dato V, Martella G, Cuomo D, Fisone G, Bernardi G, Mandolesi G, Mercuri NB, Standaert DG, Pisani A. Dopamine D2 receptor dysfunction is rescued by adenosine A2A receptor antagonism in a model of DYT1 dystonia. *Neurobiol Dis*. 2010 Jun;38(3):434-45
- Nardocci N, Zorzi G, Barzaghi C, Zibordi F, Ciano C, Ghezzi D, Garavaglia B. Myoclonus-dystonia syndrome: clinical presentation, disease course, and genetic features in 11 families. *Mov Disord*. 2008 Jan;23(1):28-34.
- Németh AH. The genetics of primary dystonias and related disorders. *Brain*. 2002 Apr;125(Pt 4):695-721.
- Németh AH, Nolte D, Dunne E, Niemann S, Kostrzewa M, Peters U, Fraser E, Bochukova E, Butler R, Brown J, Cox RD, Levy ER, Ropers HH, Monaco AP, Müller U. Refined linkage disequilibrium and physical mapping of the gene locus for X-linked dystonia-parkinsonism (DYT3). *Genomics*. 1999 Sep 15;60(3):320-9.
- Nery FC, Zeng J, Niland BP, Hewett J, Farley J, Irimia D, Li Y, Wiche G, Sonnenberg A, Breakefield XO. TorsinA binds the KASH domain of nesprins and participates in linkage between nuclear envelope and cytoskeleton. *J Cell Sci*. 2008 Oct 15;121(Pt 20):3476-86
- Newman JR, Lehn AC, Boyle RS, Silburn PA, Mellick GD. Screening for rare sequence variants in the THAP1 gene in a primary dystonia cohort. *Mov Disord*. 2013 May 6

- Nishiyama A, Endo T, Takeda S, Imamura M. Identification and characterization of epsilon-sarcoglycans in the central nervous system. *Brain Res Mol Brain Res*. 2004 Jun 18;125(1-2):1-12.
- Nolte D, Niemann S, Müller U. Specific sequence changes in multiple transcript system DYT3 are associated with X-linked dystonia parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Sep 2;100(18):10347-52.
- Norgren N, Mattson E, Forsgren L, Holmberg M. A high-penetrance form of late-onset torsion dystonia maps to a novel locus (DYT21) on chromosome 2q14.3-q21.3. *Neurogenetics*. 2011 May;12(2):137-43.
- Nutt JG, Nygaard TG. Response to levodopa treatment in dopa-responsive dystonia. *Arch Neurol*. 2001 Jun;58(6):905-10
- Nygaard TG, Marsden CD, Fahn S. Dopa-responsive dystonia: long-term treatment response and prognosis. *Neurology*. 1991 Feb;41(2 ( Pt 1)):174-81.
- Nygaard TG, Raymond D, Chen C, Nishino I, Greene PE, Jennings D, Heiman GA, Klein C, Saunders-Pullman RJ, Kramer P, Ozelius LJ, Bressman SB. Localization of a gene for myoclonus-dystonia to chromosome 7q21-q31. *Ann Neurol*. 1999 Nov;46(5):794-8.
- Nygaard TG, Trugman JM, de Yebenes JG, Fahn S. Dopa-responsive dystonia: the spectrum of clinical manifestations in a large North American family. *Neurology*. 1990 Jan;40(1):66-9.
- Obeso JA, Rothwell JC, Lang AE, Marsden CD. Myoclonic dystonia. *Neurology*. 1983 Jul;33(7):825-30.
- O'Farrell CA, Martin KL, Hutton M, Delatycki MB, Cookson MR, Lockhart PJ. Mutant torsinA interacts with tyrosine hydroxylase in cultured cells. *Neuroscience*. 2009 Dec 15;164(3):1127-37.
- Oppenheim H. Über eine eigenartige Krampfkrankheit des kindlichen und jugendlichen Alters (*Dysbasia lordotica progressiva, Dystonia musculorum deformans*). *Neurol Centralbl* 1911; 30: 1090–1107
- O'Riordan S, Ozelius LJ, de Carvalho Aguiar P, Hutchinson M, King M, Lynch T. Inherited myoclonus-dystonia and epilepsy: further evidence of an association? *Mov Disord*. 2004 Dec;19(12):1456-9. (a)
- O'Riordan S, Raymond D, Lynch T, Saunders-Pullman R, Bressman SB, Daly L, Hutchinson M. Age at onset as a factor in determining the phenotype of primary torsion dystonia. *Neurology*. 2004 Oct 26;63(8):1423-6. (b)
- Oswald A, Silber M, Goldblatt J. Autosomal recessive idiopathic torsion dystonia in a kindred of mixed ancestry. *S Afr Med J*. 1986 Jan 4;69(1):18-20.
- Ozelius LJ, Kramer PL, de Leon D, Risch N, Bressman SB, Schuback DE, Brin MF, Kwiatkowski DJ, Burke RE, Gusella JF, et al. Strong allelic association between the torsion dystonia gene (DYT1) and loci on chromosome 9q34 in Ashkenazi Jews. *Am J Hum Genet*. 1992 Mar;50(3):619-28.
- Ozelius LJ, Kramer PL, Moskowitz CB, Kwiatkowski DJ, Brin MF, Bressman SB, Schuback DE, Falk CT, Risch N, de Leon D, et al. Human gene for torsion dystonia located on chromosome 9q32-q34. *Neuron*. 1989 May;2(5):1427-34.
- Ozelius LJ, Hewett J, Kramer P, Bressman SB, Shalish C, de Leon D, Rutter M, Risch N, Brin MF, Markova ED, Limborska SA, Ivanova-Smolenskaya IA, McCormick MK, Fahn S, Buckler AJ,

- Gusella JF, Breakefield XO. Fine localization of the torsion dystonia gene (DYT1) on human chromosome 9q34: YAC map and linkage disequilibrium. *Genome Res.* 1997 May;7(5):483-94. (a)
- Ozelius LJ, Hewett JW, Page CE, Bressman SB, Kramer PL, Shalish C, de Leon D, Brin MF, Raymond D, Corey DP, Fahn S, Risch NJ, Buckler AJ, Gusella JF, Breakefield XO. The early-onset torsion dystonia gene (DYT1) encodes an ATP-binding protein. *Nat Genet.* 1997 Sep;17(1):40-8. (b)
- Ozelius LJ, Page CE, Klein C, Hewett JW, Mineta M, Leung J, Shalish C, Bressman SB, de Leon D, Brin MF, Fahn S, Corey DP, Breakefield XO. The TOR1A (DYT1) gene family and its role in early onset torsion dystonia. *Genomics.* 1999 Dec 15;62(3):377-84.
- Paisán-Ruiz C, Ruiz-Martinez J, Ruibal M, Mok KY, Indakoetxea B, Gorostidi A, Martí Massó JF. Identification of a novel THAP1 mutation at R29 amino-acid residue in sporadic patients with early-onset dystonia. *Mov Disord.* 2009 Dec 15;24(16):2428-9.
- Palada V, Stiern S, Glöckle N, Gómez-Garre P, Carrillo F, Mir P, Szczaluba K, Tinazzi M, Ajena D, Romani M, Valente EM, Müller U, Bauer P, Riess O, Ott T, Grundmann K. Lack of sequence variations in THAP1 gene and THAP1-binding sites in TOR1A promoter of DYT1 patients. *Mov Disord.* 2012 Jun;27(7):917.
- Parker N. Hereditary whispering dysphonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1985 Mar;48(3):218-24.
- Park SK, Nguyen MD, Fischer A, Luke MP, Affar el B, Dieffenbach PB, Tseng HC, Shi Y, Tsai LH. Par-4 links dopamine signaling and depression. *Cell.* 2005 Jul 29;122(2):275-87.
- Patel RC, Sen GC. PACT, a protein activator of the interferon-induced protein kinase, PKR. *EMBO J.* 1998 Aug 3;17(15):4379-90.
- Peall KJ, Smith DJ, Kurian MA, Wardle M, Waite AJ, Hedderly T, Lin JP, Smith M, Whone A, Pall H, White C, Lux A, Jardine P, Bajaj N, Lynch B, Kirov G, O'Riordan S, Samuel M, Lynch T, King MD, Chinnery PF, Warner TT, Blake DJ, Owen MJ, Morris HR. SGCE mutations cause psychiatric disorders: clinical and genetic characterization. *Brain.* 2013 Jan;136(Pt 1):294-303.
- Peters GA, Hartmann R, Qin J, Sen GC. Modular structure of PACT: distinct domains for binding and activating PKR. *Mol Cell Biol.* 2001 Mar;21(6):1908-20.
- Phillips HA, Scheffer IE, Berkovic SF, Hollway GE, Sutherland GR, Mulley JC. Localization of a gene for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy to chromosome 20q 13.2. *Nat Genet.* 1995 May;10(1):117-8.
- Pittock SJ, Joyce C, O'Keane V, Hogle B, Hardiman MO, Brett F, Green AJ, Barton DE, King MD, Webb DW. Rapid-onset dystonia-parkinsonism: a clinical and genetic analysis of a new kindred. *Neurology.* 2000 Oct 10;55(7):991-5.
- Plant GT, Williams AC, Earl CJ, Marsden CD. Familial paroxysmal dystonia induced by exercise. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1984 Mar;47(3):275-9.
- Pulsinelli WA. Selective neuronal vulnerability: morphological and molecular characteristics. *Prog Brain Res.* 1985;63:29-37.
- Rainier S, Thomas D, Tokarz D, Ming L, Bui M, Plein E, Zhao X, Lemons R, Albin R, Delaney C, Alvarado D, Fink JK. Myofibrillogenesis regulator 1 gene mutations cause paroxysmal dystonic choreoathetosis. *Arch Neurol.* 2004 Jul;61(7):1025-9.

Raymond D, Saunders-Pullman R, de Carvalho Aguiar P, Schule B, Kock N, Friedman J, Harris J, Ford B, Frucht S, Heiman GA, Jennings D, Doheny D, Brin MF, de Leon Brin D, Multhaupt-Buell T, Lang AE, Kurlan R, Klein C, Ozelius L, Bressman S. Phenotypic spectrum and sex effects in eleven myoclonus-dystonia families with epsilon-sarcoglycan mutations. *Mov Disord.* 2008 Mar 15;23(4):588-92.

Regula JU, Thoden U, Meinck HM. Adult-onset dystonia: atypical manifestation of Segawa disease. *Mov Disord.* 2007 Jul 15;22(9):1335-7.

Risch N, de Leon D, Ozelius L, Kramer P, Almasy L, Singer B, Fahn S, Breakefield X, Bressman S. Genetic analysis of idiopathic torsion dystonia in Ashkenazi Jews and their recent descent from a small founder population. *Nat Genet.* 1995 Feb;9(2):152-9.

Ritz K, Gerrits MC, Foncke EM, van Ruissen F, van der Linden C, Vergouwen MD, Bloem BR, Vandenberghe W, Crols R, Speelman JD, Baas F, Tijssen MA. Myoclonus-dystonia: clinical and genetic evaluation of a large cohort. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2009 Jun;80(6):653-8.

Ritz K, van Schaik BD, Jakobs ME, van Kampen AH, Aronica E, Tijssen MA, Baas F. SGCE isoform characterization and expression in human brain: implications for myoclonus-dystonia pathogenesis? *Eur J Hum Genet.* 2011 Apr;19(4):438-44.

Rostasy K, Augood SJ, Hewett JW, Leung JC, Sasaki H, Ozelius LJ, Ramesh V, Standaert DG, Breakefield XO, Hedreen JC. TorsinA protein and neuropathology in early onset generalized dystonia with GAG deletion. *Neurobiol Dis.* 2003 Feb;12(1):11-24.

Roussigne M, Cayrol C, Clouaire T, Amalric F, Girard JP. THAP1 is a nuclear proapoptotic factor that links prostate-apoptosis-response-4 (Par-4) to PML nuclear bodies. *Oncogene.* 2003 Apr 24;22(16):2432-42. (a)

Roussigne M, Kossida S, Lavigne AC, Clouaire T, Ecochard V, Glories A, Amalric F, Girard JP. The THAP domain: a novel protein motif with similarity to the DNA-binding domain of P element transposase. *Trends Biochem Sci.* 2003 Feb;28(2):66-9. (b)

Royo M, Daubner SC, Fitzpatrick PF. Effects of mutations in tyrosine hydroxylase associated with progressive dystonia on the activity and stability of the protein. *Proteins.* 2005 Jan 1;58(1):14-21.

Roze E, Apartis E, Clot F, Dorison N, Thobois S, Guyant-Marechal L, Tranchant C, Damier P, Doummar D, Bahi-Buisson N, André-Obadia N, Maltete D, Echaniz-Laguna A, Pereon Y, Beaugendre Y, Dupont S, De Greslan T, Jedynak CP, Ponsot G, Dussaule JC, Brice A, Dürr A, Vidailhet M. Myoclonus-dystonia: clinical and electrophysiologic pattern related to SGCE mutations. *Neurology.* 2008 Mar 25;70(13):1010-6.

Sako W, Morigaki R, Kaji R, Tooyama I, Okita S, Kitazato K, Nagahiro S, Graybiel AM, Goto S. Identification and localization of a neuron-specific isoform of TAF1 in rat brain: implications for neuropathology of DYT3 dystonia. *Neuroscience.* 2011 Aug 25;189:100-7.

Sambrook J, Russel DW. *Molecular cloning: a laboratory manual*, 3<sup>rd</sup> Ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001

Samuel CE. The eIF-2 alpha protein kinases, regulators of translation in eukaryotes from yeasts to humans. *J Biol Chem.* 1993 Apr 15;268(11):7603-6.

Sánchez I, Xu CJ, Joo P, Kakizaka A, Blenis J, Yuan J. Caspase-8 is required for cell death induced by expanded polyglutamine repeats. *Neuron.* 1999 Mar;22(3):623-33.

Santangelo G. Contributo clinico alla conoscenza delle forme familiari della dysbasia lordotica progressiva (spasmo di torsione). *G Psychiatr Neuropathol.* 1934; 52–77.

Saunders-Pullman R, Raymond D, Senthil G, Kramer P, Ohmann E, Deligtisch A, Shanker V, Greene P, Tabamo R, Huang N, Tagliati M, Kavanagh P, Soto-Valencia J, Aguiar Pde C, Risch N, Ozelius L, Bressman S. Narrowing the DYT6 dystonia region and evidence for locus heterogeneity in the Amish-Mennonites. *Am J Med Genet A.* 2007 Sep 15;143A(18):2098-105.

Saunders-Pullman R, Shriberg J, Heiman G, Raymond D, Wendt K, Kramer P, Schilling K, Kurlan R, Klein C, Ozelius LJ, Risch NJ, Bressman SB. Myoclonus dystonia: possible association with obsessive-compulsive disorder and alcohol dependence. *Neurology.* 2002 Jan 22;58(2):242-5.

Scheffer IE, Bhatia KP, Lopes-Cendes I, Fish DR, Marsden CD, Andermann F, Andermann E, Desbiens R, Cendes F, Manson JI, et al. Autosomal dominant frontal epilepsy misdiagnosed as sleep disorder. *Lancet.* 1994 Feb 26;343(8896):515-7.

Schiller A, Wevers RA, Steenbergen GC, Blau N, Jung HH. Long-term course of L-dopa-responsive dystonia caused by tyrosine hydroxylase deficiency. *Neurology.* 2004 Oct 26;63(8):1524-6

Schmidt A, Kumar KR, Redyk K, Grünewald A, Leben M, Münchau A, Sue CM, Hagenah J, Hartmann H, Lohmann K, Christen HJ, Klein C. Two faces of the same coin: benign familial infantile seizures and paroxysmal kinesigenic dyskinesia caused by PRRT2 mutations. *Arch Neurol.* 2012 May;69(5):668-70.

Schneider SA, Mohire MD, Trender-Gerhard I, Asmus F, Sweeney M, Davis M, Gasser T, Wood NW, Bhatia KP. Familial dopa-responsive cervical dystonia. *Neurology.* 2006 Feb 28;66(4):599-601.

Schüle B, Kock N, Svetel M, Dragasevic N, Hedrich K, de Carvalho Aguiar P, Liu L, Kabakci K, Garrels J, Meyer EM, Berisavac I, Schwinger E, Kramer PL, Ozelius LJ, Klein C, Kostic V. Genetic heterogeneity in ten families with myoclonus-dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2004 Aug;75(8):1181-5.

Schwarz CS, Bressman SB. Genetics and treatment of dystonia. *Neurol Clin.* 2009 Aug;27(3):697-718, vi.

Sciamanna G, Hollis R, Ball C, Martella G, Tassone A, Marshall A, Parsons D, Li X, Yokoi F, Zhang L, Li Y, Pisani A, Standaert DG. Cholinergic dysregulation produced by selective inactivation of the dystonia-associated protein torsinA. *Neurobiol Dis.* 2012 Sep;47(3):416-27.

Sciamanna G, Tassone A, Mandolesi G, Puglisi F, Ponterio G, Martella G, Madeo G, Bernardi G, Standaert DG, Bonsi P, Pisani A. Cholinergic dysfunction alters synaptic integration between thalamostriatal and corticostriatal inputs in DYT1 dystonia. *J Neurosci.* 2012 Aug 29;32(35):11991-2004.

Sciamanna G, Tassone A, Martella G, Mandolesi G, Puglisi F, Cuomo D, Madeo G, Ponterio G, Standaert DG, Bonsi P, Pisani A. Developmental profile of the aberrant dopamine D2 receptor response in striatal cholinergic interneurons in DYT1 dystonia. *PLoS One.* 2011;6(9):e24261.

Scola RH, Carducci C, Amaral VG, Lorenzoni PJ, Teive HA, Giovanniello T, Werneck LC. A novel missense mutation pattern of the GCH1 gene in dopa-responsive dystonia. *Arq Neuropsiquiatr.* 2007 Dec;65(4B):1224-7.

Segawa M. Autosomal dominant GTP cyclohydrolase I (AD GCH 1) deficiency (Segawa disease, dystonia 5; DYT 5). *Chang Gung Med J.* 2009 Jan-Feb;32(1):1-11.

Segawa M, Hosaka A, Miyagawa F, Nomura Y, Imai H. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. In: Eldridge R, Fahn S. *Advances in Neurology* vol 14. New York: Raven Press, 1976. p. 215–233.

Segawa M., Ohmi K., Itoh S., Aoyama M., Hayakawa H. Childhood basal ganglia disease with remarkable response to L-dopa, 'hereditary basal ganglia disease with marked diurnal fluctuation'. *Shinryo* (Tokyo). 1971 24: 667-672.

Seibler P, Djarmati A, Langpap B, Hagenah J, Schmidt A, Brüggemann N, Siebner H, Jabusch HC, Altenmüller E, Münchau A, Lohmann K, Klein C. A heterozygous frameshift mutation in PRKRA (DYT16) associated with generalised dystonia in a German patient. *Lancet Neurol*. 2008 May;7(5):380-1.

Sells SF, Han SS, Muthukkumar S, Maddiwar N, Johnstone R, Boghaert E, Gillis D, Liu G, Nair P, Monnig S, Collini P, Mattson MP, Sukhatme VP, Zimmer SG, Wood DP Jr, McRoberts JW, Shi Y, Rangnekar VM. Expression and function of the leucine zipper protein Par-4 in apoptosis. *Mol Cell Biol*. 1997 Jul;17(7):3823-32.

Shashidharan P, Kramer BC, Walker RH, Olanow CW, Brin MF. Immunohistochemical localization and distribution of torsinA in normal human and rat brain. *Brain Res*. 2000 Jan 24;853(2):197-206.

Shimoji M, Hirayama K, Hyland K, Kapatos G. GTP cyclohydrolase I gene expression in the brains of male and female hph-1 mice. *J Neurochem*. 1999 Feb;72(2):757-64.

Sibbing D, Asmus F, Konig IR, Tezenas du Montcel S, Vidailhet M, Sangla S, Oertel WH, Brice A, Ziegler A, Gasser T, Bandmann O. Candidate gene studies in focal dystonia. *Neurology*. 2003 Oct 28;61(8):1097-101.

Silveira-Moriyama L, Gardiner AR, Meyer E, King MD, Smith M, Rakshi K, Parker A, Mallick AA, Brown R, Vassallo G, Jardine PE, Guerreiro MM, Lees AJ, Houlden H, Kurian MA. Clinical features of childhood-onset paroxysmal kinesigenic dyskinesia with PRRT2 gene mutations. *Dev Med Child Neurol*. 2013 Apr;55(4):327-34.

Singh S, Goyal V, Prasad K, Behari M. Cervical dystonia responsive to levodopa. *Neurol India*. 2004 Jun;52(2):276-8.

Söhn AS, Glöckle N, Doetzer AD, Deuschl G, Felbor U, Topka HR, Schöls L, Riess O, Bauer P, Müller U, Grundmann K. Prevalence of THAP1 sequence variants in German patients with primary dystonia. *Mov Disord*. 2010 Sep 15;25(12):1982-6.

Soland VL, Bhatia KP, Marsden CD. Sex prevalence of focal dystonias. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1996 Feb;60(2):204-5.

Stacy M. Idiopathic cervical dystonia: an overview. *Neurology*. 2000;55(12 Suppl 5):S2-8.

Song W, Chen Y, Huang R, Chen K, Pan P, Yang Y, Shang HF. Novel THAP1 gene mutations in patients with primary dystonia from southwest China. *J Neurol Sci*. 2011 Oct 15;309(1-2):63-7.

Spacey SD, Adams PJ, Lam PC, Materek LA, Stoessl AJ, Snutch TP, Hsiung GY. Genetic heterogeneity in paroxysmal nonkinesigenic dyskinesia. *Neurology*. 2006 May 23;66(10):1588-90.

Steinberger D, Weber Y, Korinthenberg R, Deuschl G, Benecke R, Martinius J, Müller U. High penetrance and pronounced variation in expressivity of GCH1 mutations in five families with dopa-responsive dystonia. *Ann Neurol*. 1998 May;43(5):634-9.

Swoboda KJ, Furukawa Y. Gene Reviews – Funded by the National Institute for Health (NIH) and developed at the University of Washington [Homepage na Internet]. Seattle, Washington-USA. Gene Reviews [acesso em 8 jul 2008]. Tyrosine Hydroxylase Deficiency [aproximadamente 17 telas]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&part=thdrd>.

Szczaluba K, Jurek M, Milewski M, Friedman A, Kadziolka B, Szolna A, Bal J, Mazurczak T. Clinical characteristics of carriers of a GAG deletion in the DYT1 gene amongst Polish patients with primary dystonia. *Eur J Neurol*. 2007 Jun;14(6):659-62.

Tarsy D, Simon DK. Dystonia. *N Engl J Med*. 2006 Aug 24;355(8):818-29.

Tassin J, Dürr A, Bonnet AM, Gil R, Vidailhet M, Lücking CB, Goas JY, Durif F, Abada M, Echenne B, Motte J, Lagueny A, Lacomblez L, Jedynak P, Bartholomé B, Agid Y, Brice A. Levodopa-responsive dystonia. GTP cyclohydrolase I or parkin mutations? *Brain*. 2000 Jun;123 ( Pt 6):1112-21.

Tomita H, Nagamitsu S, Wakui K, Fukushima Y, Yamada K, Sadamatsu M, Masui A, Konishi T, Matsuishi T, Aihara M, Shimizu K, Hashimoto K, Mineta M, Matsushima M, Tsujita T, Saito M, Tanaka H, Tsuji S, Takagi T, Nakamura Y, Nanko S, Kato N, Nakane Y, Niikawa N. Paroxysmal kinesigenic choreoathetosis locus maps to chromosome 16p11.2-q12.1. *Am J Hum Genet*. 1999 Dec;65(6):1688-97.

Torres GE, Sweeney AL, Beaulieu JM, Shashidharan P, Caron MG. Effect of torsinA on membrane proteins reveals a loss of function and a dominant-negative phenotype of the dystonia-associated DeltaE-torsinA mutant. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Nov 2;101(44):15650-5. 25.

Tsui JK. Cervical dystonia. In: Tsui JK, Calne D. *Handbook of dystonia*. New York: Marcel Dekker, Inc, 1995. p. 115-27

Tuffery-Giraud S, Cavalier L, Roubertie A, Guittard C, Carles S, Calvas P, Echenne B, Coubes P, Claustres M. No evidence of allelic heterogeneity in the DYT1 gene of European patients with early onset torsion dystonia. *J Med Genet*. 2001 Oct;38(10):E35.

Uitti RJ, Maraganore DM. Adult onset familial cervical dystonia: report of a family including monozygotic twins. *Mov Disord*. 1993 Oct;8(4):489-94.

Valente EM, Bentivoglio AR, Cassetta E, Dixon PH, Davis MB, Ferraris A, Ialongo T, Frontali M, Wood NW, Albanese A. DYT13, a novel primary torsion dystonia locus, maps to chromosome 1p36.13--36.32 in an Italian family with cranial-cervical or upper limb onset. *Ann Neurol*. 2001 Mar;49(3):362-6. (a)

Valente EM, Bentivoglio AR, Cassetta E, Dixon PH, Davis MB, Ferraris A, Ialongo T, Frontali M, Wood NW, Albanese A. Identification of a novel primary torsion dystonia locus (DYT13) on chromosome 1p36 in an Italian family with cranial-cervical or upper limb onset. *Neurol Sci*. 2001 Feb;22(1):95-6. (b)

Valente EM, Misbahuddin A, Brancati F, Placzek MR, Garavaglia B, Salvi S, Nemeth A, Shaw-Smith C, Nardocci N, Bentivoglio AR, Berardelli A, Eleopra R, Dallapiccola B, Warner TT. Analysis of the epsilon-sarcoglycan gene in familial and sporadic myoclonus-dystonia: evidence for genetic heterogeneity. *Mov Disord*. 2003 Sep;18(9):1047-51.

Valente EM, Spacey SD, Wali GM, Bhatia KP, Dixon PH, Wood NW, Davis MB. A second paroxysmal kinesigenic choreoathetosis locus (EKD2) mapping on 16q13-q22.1 indicates a family of genes which give rise to paroxysmal disorders on human chromosome 16. *Brain*. 2000 Oct;123 ( Pt 10):2040-5.



Valente EM, Warner TT, Jarman PR, Mathen D, Fletcher NA, Marsden CD, Bhatia KP, Wood NW. The role of DYT1 in primary torsion dystonia in Europe. *Brain*. 1998 Dec;121 ( Pt 12):2335-9.

Vander Heyden AB, Naismith TV, Snapp EL, Hodzic D, Hanson PI. LULL1 retargets TorsinA to the nuclear envelope revealing an activity that is impaired by the DYT1 dystonia mutation. *Mol Biol Cell*. 2009 Jun;20(11):2661-72.

van Gerpen JA, Ledoux MS, Wszolek ZK. Adult-onset leg dystonia due to a missense mutation in THAP1. *Mov Disord*. 2010 Jul 15;25(9):1306-7.

van Rootselaar AF, van Westrum SS, Velis DN, Tijssen MA. The paroxysmal dyskinesias. *Pract Neurol*. 2009 Apr;9(2):102-9.

van Strien TW, van Rootselaar AF, Hilgevoord AA, Linssen WH, Groffen AJ, Tijssen MA. Paroxysmal kinesigenic dyskinesia: cortical or non-cortical origin. *Parkinsonism Relat Disord*. 2012 Jun;18(5):645-8.

Vemula SR, Puschmann A, Xiao J, Zhao Y, Rudzińska M, Frei KP, Truong DD, Wszolek ZK, LeDoux MS. Role of Gα(olf) in familial and sporadic adult-onset primary dystonia. *Hum Mol Genet*. 2013 Jun 15;22(12):2510-9.

Waddy HM, Fletcher NA, Harding AE, Marsden CD. A genetic study of idiopathic focal dystonias. *Ann Neurol*. 1991 Mar;29(3):320-4.

Walker RH, Brin MF, Sandu D, Good PF, Shashidharan P. TorsinA immunoreactivity in brains of patients with DYT1 and non-DYT1 dystonia. *Neurology*. 2002 Jan 8;58(1):120-4.

Walker RH, Shashidharan P. Developments in the molecular biology of DYT1 dystonia. *Mov Disord*. 2003 Oct;18(10):1102-7.

Wang JL, Cao L, Li XH, Hu ZM, Li JD, Zhang JG, Liang Y, San-A, Li N, Chen SQ, Guo JF, Jiang H, Shen L, Zheng L, Mao X, Yan WQ, Zhou Y, Shi YT, Ai SX, Dai MZ, Zhang P, Xia K, Chen SD, Tang BS. Identification of PRRT2 as the causative gene of paroxysmal kinesigenic dyskinesias. *Brain*. 2011 Dec;134(Pt 12):3493-3501.

Weber YG, Kamm C, Suls A, et al. Paroxysmal choreoathetosis/spasticity (DYT9) is caused by a GLUT1 defect. *Neurology* 2011;77:959–964.

Weber YG, Storch A, Wuttke TV, Brockmann K, Kempfle J, Maljevic S, Margari L, Kamm C, Schneider SA, Huber SM, Pekrun A, Roebing R, Seebohm G, Koka S, Lang C, Kraft E, Blazevic D, Salvo-Vargas A, Fauler M, Mottaghy FM, Münchau A, Edwards MJ, Presicci A, Margari F, Gasser T, Lang F, Bhatia KP, Lehmann-Horn F, Lerche H. GLUT1 mutations are a cause of paroxysmal exertion-induced dyskinesias and induce hemolytic anemia by a cation leak. *J Clin Invest*. 2008 Jun;118(6):2157-68.

Weiss EM, Hershey T, Karimi M, Racette B, Tabbal SD, Mink JW, Paniello RC, Perlmutter JS. Relative risk of spread of symptoms among the focal onset primary dystonias. *Mov Disord*. 2006 Aug;21(8):1175-81.

Wider C, Melquist S, Hauf M, Solida A, Cobb SA, Kachergus JM, Gass J, Coon KD, Baker M, Cannon A, Stephan DA, Schorderet DF, Ghika J, Burkhard PR, Kapatos G, Hutton M, Farrer MJ, Wszolek ZK, Vingerhoets FJ. Study of a Swiss dopa-responsive dystonia family with a deletion in GCH1: redefining DYT14 as DYT5. *Neurology*. 2008 Apr 15;70(16 Pt 2):1377-83.

Wilcox RA, Winkler S, Lohmann K, Klein C. Whispering dysphonia in an Australian family (DYT4): a clinical and genetic reappraisal. *Mov Disord*. 2011 Nov;26(13):2404-8.

Wilhelmsen KC, Weeks DE, Nygaard TG, Moskowitz CB, Rosales RL, dela Paz DC, Sobrevega EE, Fahn S, Gilliam TC. Genetic mapping of "Lubag" (X-linked dystonia-parkinsonism) in a Filipino kindred to the pericentromeric region of the X chromosome. *Ann Neurol*. 1991 Feb;29(2):124-31.

Williams BR. Role of the double-stranded RNA-activated protein kinase (PKR) in cell regulation. *Biochem Soc Trans*. 1997 May;25(2):509-13.

Winter P, Kamm C, Biskup S, Köhler A, Leube B, Auburger G, Gasser T, Benecke R, Müller U. DYT7 gene locus for cervical dystonia on chromosome 18p is questionable. *Mov Disord*. 2012 Dec;27(14):1819-21.

Xiao J, Uitti RJ, Zhao Y, Vemula SR, Perlmutter JS, Wszolek ZK, Maraganore DM, Auburger G, Leube B, Lehnhoff K, LeDoux MS. Mutations in CIZ1 cause adult onset primary cervical dystonia. *Ann Neurol*. 2012 Apr;71(4):458-69.

Xiao J, Zhao Y, Bastian RW, Perlmutter JS, Racette BA, Tabbal SD, Karimi M, Paniello RC, Wszolek ZK, Uitti RJ, Van Gerpen JA, Simon DK, Tarsy D, Hedera P, Truong DD, Frei KP, Dev Batish S, Blitzer A, Pfeiffer RF, Gong S, LeDoux MS. Novel THAP1 sequence variants in primary dystonia. *Neurology*. 2010 Jan 19;74(3):229-38.

Xiromerisiou G, Houlden H, Scarneas N, Stamelou M, Kara E, Hardy J, Lees AJ, Korlipara P, Limousin P, Paudel R, Hadjigeorgiou GM, Bhatia KP. THAP1 mutations and dystonia phenotypes: genotype phenotype correlations. *Mov Disord*. 2012 Sep 1;27(10):1290-4.

Yeung WL, Wong VC, Chan KY, Hui J, Fung CW, Yau E, Ko CH, Lam CW, Mak CM, Siu S, Low L. Expanding phenotype and clinical analysis of tyrosine hydroxylase deficiency. *J Child Neurol*. 2011 Feb;26(2):179-87.

Yokoi F, Dang MT, Li Y. Improved motor performance in Dyt1  $\Delta$ GAG heterozygous knock-in mice by cerebellar Purkinje-cell specific Dyt1 conditional knocking-out. *Behav Brain Res*. 2012 May 1;230(2):389-98.

Zafeiriou DI, Willemsen MA, Verbeek MM, Vargiami E, Ververi A, Wevers R. Tyrosine hydroxylase deficiency with severe clinical course. *Mol Genet Metab*. 2009 May;97(1):18-20.

Zaremba J, Mierzevska H, Lysiak Z, Kramer P, Ozelius LJ, Brashear A. Rapid-onset dystonia-parkinsonism: a fourth family consistent with linkage to chromosome 19q13. *Mov Disord*. 2004 Dec;19(12):1506-10.

Zhang L, Yokoi F, Jin YH, DeAndrade MP, Hashimoto K, Standaert DG, Li Y. Altered dendritic morphology of Purkinje cells in Dyt1  $\Delta$ GAG knock-in and purkinje cell-specific Dyt1 conditional knockout mice. *PLoS One*. 2011 Mar 29;6(3):e18357.

Zhao Y, DeCuypere M, LeDoux MS. Abnormal motor function and dopamine neurotransmission in DYT1 DeltaGAG transgenic mice. *Exp Neurol*. 2008 Apr;210(2):719-30.

Zhao Y, Sharma N, LeDoux MS. The DYT1 carrier state increases energy demand in the olivocerebellar network. *Neuroscience*. 2011 Mar 17;177:183-94.

Zhou QY, Quaife CJ, Palmiter RD. Targeted disruption of the tyrosine hydroxylase gene reveals that catecholamines are required for mouse fetal development. *Nature*. 1995 Apr 13;374(6523):640-3.

Zhu L, Wrabl JO, Hayashi AP, Rose LS, Thomas PJ. The torsin-family AAA+ protein OOC-5 contains a critical disulfide adjacent to Sensor-II that couples redox state to nucleotide binding. *Mol Biol Cell*. 2008 Aug;19(8):3599-612.

Zimprich A, Grabowski M, Asmus F, Naumann M, Berg D, Bertram M, Scheidtmann K, Kern P, Winkelmann J, Müller-Myhsok B, Riedel L, Bauer M, Müller T, Castro M, Meitinger T, Strom TM, Gasser T. Mutations in the gene encoding epsilon-sarcoglycan cause myoclonus-dystonia syndrome. *Nat Genet*. 2001 Sep;29(1):66-9.

Zirn B, Grundmann K, Huppke P, Puthenparampil J, Wolburg H, Riess O, Müller U. Novel TOR1A mutation p.Arg288Gln in early-onset dystonia (DYT1). *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008 Dec;79(12):1327-30.

Zittel S, Moll CK, Brüggemann N, Tadic V, Hamel W, Kasten M, Lohmann K, Lohnau T, Winkler S, Gerloff C, Schönweiler R, Hagenah J, Klein C, Münchau A, Schneider SA. Clinical neuroimaging and electrophysiological assessment of three DYT6 dystonia families. *Mov Disord*. 2010 Oct 30;25(14):2405-12.

Zlotogora J. Autosomal recessive, DYT2-like primary torsion dystonia: a new family. *Neurology*. 2004 Oct 12;63(7):1340.

## APÊNDICE

## PROTOCOLO DE DISTONIA CERVICAL

Nome		Registro	
Data de Nascimento		Sexo	Raça
Profissão	Endereço		
			Telefone
Idade	<b>DATA DA PRIMEIRA AVALIAÇÃO</b>		

**Participou do mestrado :**  Sim  Não

HISTÓRIA CLÍNICA

Idade de início dos sintomas:

**Tipo de distonia:**  Focal  Segmentar  Generalizada  Multifocal  Hemidistonia

**Distonia cervical:**  Rotação E  Rotação D  Latero D  Antero  Retro

**“Jerks” da cabeça:**  Sim  Não

**Espasmos cervicais:**  Sim  Não

**Tremor cefálico:**  Sim  Não

**Tremor essencial:**  Sim  Não

**Truques sensoriais:**  Pensamentos  Sorrir  Falar  Mastigar  Outro \_\_\_\_\_

**História de trauma:**  Sim  Não  TCE -  Cervical

**História de remissão da distonia:**  Sim  Não

**História familiar de Tremor essencial**  Sim  Não

*História familiar (observar distonia e distúrbios do movimento)*

SOBRENOME DA FAMÍLIA --- \_\_\_\_\_

**Distonia segmentar (distonia cervical associada)**

- Blefaroespasmo   Oromandibular   Meige   Cãimbra do escritor   Axial  
Outra \_\_\_\_\_

Outros distúrbios do movimento associados?

Comorbidades:

Uso de medicamentos?

## EXAMES COMPLEMENTARES

**Raio X de Coluna cervical** : realizado em

- normal                       - alterado \_\_\_\_\_                       - não realizada

**Tomografia de Crânio** : realizada em

- normal                       - alterada

**Tomografia de Coluna Cervical**: realizada em \_\_\_\_\_

- normal                       - alterada \_\_\_\_\_                       - não realizada

**Ressonância Nuclear Magnética Encefálica** : realizada em \_\_\_\_\_

- normal                       - alterada \_\_\_\_\_                       - não realizada

**Ressonância Nuclear Magnética de Coluna Cervical**: realizada em

- normal                       - alterada \_\_\_\_\_                       - não realizada

**Ceruloplasmina**: Normal   Baixa \_\_\_\_\_ **VDRL**   Normal   reagente

**Outros**


---



---



---

## TRATAMENTOS ANTERIORES

**Respondeu a levodopa**: Sim   Não   Não usou

- anticolinérgico                      - benzodiazepínico    - tetrabenazina e anatensol    -baclofen

-Cirurgia                      - agonista dopaminérgico   -outro \_\_\_\_\_

- toxina botulínica: doses e datas \_\_\_\_\_

## JANKOVIC DISABILITY SCALE

0	Não apresenta espasmo
1	Leve mas notável por leigos
2	Leve sem prejuízo funcional
3	Espasmo moderado – prejuízo funcional moderado
4	Grave- espasmo incapacitante

## FAHN-MARSDEN SCALE

<b>Produto = Fator Provocador X Fator de Gravidade</b>
--------------------------------------------------------

Pescoço

Fator provocador	Fator de severidade	Peso	Produto
<input type="checkbox"/> 0 Sem distonia ao repouso ou ação	<input type="checkbox"/> 0 Nenhuma distonia presente	0,5	_____
<input type="checkbox"/> 1 Distonia em ação específica	<input type="checkbox"/> 1 Desprezível. Lateralização ocasional		
<input type="checkbox"/> 2 Distonia em muitas ações	<input type="checkbox"/> 2 Torcicolo presente, mas		
<input type="checkbox"/> 3 Distonia em ação em uma parte distante do corpo ou intermitentemente ao repouso	<input type="checkbox"/> 3 Moderada lateralização		
<input type="checkbox"/> 4 Distonia em repouso	<input type="checkbox"/> 4 Grave lateralização		

## ESCALA ANALÓGICA DE DOR:

<b>0</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	<b>10</b>
Ausência de										pior dor
dor										

## TORONTO WESTERN SPASMODIC TORTICOLLIS RATING SCALE (TWSTRS)

**Desvio Máximo: Grau máximo da amplitude do desvio, pedindo ao paciente para não se opor ao movimento anormal ou usar manobras de distração ou que piorem o movimento anormal. Quando o grau de desvio é entre os escores, escolha o mais alto.**

A1. Rotação (direita ou esquerda)

- 0: Nenhum
- 1: Mínimo (<1/4 da amplitude) (1-22°)
- 2: Leve (1/4 a 1/2 da amplitude) (23-45°)
- 3: Moderado (1/2 a 3/4 da amplitude) (46-67°)
- 4: Severo (> 3/4 da amplitude) (68-90°)

A2. Laterocólis (inclinando para direita ou esquerda) (excluir elevação do ombro)

- 0: Nenhum
- 1: Leve (1-15°)
- 2: Moderado (16-35°)
- 3: Severo (>35°)

A3a. Anterocólis

- 0: Nenhum
- 1: Discreto desvio para baixo do queixo
- 2: Moderado desvio para baixo (aproximadamente 1/2 da amplitude)
- 3: Severo (o queixo encosta no tórax)

A3b. Retrocólis

- 0: Nenhum
- 1: Discreto desvio para trás do vértex com desvio para cima do queixo
- 2: Moderado desvio para trás (aproximadamente 1/2 da amplitude)
- 3: Severo (próximo a amplitude máxima)

A4. Desvio Lateral

- 0: Presente
- 1: Ausente

A5. Desvio Sagital

- 0: Para frente
- 1: Para trás

**Fator da Duração: Permite um escore geral estimado durante o curso de um exame padronizado após estimar o grau máximo. Peso 2**

- 0: Nenhum
- 1: Desvio ocasional (<25% do tempo), na maior parte com desvio submáximo

2: Desvio ocasional (<25% do tempo) geralmente máximo ou intermitente (25-50% do tempo) geralmente submáximo

3: Intermitente (25-50% do tempo) geralmente máximo ou freqüente (50-75% do tempo) e submáximo

4: Freqüente (50-75% do tempo) e máximo ou constante (>75% do tempo) submáximo

5: Constante (>75% do tempo) e máximo

**Efeito de truques sensoriais**

0: Alívio completo por um ou mais truques

1: Alívio parcial pelos truques

2: Pouco ou nenhum benefício com os truques

**Deslocamento anterior ou elevação do ombro**

0: Ausente

1: Leve (<1/3 da amplitude) intermitente ou constante ou moderado e intermitente

2: Moderado (1/3 a 2/3 da amplitude máxima) e constante (>75% do tempo) ou severo (>2/3 da amplitude possível) e intermitente

3: Severo e constante

**Grau de Motilidade (sem a ajuda de truques sensoriais): Se a limitação ocorre em mais de um plano de movimento, utilize o maior escore individual**

0: Consegue mover para posição oposta extrema

1: Consegue mover a cabeça bem além da linha média mas sem chegar a posição oposta extrema

2: Consegue mover a cabeça pouco além da linha média

3: Consegue mover a cabeça mas não ultrapassa a linha média

4: Não consegue mover a cabeça muito além da postura anormal

**Tempo (até 60 segundos) que o paciente consegue manter a cabeça em posição neutra sem usar truques sensoriais**

0: >60 s

1: 46-60 s

2: 31-45 s

3: 16-30 s

4: <15 s

TWSTRS PRÉ-TRATAMENTO: \_\_\_\_\_

Tipo de distonia Cervical : \_\_\_\_\_

Coleta do material para exame genético: \_\_\_\_\_

Resultados: (colocar data do resultado entre parênteses)

<b>Locus</b>	<b>Positivo</b>	<b>Negativo</b>	<b>Não Realizado</b>
DYT1			
DYT6			





Curitiba, 20 de janeiro de 2009.

Ilmo (a) Sr. (a)  
**Carlos Henrique Ferreira Camargo**  
Neste

Prezado Pesquisador:

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "AVALIAÇÃO CLÍNICA E GENÉTICA DE PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL", foi analisado **com pendências** pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 24 de junho de 2008. Após, análise as respostas das pendências encaminhadas pelo pesquisador, este CEP/HC considera aprovado o projeto em 19 de janeiro de 2009. O referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e demais, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde.

**CAAE: 0139.0.208.000-08**  
**CEP: 1676.093/2008-06**

**Data para entrega do primeiro relatório: 20 de julho de 2009.**

Atenciosamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Renato Tambara Filho".

**Renato Tambara Filho**  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa  
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Sistema de Banco de Pesquisas

23-JUN-2008 10:03:32

**Número da Pesquisa** 2008022996

**Nome do Pesquisador**  
HELIO AFONSO GHIZONI TEIVE

**Local da Pesquisa**  
DEPARTAMENTO DE CLINICA MÉDICA

**Área do Conhecimento**  
40101070 Neurologia

**Tipo do Projeto**  
Projeto Candidato

**Data de Início**  
23/06/2008

**Data da aprovação no Depto**  
23/06/2008

**Nome do Orientador**  
HÉLIO AFONSO GHIZONI TEIVE

**Fase atual da pesquisa**  
Projeto Novo

**Horas semanais dedicadas**  
2

**Data de inclusão no sistema**  
23/06/2008

**Título**  
AVALIAÇÃO CLÍNICA E GENÉTICA DE PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL

**Ementa**

A distonia é definida como uma síndrome caracterizada por contração muscular sustentada causando torção, movimentos repetitivos ou posturas anormais. A maioria dos músculos voluntários pode ser afetada e quando atinge a musculatura do pescoço denomina-se distonia cervical. Desde a identificação de um gene (DYT1) na região q 32-34 do cromossomo 9, em 1989, uma série de pesquisas na área genética vêm se desenvolvendo para identificar a etiologia da doença. Busca-se salientar a associação clínica-genética.

**Equipe de Colaboradores**

HÉLIO AFONSO G TEIVE  
CARLOS HENRIQUE FERREIRA CAMARGO

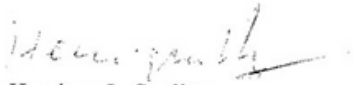
DR. CARLOS HENRIQUE F. CAMARGO  
NEUROLOGIA  
CRM 16462

Curitiba, 26 de junho de 2008

Ao Chefe do Departamento de Clínica Médica  
Hospital de Clínicas da UFPR  
Prof. Dr José Gastão Rocha de Carvalho

O estudo clínica intitulado "Avaliação Clínica e genética de pacientes com distonia cervical" se encontra de acordo com as boas normas de praticas clínicas.

Atenciosamente,

  
Dr Henrique L. Suplicy

## TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO

**Título do Projeto:** “Avaliação Clínica e Genética de Pacientes com Distonia Cervical”

**Investigadores :** Dr. Carlos Henrique Ferreira Camargo e Dr. Hélio Afonso G Teive

**Local da Pesquisa:** Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

**Endereço e telefone:** Rua General Carneiro, 181 – Alto da Glória – Curitiba-PR, 3360-1800

### PROPÓSITO DA INFORMAÇÃO AO PACIENTE E DOCUMENTO DE CONSENTIMENTO

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa, coordenada por um profissional de saúde agora denominado pesquisador. Para poder participar, é necessário que você leia este documento com atenção. Ele pode conter palavras que você não entende. Por favor, peça aos responsáveis pelo estudo para explicar qualquer palavra ou procedimento que você não entenda claramente.

O propósito deste documento é dar a você as informações sobre a pesquisa e, se assinado, dará a sua permissão para participar no estudo. O documento descreve o objetivo, procedimentos, benefícios e eventuais riscos ou desconfortos caso queira participar. Você só deve participar do estudo se você quiser. Você pode se recusar a participar ou se retirar deste estudo a qualquer momento.

### INTRODUÇÃO

Sabemos que muitos casos de DISTONIA CERVICAL, a doença que você tem, com contração involuntária dos músculos do pescoço levando a posturas anormais (espasmos, torcicolos e dores), têm origem desconhecida. Alguns deles, principalmente aqueles em que há várias pessoas com o mesmo problema na mesma família, podem ter origem genética (familiar). Já há estudos demonstrando que algumas características clínicas podem apontar para uma origem genética específica.

### PROPÓSITO DO ESTUDO

Pretendemos fazer uma avaliação clínica dos pacientes com distonia cervical, e em seguida colher sangue para fazer exame genético. O objetivo do estudo é associar o resultado dos exames de sangue com as características clínicas de cada pessoa avaliada que tenha distonia cervical.

### SELEÇÃO

Os critérios de inclusão são: apresentar distonia cervical em qualquer uma das formas de apresentação clínica da doença.

Os critérios de exclusão são: (1) recusar a realização da investigação diagnóstica e genética; (2) não concordar com terapêutica determinada; (3) impossibilidade de comparecer para as reavaliações; (4) não assinar consentimento informado.

### PROCEDIMENTOS

Você será sempre avaliado nas consultas de rotina no Setor de Distúrbios do Movimento do Serviço de neurologia, no sexto andar do anexo B do HC-UFPR, não atrapalhando o andamento do tratamento determinado para sua doença. É fundamental que você não falte as consultas agendadas.

Na primeira avaliação deste estudo será colhido 5 ml de sangue (1 colher de sopa) do seu braço, como em outros exames de sangue, para AVALIAÇÃO GENÉTICA PARA DISTONIA CERVICAL. Pode doer um pouco na hora de colocar e tirar a agulha, ficar uma mancha roxa no local. Você pode também ficar com um pouco de tontura ou mal estar na hora de tirar sangue. Não se preocupe porque esses efeitos são passageiros e sempre haverá um médico junto na hora de tirar o sangue.

O sangue será levado ao Laboratório Genética, que retirará o material genético (DNA) e enviará para a Universidade Federal de Minas Gerais, onde serão feitos os exames. O material, então, será guardado por, no máximo, cinco anos e desprezado de acordo com as normas sanitárias vigentes.

Os resultados desta pesquisa serão usados somente neste projeto. Conforme a Resolução CNS 247/05, com a sua autorização, o material armazenado poderá ser utilizado para pesquisas futuras.

É muito importante sua participação. Você está ajudando no melhor entendimento do porquê da distonia acontecer.

**PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA:**

Sua decisão em participar deste estudo é voluntária. Você pode decidir não participar no estudo. Uma vez que você decidiu participar do estudo, você pode retirar seu consentimento e participação a qualquer momento. Se você decidir não continuar no estudo e retirar sua participação, você não será punido ou perderá qualquer benefício ao qual você tem direito.

**CUSTOS**

Não haverá nenhum custo a você relacionado aos procedimentos previstos no estudo. Os exames serão feitos todos gratuitamente.

**PAGAMENTO PELA PARTICIPAÇÃO**

Sua participação é voluntária, portanto você não será pago por sua participação neste estudo.

**PERMISSÃO PARA REVISÃO DE REGISTROS, CONFIDENCIALIDADE E ACESSO AOS REGISTROS:**

O Dr. Carlos Henrique Ferreira Camargo e o Dr. Hélio Afonso G Teive e equipe irão coletar informações sobre você. Em todos esses registros um código substituirá seu nome. Todos os dados coletados serão mantidos de forma confidencial. Os dados coletados serão usados para a avaliação do estudo, membros das Autoridades de Saúde ou do Comitê de Ética, podem revisar os dados fornecidos. Os dados também podem ser usados em publicações científicas sobre o assunto pesquisado. Porém, sua identidade não será revelada em qualquer circunstância.

Você tem direito de acesso aos seus dados. Você pode discutir esta questão mais adiante com seu médico do estudo.

**CONTATO PARA PERGUNTAS**

Se você ou seus parentes tiver (em) alguma dúvida com relação ao estudo, direitos do paciente, ou no caso de danos relacionados ao estudo, você deve contatar o Dr. Carlos Henrique Ferreira Camargo ou o Dr. Hélio Afonso G Teive no HC-UFPR toda segunda feira pela manhã, no sexto andar do anexo B, ou pelo telefone 42-3026-2670. Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como um paciente de pesquisa, você pode contatar o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Hospital de Clínicas, da Universidade Federal do Paraná, pelo telefone: 3360-1896. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos e não científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa, para mantê-lo seguro e proteger seus direitos.

**DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO DO PACIENTE:**

Eu li e discuti com o investigador responsável pelo presente estudo os detalhes descritos neste documento. Entendo que eu sou livre para aceitar ou recusar, e que eu posso interromper minha participação a qualquer momento sem dar uma razão. Eu concordo que os dados coletados para o estudo sejam usados para o propósito acima descrito

Eu entendi a informação apresentada neste termo de consentimento. Eu tive a oportunidade para fazer perguntas e todas as minhas perguntas foram respondidas.

Eu receberei uma cópia assinada e datada deste Documento de Consentimento Informado.

\_\_\_\_\_  
NOME DO PACIENTE

\_\_\_\_\_  
ASSINATURA

\_\_\_\_\_  
DATA

\_\_\_\_\_  
NOME DO RESPONSÁVEL  
(Se incapacitado)

\_\_\_\_\_  
ASSINATURA

\_\_\_\_\_  
DATA

\_\_\_\_\_  
NOME DO INVESTIGADOR  
(Pessoa que aplicou o TCLE)

\_\_\_\_\_  
ASSINATURA

\_\_\_\_\_  
DATA

## **ANEXOS**

**QUADRO – PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES DA AMOSTRA**

<b>Paciente</b>	<b>Família</b>	<b>Análise genética</b>	<b>Sexo</b>	<b>Idade ao exame</b>	<b>Idade de início</b>	<b>Forma de distonia</b>	<b>Local de início</b>	<b>Locais de acometimento</b>	<b>Distúrbios do movimento associados</b>
1.	14	DYT6	F	25	18	SG	MSD	craniana, MSD	
2.		DYT6	M	36	22	GR	MSE	axial, laringe, MMSS e MMII	
3.	14	DYT6	F	16	6	GR	MSE	craniana, axial, MMSS, MMII	
4.	2	DYT1	F	13	7	GR	MMII	craniana, axial, MMSS, MMII	
5.	11	DYT1	F	32	12	GR	MSD	axial, MSE, MSD	
6.	1		M	24	20	GR	craniana	craniana, axial, MIE	
7.	1		M	18	12	GR	MSD	craniana, axial, MMSS, MMII	
8.			F	25	5	FC			
9.	15		F	25	24	FC			
10.			F	55	50	FC			
11.			F	21	17	GR	cervical	craniana, axial, MMSS, MMII	Parkinsonismo
12.			M	36	9	GR	MIE	axial, MSD	
13.	4		M	92	75	SG	cervical	MSD	Parkinsonismo
14.			M	61	58	FC			
15.	3		M	35	11	GR	MID	axial, MMSS e MMII	
16.			F	84	71	SG	craniana	craniana	
17.			F	62	58	SG	craniana	craniana	
18.			F	16	13	GR	craniana	craniana, axial, MMSS, MMII	Mioclônias
19.			F	33	27	FC			
20.			M	38	18	SG	cervical	craniana	
21.	3		M	30	10	SG	MSD	MMSS	
22.	4		M	67	56	FC			
23.			F	39	17	SG	cervical	craniana, MSD	
24.			F	17	15	FC			
25.			M	76	63	FC			
26.			F	61	58	FC			
27.			M	75	71	SG	cervical	MMSS	
28.			F	45	40	FC			
29.	5		M	10	4	GR	MMII	craniana, axial, MMSS, MMII	
30.	16		F	67	64	SG	Craniana	craniana	Parkinsonismo
31.			F	53	48	FC			

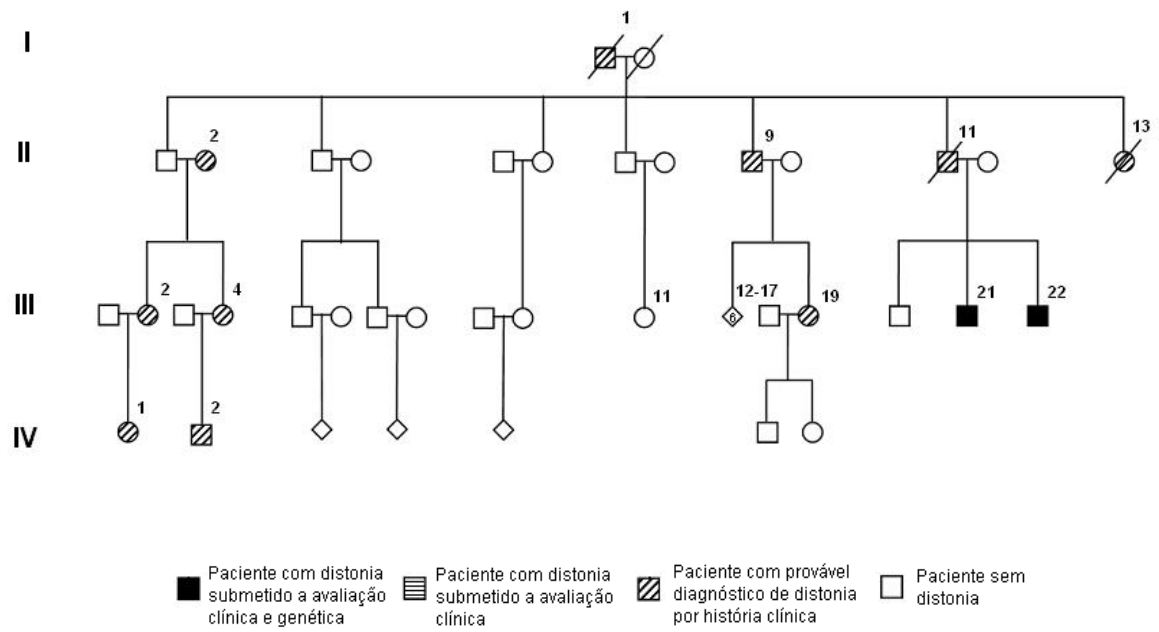
Paciente	Família	Análise genética	Sexo	Idade ao exame	Idade de início	Forma de distonia	Local de início	Locais de acometimento	Distúrbios do movimento associados
32.	15		M	19	17	FC			
33.			M	23	14	SG	MSD	MSD	
34.			F	66	60	SG	Craniana	craniana	
35.			M	31	8	GR	MIE	axial, MMSS e MMII	
36.			F	60	35	FC			
37.			F	32	30	FC			
38.			F	74	35	FC			
39.			F	54	41	FC			
40.	9		F	47	39	GR	Cervical	craniana, axial	
41.			M	28	23	SG	MSD	MMSS	Mioclonias
42.			M	70	58	FC			
43.			F	55	42	MF	MIE	MIE	
44.	8		M	60	58	SG	Cervical	craniana, MSD, laringe	
45.			M	67	56	FC			
46.			F	77	64	FC			
47.			F	41	34	SG	MSD	MSD	
48.			F	42	26	FC			
49.			F	38	16	GR	Cervical	craniana, axial, MSD, laringe	
50.	16		F	28	25	FC			
51.			M	13	6	GR	MID	axial, MMSS e MMII	
52.	10		F	31	9	GR	MMSS	axial, MMSS e MMII	
53.			M	22	11	FC			
54.			M	15	12	SG	MSD	MSD	Mioclonias
55.			F	38	30	FC			
56.			F	49	12	GR	MSD	axial, laringe, MMSS e MMII	
57.			F	42	7	SG	Cervical	MMSS	
58.			F	55	41	GR	MMSS	craniana, axial, MMSS	
59.	6		F	45	30	SG	Cervical	craniana,	
60.			F	48	35	FC			
61.			F	69	67	FC			
62.			F	52	47	FC			
63.			F	51	29	FC			
64.			F	54	52	FC			
65.			F	50	30	FC			



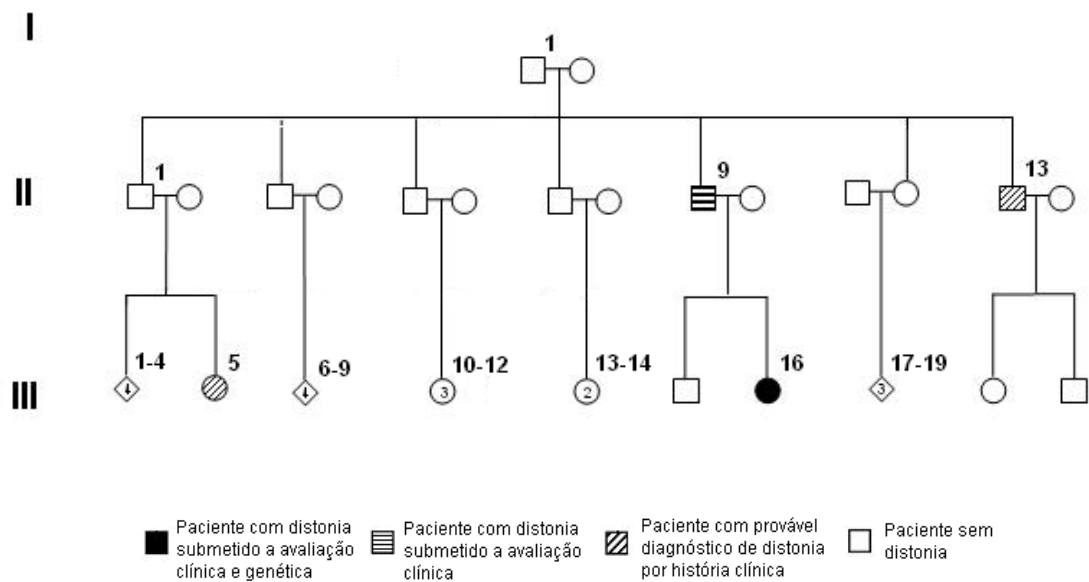
Paciente	Família	Análise genética	Sexo	Idade ao exame	Idade de início	Forma de distonia	Local de início	Locais de acometimento	Distúrbios do movimento associados
66.			M	24	0,5	GR	cervical	craniana, axial	
67.			F	46	30	FC			
68.	12		F	17	2	GR	cervical	axial	
69.			F	77	66	SG	craniana	craniana	
70.			M	47	33	SG	cervical	craniana	
71.			F	24	13	GR	cervical	axial	
72.			M	34	25	SG	cervical	MMSS	
73.			M	24	14	GR	MSD	axial, MSD e MID	Mioclônias
74.			M	16	5	GR	MID	craniana, axial, MMSS, MMII	
75.			F	72	58	FC			
76.			F	36	30	GR	MSD	axial, MMSS e MMII	
77.	7		F	40	5	MF	MIE	MIE	
78.			F	46	40	FC			
79.	13		M	49	27	GR	cervical	axial, MSE e laringe	
80.	16		F	49	37	FC			
81.			F	76	75	FC			
82.			M	37	13	SG	cervical	MSE	
83.			F	34	5	GR	MIE	axial, laringe, MMII	
84.			F	26	6	GR	MIE	axial, MMSS e MMII	
85.			F	28	0,8	GR	MMII	craniana, axial, MMSS, MMII, laringe	
86.			M	51	43	FC			
87.			M	29	6	SG	MSD	MMSS	
88.			F	66	60	FC			

M – masculino, F – feminino, GR – generalizada, MF – multifocal, SG – segmentar, FC – focal, MMSS – membros superiores, MMII – membros inferiores, MSD – membro superior direito, MSE – membro superior esquerdo, MIE – membro inferior esquerdo, MID – membro inferior direito

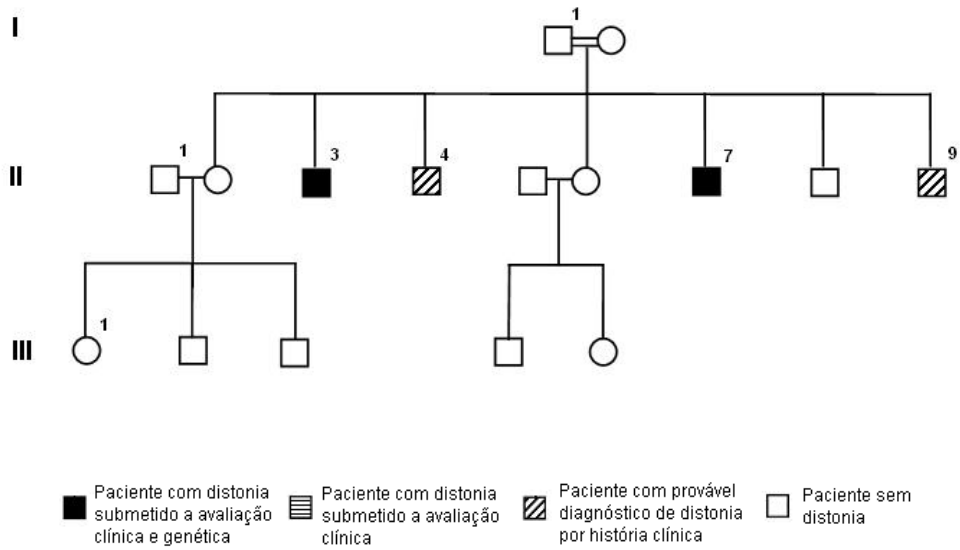
## HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 1



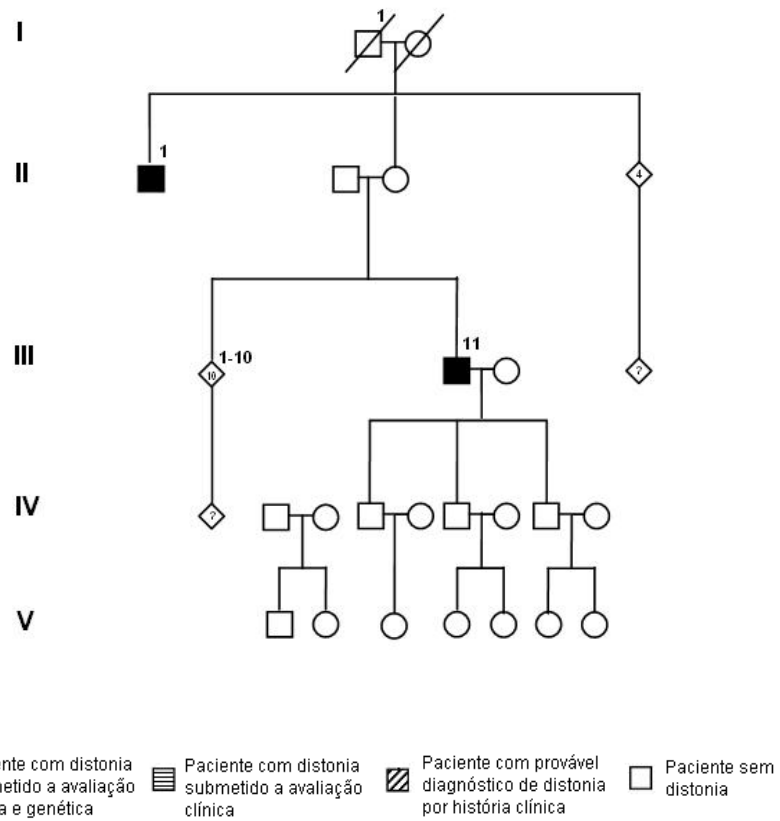
## HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 2



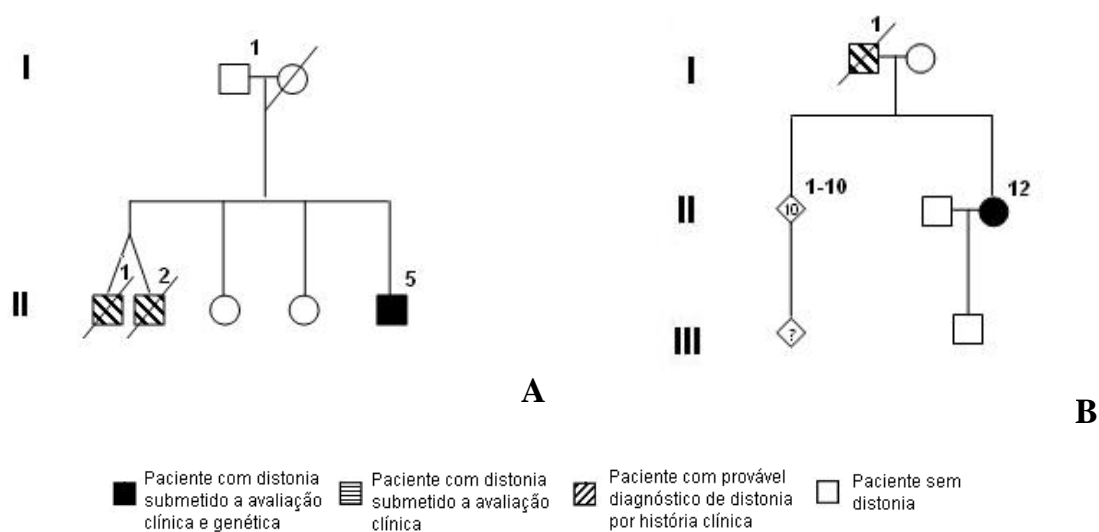
HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 3



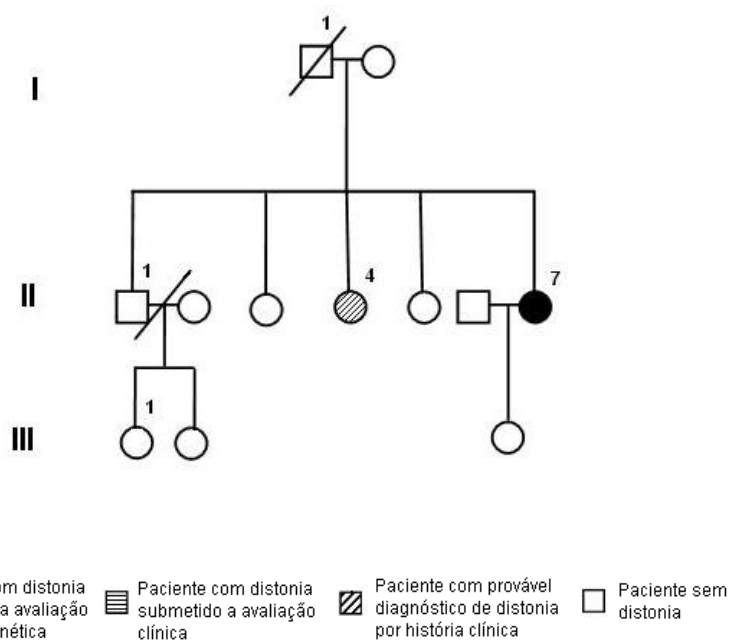
HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 4



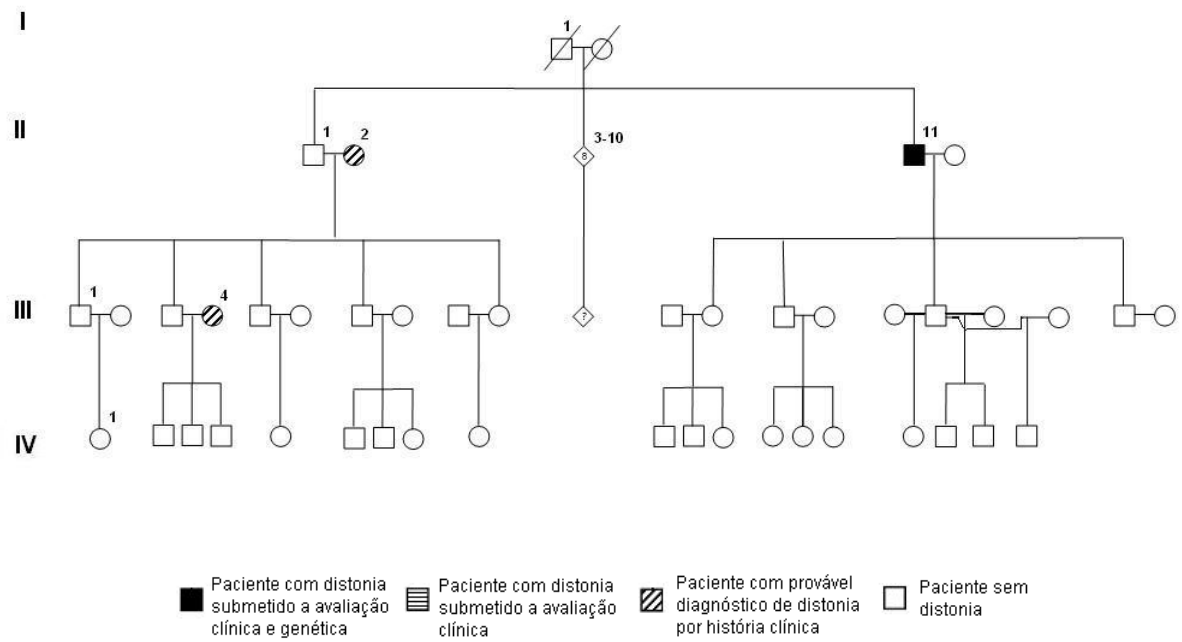
## HEREDOGRAMA DAS FAMÍLIAS 5 (A) E 6 (B)



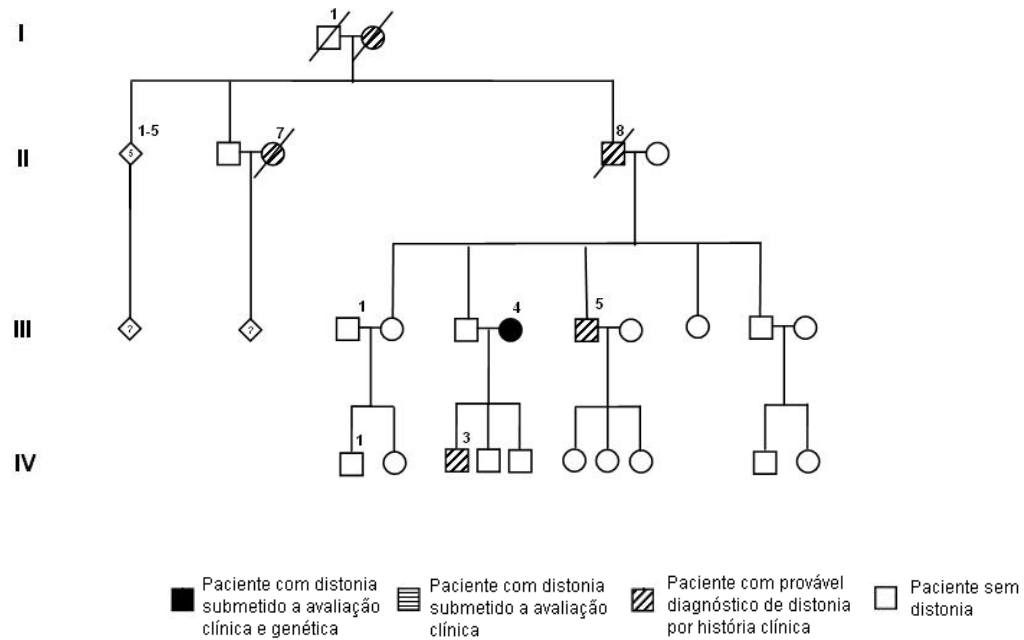
## HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 7



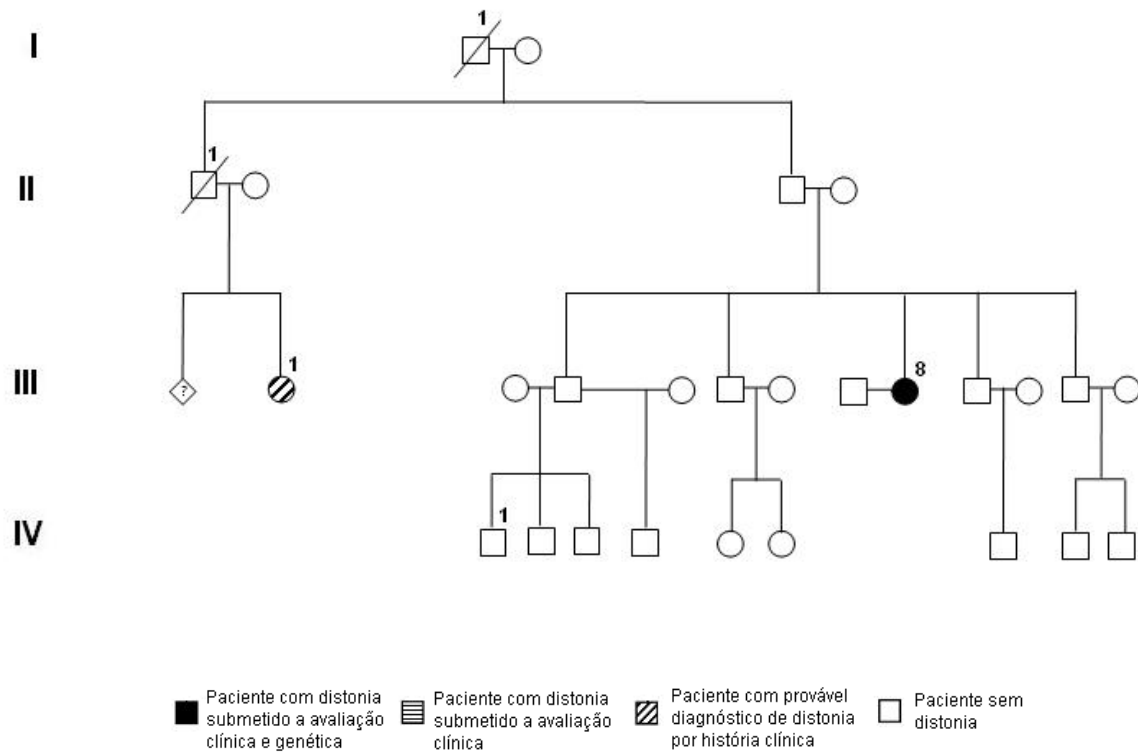
HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 8



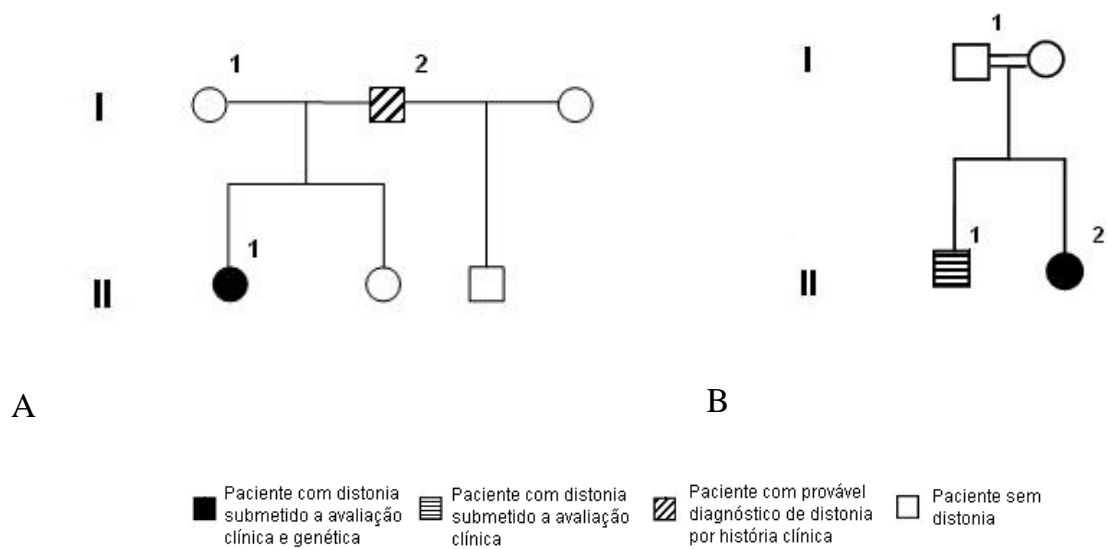
HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 9



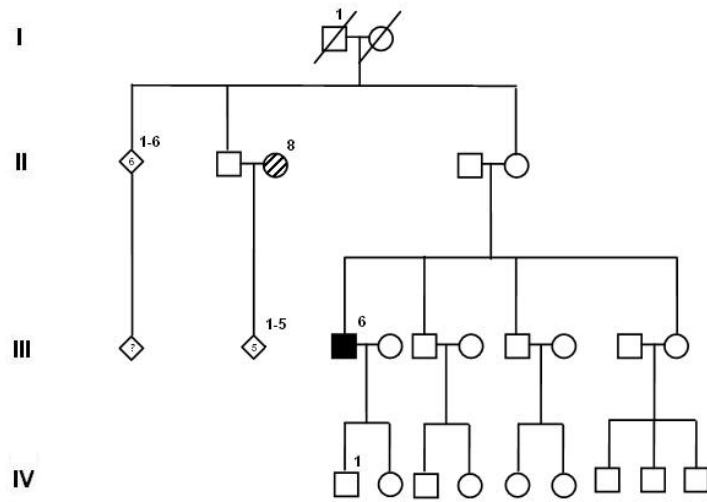
## HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 10



## HEREDOGRAMA DAS FAMÍLIAS 11 (A) E 12 (B)

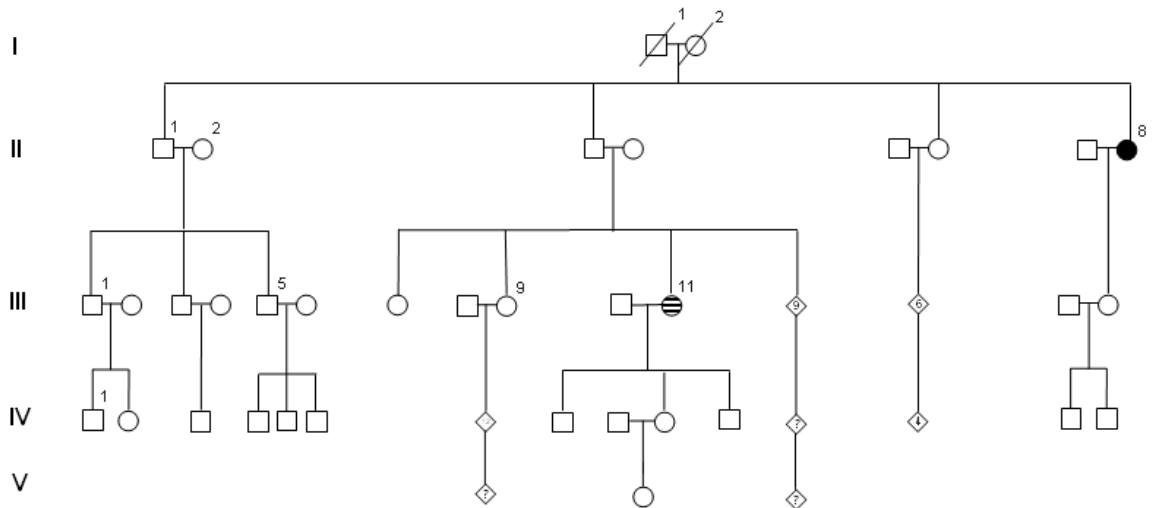


HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 13



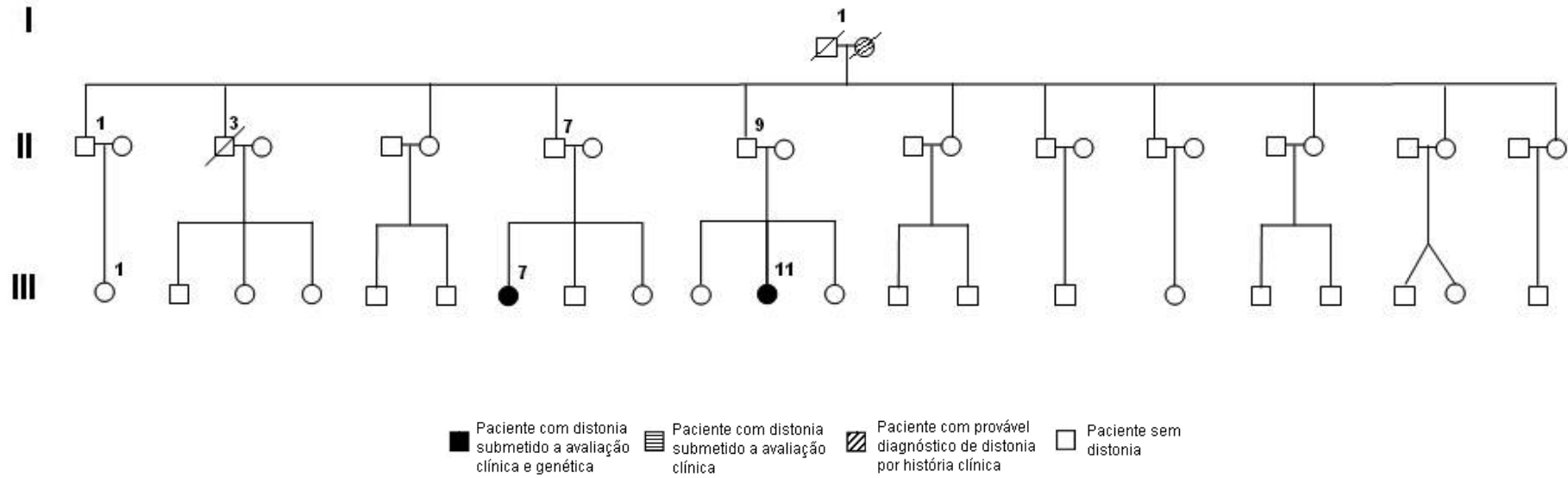
Paciente com distonia submetido a avaliação clínica e genética
  Paciente com distonia submetido a avaliação clínica
  Paciente com provável diagnóstico de distonia por história clínica
  Paciente sem distonia

HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 16



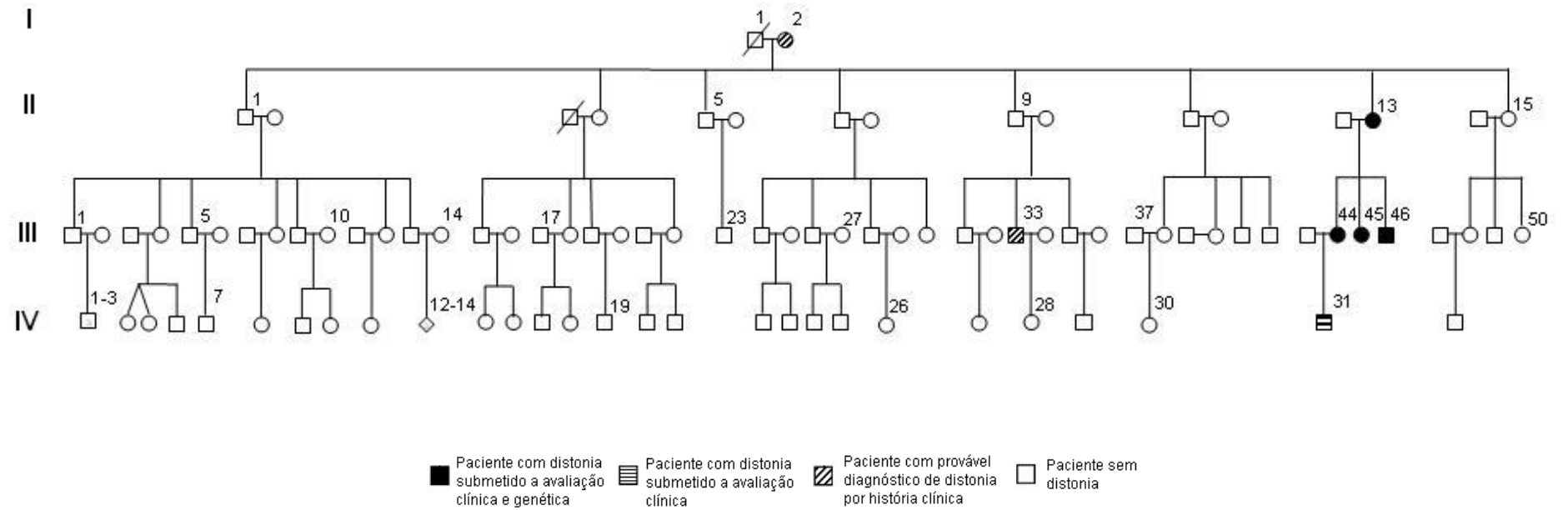
Paciente com distonia submetido a avaliação clínica e genética
  Paciente com distonia submetido a avaliação clínica
  Paciente com provável diagnóstico de distonia por história clínica
  Paciente sem distonia

## HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 14





## HEREDOGRAMA DA FAMÍLIA 15



PACIENTES COM DISTONIA CERVICAL NÃO SUBMETIDOS À ANÁLISE GENÉTICA

Paciente	História familiar	Tipo de distonia	Idade de início dos sintomas	Tempo de evolução dos sintomas	TWSTRS
1	esporádico	Focal	15 anos	2 anos	8
2	esporádico	Focal	32 anos	2 anos	21
3	esporádico	Segmentar (Início cervical evoluindo para MMSS)	23 anos	5 anos	22
4	Família-8 Irmã e sobrinha com distonia cervical e oromandibular	Segmentar (Cervical, laringe e síndrome de Meige)	58 anos	2 anos	22
5	esporádico	Generalizada (Cervical, MMSS e axial)	30 anos	6 anos	17
6	esporádico	Focal	66 anos	6 anos	5

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS DISTONIAS ASSOCIADAS ÀS MUTAÇÕES NO GENE *THAP1*

Nome da Mutação	Nomenclatura (Proteína)	Éxon	Região da Proteína	Local de início	Crânio- cervical	Idade de início	Forma mais comum	Referência
<b>Mutação frameshift</b>								
<b>Ins/Del</b>								
c.135_139delinsGGGTTT A	p.Phe45LeufsX28	2	Domínio THAP	MMSS (~50%)	~80%	2-49	Generalizada	Fuchs et al., 2009; Bressman et al., 2009
<b>Mutação missense</b>								
c.1A>G <sup>1</sup>	p.Met1?	1	Domínio THAP	MMII	-	14-19	Generalizada	1-De Carvalho Aguiar et al., 2010
c.1A>G + 10A>T <sup>2</sup>								2 Lohmann et al., 2012-
c.16T>C	p.Ser6Pro	1	Domínio THAP	pescoço	100%	13-20	Focal	Clot et al., 2011
c.17C>T	p.Ser6Phe	1	Domínio THAP	MMSS	100%	20	Generalizada	Houlden et al., 2010
c.23A>G	p.Tyr8Cys	1	Domínio THAP	MMII	0%	adolesc.	Generalizada	Houlden et al., 2010
c.25G>T	p.Gly9Cys	1	Domínio THAP	MMSS	100%	8-18	Multifocal	Xiao et al., 2010
c.36C>A	p.Asn12Lys	1	Domínio THAP	-	-	-	-	Bressman et al., 2009
c.38G>A	p.Arg13His	1	Domínio THAP	MMSS	100%	6	Generalizada	Zittel et al., 2010, Lohmann et al., 2012
c.46A>G	p.Lys16Glu	1	Domínio THAP	pescoço	100%	11	Generalizada	Lohmann et al., 2012
c.50A>G	p.Asp17Gly	1	Domínio THAP	pescoço	100%	43	Focal	Xiao et al., 2010
c.61T>A	p.Ser21Thr	1	Domínio THAP					Bressman et al., 2009
c.62C>G	p.Ser21Cys	1	Domínio THAP	MMSS pescoço	50%	7-12	Generalizada	Dobricic et al., 2013
c.68A>C	p.His23Pro	1	Domínio THAP	MMSS	100%	9	Segmentar	Lohmann et al., 2012
c.70A>G	p.Lys24Pro	1	Domínio THAP	pescoço	100%	8	Generalizada	Lohmann et al., 2012
c.77C>T	p.Pro26Leu	2	Domínio THAP	MMSS	100%	33	Segmentar	Lohmann et al., 2012
c.77C>G	p.Pro26Arg	2	Domínio THAP	face	100%	17	Focal	Houlden et al., 2010
c.81T>A	p.Leu27Leu	2	Domínio THAP	MMSS	0%	60	Segmentar	Paisan-Ruiz et al., 2009
c.85C>T		2	Domínio THAP	laringe	100%	36	Segmentar	Dobricic et al., 2013
c.86G>A	p.Arg29Gln	2	Domínio THAP	MMSS	100%	9-14	Generalizada	Paisan-Ruiz et al., 2009

Nome da Mutação	Nomenclatura (Proteína)	Éxon	Região da Proteína	Local de início	Crânio- cervical	Idade de início	Forma mais comum	Referência
c.86G>C	p.Arg29Pro	2	Domínio THAP	pescoço	-	-	-	Bressman et al.,2009
c.89C>G	p.Pro30Arg	2	Domínio THAP	MMSS	50%	8-15	Generalizada	Jech et al., 2011
c.95T>A	p.Leu32His	2	Domínio THAP	MMII	100%	5-6	Generalizada	Schneider et al.,2011
c.115G>A	p.Ala39Thr	2	Domínio THAP	-	-	-	-	Bressman et al.,2009
c.161G>A	p.Cys54Tyr	2	Domínio THAP	-	-	-	-	Gavarini et al.,2010
c.161G>T	p.Cys54Tyr	2	Domínio THAP	pescoço	100%	20	Generalizada	Cheng et a., 2012
c.169C>A	p.His57Asn	2	Domínio THAP	MMII	100%	infância	Generalizada	Söhn et al., 2010
c.176C>T	p.Thr59Ile	2	Domínio THAP	MMSS	100%	6	Generalizada	Groen et al., 2010
c.208A>C	p.70	2	Domínio THAP	face	0%	64	Focal	Xiromerisiou et al., 2013
c.213A>G	p.Leu71Leu	2	Domínio THAP	pescoço	100%	54	Segmentar	Groen et al., 2010
c.215T>G	p.Leu72Arg	2	Domínio THAP	pescoço	100%	12	Generalizada	Clot et al.,2010
c.224A>T	p.Asn75Ile	2	Domínio THAP	pescoço	100%	21	Segmentar	Cheng et al., 2010
c.238A>G	p.Ile80Val	2	Domínio THAP	pescoço	100%	41	Focal	Lohmann et al., 2012
c.241T>C	p.Phe81Leu	2	Domínio THAP	-	-	-	-	Fuchs et al., 2009
c.247T>C	p.Cys83Arg	2	Domínio THAP	pescoço	100%	34	Focal	Söhn et al., 2010
c.266A>G	p.Lys89Arg	2	Domínio THAP	-	-	-	-	Bressman et al.,2009
c.267G>A	p.Lys89Lys/ Phe25fs53X	2	Domínio THAP	pescoço	100%	21	Segmentar	Cheng et al., 2012
c.339T>C	p.Asp113Asp	3	-	pescoço	100%	17	Generalizada	Cheng et al., 2012
c.395T>C	p.Phe132Ser	3	-	laringe	0	51	Focal	Xiao et al.,2010
c.407A>G	p.Asn136Ser	3	Região rica em prolina	MMSS	100%	57	Segmentar	Houlden et al.,2010
c.408C>G	p.Asn136Lys	3	-	MMII, pescoço	100%	9-12	Generalizada	Groen et al., 2010
c.410A>G	p.Tyr137Cys	3	-	pescoço	100%	?	Segmentar	Söhn et al., 2010
c.427A>G	p.Met143Val	3	Domínio em mola	pescoço	100%	46	Focal	Söhn et al., 2010
c.446T>C	p.Ile149Thr	3	Sequência de localização nuclear	MMII	50%	51-53	Generalizada	Xiao et al.,2010, Van Gerpen et al., 2010
c.449A>C	p.His150Pro	3	Sequência de localização nuclear	pescoço	100%	22	Segmentar	Cheng et al., 2010

Nome da Mutação	Nomenclatura (Proteína)	Éxon	Região da Proteína	Local de início	Crânio- cervical	Idade de início	Forma mais comum	Referência
c.489C>G	p.Leu163Leu	3	Domínio em mola	face	0	65-67	Segmentar	Song et al., 2011
c.495C>T	p.Thr165Thr	3	Domínio em mola	pescoço	100%	50	Focal	Groen et al., 2010
c.496G>A	p.Ala166Thr	3	Domínio em mola	laringe MMSS	0	24-62	Focal	Xiao et al.,2010, Dobricic et al., 2013
<b>c.506G&gt;A</b>	<b>p.Arg169Gln</b>	<b>3</b>	<b>Domínio em mola</b>	<b>MMII</b> <b>MMSS</b>	<b>100%</b>	<b>3-6</b>	<b>Generalizada</b>	<b>Houlden et al.,2010</b> <b>PRESENTE ESTUDO</b>
c.508T>C	p.Cys170Arg	3	Domínio em mola	MMSS	100%	10	Segmentar	Bonetti et al., 2009
c.513T>C	p.Leu177Pro	3	Domínio em mola	-	-	-	-	Newmann et al., 2013
c.521A>G	p.Glu174Gly	3	Domínio em mola	pescoço	100%	19	Segmentar	Song et al., 2011
c.539T>C	p.Leu180Ser		Domínio em mola	pescoço	100%	25	Segmentar	Cheng et al., 2012
c.559C>A	p.Gln187Lys	3	Domínio em mola	pescoço	100%	53	Focal	Xiao et al.,2010
c.574G>A	p.Asp192Asn	3	Domínio em mola	pescoço	100%	19	Focal	Söhn et al., 2010
c.-32C>T	?		-	MMSS	0	33	Focal	Lohmann et al., 2012-
c.-220C>T	?		-	vários	50%	26-41	Segmentar	Dobricic et al., 2013
<b>Mutação nonsense</b>								
c.7C>T	p.Gln3X	1	Domínio THAP	laringe	100%	8	Generalizada	Houlden et al.,2010
c.71+9C>A	?	1	Domínio THAP	pescoço ou face	100%	25-66	Focal	Xiao et al.,2010
c.85C>T	p.Arg29X	2	Domínio THAP	-	-	-	-	Bressman et al.,2009
c.150T>G	p.Tyr50X	2	Domínio THAP	MMSS	100%	16	Segmentar	Houlden et al.,2010
<b>c.289C&gt;T</b>	<b>p.Gln97X</b>	<b>3</b>	<b>Região rica em prolina</b>	<b>MMSS</b>	<b>100%</b>	<b>6-22</b>	<b>Generalizada</b>	<b>PRESENTE ESTUDO</b>
c.370C>T	p.Gln124X	3	-	MMII	100%	gestação	Generalizada	Söhn et al., 2010
<b>Pequenas deleções out-of-frame</b>								
c.2delT	p.Met1?	1	Domínio THAP	-	-	-	-	Bressman et al.,2009
c.20_33del	p.Ala7GluufsX23	1	Domínio THAP	MMII	100%	9	Segmentar	Clot et al.,2011
c.63_66delITTTc	p.Phe22fsX71	2	Domínio THAP	MMSS	100%	12	Segmentar	Cheng et al., 2012
c.174delT	p.Phe58LeufsX15	2	Domínio THAP	face	100%	20	Segmentar	Houlden et al.,2010
c.197_198delAG	p.Glu66ValfsX19	2	Domínio THAP	-	-	-	-	Söhn et al., 2010

Nome da Mutação	Nomenclatura (Proteína)	Éxon	Região da Proteína	Local de início	Crânio- cervical	Idade de início	Forma mais comum	Referência
c.236delC	p.Thr79LysfsX41	2	Domínio THAP	MMSS	100%	-	Segmentar	Houlden et al.,2010
c.377_378delCT	p.Pro126ArgfsX2	3		MMSS	100%	4-7	Generalizada	Blanchard et al.,2011
c.388_389delTC	p.Val131PhefsX3	3		MMII pescoço/ MMSS	100%	9-34	Generalizada	Djarmati et al., 2009 Söhn et al., 2010
c.389_390delCA	p.Ser130CysfsX133	3		MMSS	100%	15	Generalizada	Miyamoto et al., 2012
c.436_443del	p.Arg146AspfsX9	3	Domínio em mola	face	100%	12	Generalizada	Clot et al.,2011
c.460delC	p.Gln154SerfsX27	3	Sequência de localização nuclear	-	-	-	-	Bressman et al.,2009
c.474delA <sup>b</sup>	p.Lys158AsnfsX23	3	Sequência de localização nuclear	MMSS	100%	10	Segmentar	Djarmati et al., 2009
c.570delA	p.Asp191ThrfsX9		Domínio em mola	pescoço	100%	49	Focal	Lohmann et al., 2012
<b>Pequenas deleções <i>in-frame</i></b>								
c.207_209delCAA	p.Asn69_Asn69del	2	Domínio THAP	vários	100%	7-13	Generalizada	Clot et al.,2011, Groen et al., 2010
<b>Pequenas inserções <i>out-of-frame</i></b>								
c.214_215insA	p.Leu72fsX86	2	Domínio THAP	pescoço	100%	26	Focal	Song et al., 2012
c.514dup	p.Arg172LysfsX7	3	Domínio em mola	MMSS	100%	9	Segmentar	Blanchard et al.,2011
<b>Pequenas inserções <i>in-frame</i></b>								
c.109_132dup	p.Glu37_Ans44dup	2	Domínio THAP	pescoço	100%	12	Generalizada	Dobricic et al., 2013

Camargo, Carlos Henrique Ferreira

Avaliação clínica e estudo dos genes *DYT1* e *DYT6* em 88  
pacientes com distonia cervical; 2013

173 f.

Orientador: Prof. Dr. Hélio Afonso Ghizoni Teive

Tese (Doutorado)- Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências  
da Saúde. Pós-graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde

1 - Distonia. 2 - Distonia cervical. 3 - Genética 4 – DYT1 5 – DYT6  
I.Teive, Hélio Afonso Ghizoni