

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

ALEX EDUARDO DA SILVA

Avaliação de mutações nos genes *PMP22*, *GJB1*, *MPZ* e *LITAF* em
pacientes com diagnóstico de polineuropatia inflamatória desmielinizante
crônica.

RIBEIRÃO PRETO

2019

ALEX EDUARDO DA SILVA

Avaliação de mutações nos genes *PMP22*, *GJB1*, *MPZ* e *LITAF* em pacientes com diagnóstico de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica.

“Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)”

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurologia, do Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Neurologia.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Marques Junior

RIBEIRÃO PRETO

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Silva, Alex Eduardo da

Avaliação de mutações nos genes *PMP22*, *GJB1*, *MPZ* e *LITAF* em pacientes com diagnóstico de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica. Ribeirão Preto, 2019.
134p.: il.; 30 cm

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Neurologia.

Orientador: Marques Junior, Wilson.

1. Polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica. 2. Polineuropatia hereditária. 3. Doença de Charcot-Marie-Tooth 4. *PMP22*. 5. *GJB1*. 6. *MPZ*. 7. *LITAF*. 8. Mutação.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Alex Eduardo da Silva.

Avaliação de mutações nos genes *PMP22*, *GJB1*, *MPZ* e *LITAF* em pacientes com diagnóstico de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurologia, do Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Neurologia.

Área de Concentração: Neurologia.

Aprovado em: ___/___/___

Banca Examinadora:

Prof. Dr.: Acary Souza Bulle Oliveira

Instituição: EPM/UNIFESP

Conceito: _____ Assinatura: _____

Profa. Dra.: Claudia Ferreira da Rosa Sobreira

Instituição: FMRP/USP

Conceito: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: Gerson Chadi

Instituição: FM/USP

Conceito: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: Wilson Marques Junior

Instituição: FMRP/USP

Conceito: _____ Assinatura: _____

Aos meus pais, Armando (*in memoriam*) e Maria.

Com a gratidão e o reconhecimento por todo amor com que me educaram e por tudo que fizeram para que seus filhos tivessem a oportunidade da instrução.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos ao Professor Doutor Wilson Marques Junior pelo acolhimento e orientação ao longo destes anos. Por todos os ensinamentos e lições: muito obrigado!

À Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela possibilidade de realização deste trabalho.

Aos pacientes que generosamente se dispuseram a participar deste estudo.

Aos funcionários e colegas pós-graduandos do Laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental: Sandra, Sílvia, Renato, Daiana, Silmara, Bianca e Fernanda. Meu muito obrigado pela convivência agradável, pelos ensinamentos de bancada (tornando mais fácil o aprendizado das técnicas de biologia molecular para este trabalho) e pelo auxílio na análise das mutações encontradas.

Aos colegas professores da Disciplina de Neurologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro Alfredo Leboreiro-Fernandez, José Luiz Weffort e Renata Cristina Franzon Bonnati pelo incentivo constante à continuidade de minha formação.

A todos, enfim, que contribuíram para a materialização deste trabalho: muito obrigado!

RESUMO

Silva, AE. **Avaliação de mutações nos genes *PMP22*, *GJB1*, *MPZ* e *LITAF* em pacientes com diagnóstico de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica.** 2019. 134 págs. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Introdução: Polineuropatias são doenças do sistema nervoso periférico com etiologias variadas. Entre as causas estão as etiologias inflamatória e hereditária, com prevalência de 0,67-7,7/100000 e 7,9-82,3/100000 para polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica (PIDC) e Doença de Charcot-Marie-Tooth (CMT), respectivamente. Existem poucas evidências de sobreposição entre estas duas doenças e também algumas dificuldades diagnósticas. **Objetivos:** Estudar a frequência de mutações nos genes *PMP22*, *GJB1*, *MPZ* e *LITAF* em pacientes com diagnóstico de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica, os sinais e sintomas sugestivos da sobreposição e os fatores implicados em erro de classificação da neuropatia. **Métodos:** 119 pacientes com diagnóstico de PIDC foram estudados. DNA foi isolado a partir de leucócitos de sangue periférico segundo protocolo padrão. Mutações nos genes *PMP22*, *GJB1*, *MPZ* e *LITAF* foram avaliadas através de marcadores microssatélites (para pesquisa de duplicação/deleção do gene *PMP22*) e sequenciamento direto. Achados clínicos e laboratoriais também foram estudados e comparados entre os grupos. **Resultados:** Dentre os 119 pacientes estudados, mutações foram encontradas em sete (5,9%), sendo dois pacientes com duplicação do gene *PMP22*, dois com mutações no gene *MPZ* (*P0*) e três com mutações no gene *GJB1* (*Cx32*). Concomitância entre PIDC e CMT foi verificada em quatro pacientes e em três pacientes, o diagnóstico foi mudado para CMT1 apenas por não apresentarem melhora clínica e/ou eletroneuromiográfica sustentada com o uso de tratamento imunomodulador e/ou imunossupressor. Os outros 112 pacientes não apresentaram mutações nestes genes e, portanto, tinham PIDC apenas. Idade média dos pacientes com mutações foi de 31,13±21,23 anos e de 45,16±18,70 anos para pacientes sem mutações. Ausência de história familiar, progressão rápida dos sintomas, presença de fraqueza proximal e achados atípicos na eletroneuromiografia podem ter contribuído para a confusão diagnóstica nos casos de CMT. **Conclusões:** Alguns pacientes podem desenvolver neuropatia inflamatória em associação com CMT e se beneficiam do tratamento. A neuropatia hereditária poderia predispor à neuropatia inflamatória em alguns casos, além de apresentar participação transitória de atividade inflamatória em algum momento de sua evolução em outros pacientes. Cautela deve ser dispensada àqueles pacientes com suspeita diagnóstica de PIDC que não têm os achados clássicos ou não melhoram com o tratamento, uma vez que podem apresentar outras etiologias para a neuropatia, dentre elas uma neuropatia hereditária, como a CMT.

Palavras-chave: polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica, polineuropatia hereditária, doença de Charcot-Marie-Tooth, *PMP22*, *GJB1*, *MPZ*, *LITAF*, mutação.

ABSTRACT

Silva, AE. **Mutational evaluation of *PMP22*, *GJB1*, *MPZ* and *LITAF* genes in patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy diagnosis.** 2019. 134 pages. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

Introduction: Polyneuropathies are peripheral nervous system disorders with a wide range of etiologies. Among them, inflammatory and hereditary are frequent with prevalence of 0.67-7.7/100000 and 7.9-82.3/100000, for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP) and Charcot-Marie-Tooth disease (CMT), respectively. There are a few evidences of overlapping between these two conditions and also some diagnostic difficulties. **Objectives:** To study the frequency of mutations in *PMP22*, *GJB1*, *MPZ* and *LITAF* genes in a cohort of patients diagnosed as CIDP, the signs and symptoms related to this overlapping and factors implicated in misdiagnose. **Methods:** 119 patients with CIDP diagnosis were studied. DNA was isolated from peripheral blood leucocytes. Mutations in *PMP22*, *GJB1*, *MPZ* and *LITAF* genes were analysed by polymorphic DNA markers (for *PMP22* gene duplications and deletions) and direct sequencing. Clinical and laboratory findings were also studied and compared within groups. **Results:** Among 119 patients studied, seven (5.9%) were found to harbor mutations, two *PMP22* gene duplications, two patients with *MPZ* (*P0*) mutations and three with *GJB1* (*Cx32*) mutations. We therefore diagnosed CIDP plus CMT in four patients and in three diagnosis was changed to “pure” CMT, once they did not improve with the use of immunomodulatory and/or immunosuppressive treatment. The other 112 patients did not show mutations in the screened genes, so they had CIDP. Mean age of patients with mutations were 31.13±21.23 years and 45.16±18.70 years for patients without mutations. The lack of family history, presence of proximal weakness, accelerated symptoms progression, as well as atypical findings in electrodiagnostic studies may have contributed to misdiagnose in the pure CMT cases. **Conclusions:** Some patients may develop CIDP in association with CMT and have benefit from treatment. The hereditary neuropathy could predispose to the inflammatory neuropathy in a few cases and inflammatory mechanisms could take place in CMT pathogenesis in other patients, at some point of their disease evolution. Caution should be dispensed to those patients with a suspected diagnose of CIDP who do not have the classical disease findings or do not improve with treatment, as they can have alternative etiologies for the neuropathy, among them a hereditary neuropathy as CMT disease.

Keywords: chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, hereditary polyneuropathy, Charcot-Marie-Tooth disease, *PMP22*, *GJB1*, *MPZ*, *LITAF*, mutation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação da doença de Charcot-Marie-Tooth.....	Pág. 28
Tabela 2 - Marcadores microssatélites utilizados no diagnóstico da duplicação 17p11.2-p12.....	Pág. 46
Tabela 3 - <i>Primers</i> dos genes <i>GJB1</i> , <i>LITAF</i> , <i>MPZ</i> e <i>PMP22</i> utilizados.....	Pág. 48
Tabela 4 - Protocolo da reação de PCR para o gene <i>PMP22</i>	Pág. 49
Tabela 5 - Perfil térmico da reação de PCR para o gene <i>PMP22</i>	Pág. 49
Tabela 6 - Protocolo da reação de PCR para o gene <i>LITAF</i>	Pág. 50
Tabela 7 - Perfil térmico da reação de PCR para o gene <i>LITAF</i>	Pág. 50
Tabela 8 - Protocolo da reação de PCR para o gene <i>GJB1</i>	Pág. 50
Tabela 9 - Perfil térmico da reação de PCR para o gene <i>GJB1</i>	Pág. 50
Tabela 10 - Protocolo da reação de PCR para o gene <i>MPZ</i>	Pág. 51
Tabela 11 - Perfil térmico da reação de PCR para o gene <i>MPZ</i>	Pág. 51
Tabela 12 - Banco de dados e sites utilizados.....	Pág. 55
Tabela 13 - Características clínicas dos pacientes com diagnóstico prévio de PIDC nos quais foram encontrados mutações.....	Pág. 59
Tabela 14 - Características do líquido, da eletroneuromiografia e da biópsia de nervo dos pacientes com diagnóstico prévio de PIDC nos quais foram encontradas mutações.....	Pág. 61
Tabela 15 - Quadro comparativo da evolução neurofisiológica (ENMG) da Paciente 3.....	Pág. 66
Tabela 16 - Quadro comparativo da evolução neurofisiológica (ENMG) da Paciente 4.....	Pág. 67
Tabela 17 - Quadro comparativo da evolução neurofisiológica (ENMG) do Paciente 5.....	Pág. 70
Tabela 18 - Quadro comparativo da evolução neurofisiológica (ENMG) da Paciente 7.....	Pág. 73
Tabela 19 - Achados sugestivos do diagnóstico de PIDC nos pacientes nos quais foram encontradas mutações.....	Pág. 77

Tabela 20 - Características epidemiológicas (idade da primeira avaliação, idade de início dos sintomas, gênero e cor) dos pacientes com suspeita inicial de PIDC em seguimento no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do HC-FMRP/USP, de acordo com a presença ou ausência de mutações nos genes *GJB1*, *LITAF*, *MPZ* e *PMP22*.....Pág. 78

Tabela 21- Comparação dos valores de celularidade e concentração de proteínas no líquido dos pacientes com diagnóstico final de PIDC (ou seja, sem mutação) ou com mutação *GJB1*, *LITAF*, *MPZ* e *PMP22* (CMT) em seguimento no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do HC-FMRP/USP.....Pág. 78

Tabela 22 - Comparação dos achados sugestivos de concomitância entre Doença de Charcot-Marie-Tooth e polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica nos pacientes com diagnóstico final de PIDC (ou seja, sem mutação) ou com mutação *GJB1*, *LITAF*, *MPZ* e *PMP22* (CMT) em seguimento no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do HC-FMRP/USP.....Pág. 79

LISTA DE ABREVIATURAS

A	Adenosina
Arg	Arginina
Asp	Ácido aspártico
C	Citosina
Cys	Cisteína
CMAP	potencial de ação muscular composto
CMT	Doença de Charcot-Marie-Tooth
CPK	creatinofosfoquinase
DADS	polineuropatia desmielinizante adquirida distal simétrica
DNA	ácido desoxirribonucléico
DS	Doença de Dejerine-Sottas
EFNS	<i>European Federation of Neurological Societies</i>
ENMG	Eletroneuromiografia
G	Guanina
<i>GJB1</i>	<i>Gap Junction Beta 1 gene</i>
Gln	Glutamina
HC-FMRP/USP Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo.	
IgIV	Imunoglobulina humana endovenosa
IL-6	Interleucina 6
kDa	Quilodaltons
kg	Quilogramas
LCR	Líquido céfalo-raquidiano
<i>LITAF</i>	<i>Lipopolysaccharide Induced TNF Factor gene</i>
LPS	Lipopolissacarídeo
m/s	Metros por segundo
MADSAM	Neuropatia sensitivo motora multifocal desmielinizante adquirida
Mb	<i>Mega base pairs</i> (equivale a 1000000 de pares de bases)
mg/dL	Miligramas por decilitro
mm ³	Milímetro cúbico
<i>MPZ</i>	<i>Myelin Protein Zero gene</i>
mV	Milivolt

PAS	Potencial de ação sensitivo
PCR	Reação em cadeia da polimerase (<i>polymerase chain reaction</i>)
PIDC	Polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica
<i>PMP22</i>	<i>Peripheral myelin protein-22 gene</i>
SNE	Sonda nasoenteral
T	Timina
TNF	Fator de necrose tumoral (<i>tumoral necrosis factor</i>)
Trp	Triptofano
Val	Valina
VC	Velocidade de condução
VCM	Velocidade de condução motora

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	Pág. 14
1.1 Polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica.....	Pág. 17
1.1.1 Tratamento.....	Pág. 22
1.2 Doença De Charcot-Marie-Tooth.....	Pág. 23
1.2.1 Classificação.....	Pág. 26
1.2.2 Gene <i>PMP22</i>	Pág. 31
1.2.3 Gene <i>GJB1</i>	Pág. 32
1.2.4 Gene <i>LITAF</i>	Pág. 33
1.2.5 Gene <i>MPZ</i>	Pág. 34
1.2.6 Neurofisiologia.....	Pág. 35
1.2.7 Tratamento.....	Pág. 36
1.3 Concomitância entre neuropatias hereditárias e adquiridas.....	Pág. 37
2 OBJETIVOS	Pág. 40
2.1 Objetivo geral.....	Pág. 40
2.2 Objetivos específicos.....	Pág. 40
3 MATERIAL E MÉTODOS	Pág. 41
3.1 Pacientes.....	Pág. 43
3.2 Obtenção das amostras.....	Pág. 43
3.3 Extração do DNA.....	Pág. 44
3.4 Detecção da duplicação/deleção do gene <i>PMP22</i>	Pág. 44
3.5 Detecção da duplicação com marcadores micro-satélites fluorescentes e análise semiquantitativa em sequenciador automático.....	Pág. 45
3.6 MLPA (<i>multiplex ligation-dependent probe analysis</i>).....	Pág. 45
3.7 Sequenciamento dos genes <i>PMP22</i> , <i>GJB1</i> (<i>Cx32</i>), <i>LITAF</i> e <i>MPZ</i> (<i>P0</i>)	Pág. 47
3.7.1 Seleção dos <i>primers</i>	Pág. 47
3.7.1.1 Gene <i>PMP22</i> (Proteína 22 da mielina periférica).....	Pág. 47
3.7.1.2 Gene <i>LITAF</i> (Fator alfa de necrose tumoral induzido por lipopolissacarídeo).....	Pág. 47
3.7.1.3 Gene <i>GJB1</i> (Conexina 32).....	Pág. 47
3.7.1.4 Gene <i>MPZ</i> (Proteína Zero da Mielina).....	Pág. 48
3.7.2 Reação em cadeia da polimerase.....	Pág. 49
3.7.2.1 Gene <i>PMP22</i> (Proteína 22 da mielina periférica).....	Pág. 49
3.7.2.2 Gene <i>LITAF</i> (Fator alfa de necrose tumoral induzido por lipopolissacarídeo).....	Pág. 49
3.7.2.3 Gene <i>GJB1</i> (Conexina 32).....	Pág. 50
3.7.2.4 Gene <i>MPZ</i> (Proteína Zero da Mielina).....	Pág. 51
3.7.3 Reação de sequenciamento.....	Pág. 51
3.7.4 Precipitação da reação de sequenciamento em placas.....	Pág. 52
3.7.5 Reação de eletroforese e análise das sequências.....	Pág. 52
3.7.6 Nomenclatura.....	Pág. 53
3.7.7 Bioinformática.....	Pág. 53
3.7.7.1 Estudo <i>in silico</i>	Pág. 53
3.7.7.2 Estudo de Frequência em bancos de dados populacionais.....	Pág. 54
3.7.8 Critério para sobreposição entre polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica e Doença de Charcot-Marie-Tooth e.....	Pág. 54
3.7.9 Análise estatística.....	Pág. 55

3.7.10 Considerações éticas.....	Pág. 55
4 RESULTADOS.....	Pág. 56
4.1 Caracterização da amostra.....	Pág. 56
4.2 Análise molecular e caracterização dos pacientes com mutações.....	Pág. 58
4.2.1 História clínica dos pacientes nos quais foram encontradas mutações..	Pág. 61
4.3 Caracterização dos pacientes nos quais foram excluídas mutações nos genes <i>GJB1</i> , <i>LITAF</i> , <i>MPZ</i> e <i>PMP22</i>	Pág. 74
4.4 Características sugestivas de sobreposição entre polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica e Doença de Charcot-Marie-Tooth nos pacientes que apresentaram mutações.....	Pág. 77
5 DISCUSSÃO.....	Pág. 80
5.1 Mutações encontradas no gene <i>PMP22</i>	Pág. 86
5.2 Mutações encontradas no gene <i>GJB1/Cx32</i>	Pág. 89
5.3 Mutações encontradas no gene <i>MPZ</i>	Pág. 93
5.4 Alterações encontradas no gene <i>LITAF</i>	Pág. 98
5.5 Considerações finais.....	Pág. 100
6 CONCLUSÕES.....	Pág. 102
REFERÊNCIAS	Pág. 104
ANEXOS	
Anexo A - Protocolo de coleta de dados.....	Pág. 124
Anexo B - Termo de consentimento informado PIDCXCMT.....	Pág. 130
Anexo C - Folha de Aprovação do Projeto de Pesquisa no Comitê de Ética em Pesquisa.....	Pág. 131

1 INTRODUÇÃO

As neuropatias periféricas são afecções heterogêneas em etiologia, diversas em patologia e variadas em intensidade, ocorrendo como componente de várias doenças comuns ou raras, segundo Martyn e Hughes (1997).

De acordo com Dyck (1967), uma definição ampla de neuropatia periférica deve incluir todas as desordens que afetam os nervos periféricos. Dessa forma, o sítio de envolvimento pode ser o neurônio como um todo (neuronite ou neuronopatia), as raízes (radiculopatia) ou o nervo distal (neuropatia periférica). Em algumas doenças o nervo periférico é a única estrutura afetada, enquanto em outras situações tecidos não neurais também são acometidos (SIMPSON, 1971).

As neuropatias podem representar um desafio diagnóstico e terapêutico aos médicos, de forma que uma abordagem clínica lógica é necessária para avaliação e tratamento (ENGLAND et al., 2009; SOMMER et al., 2018). Elas acometem 2,4% da população em Bombay, na Índia (BHARUCHA; BHARUCHA; BHARUCHA, 1991) alcançando até 8,0% da população geral em outros países, principalmente em maiores de 55 anos, excluindo-se as causas traumáticas (ENGLAND; ASBURY, 2004). A prevalência pode chegar a números tão altos quanto 69% em grupos específicos como, por exemplo, pacientes diabéticos (IBARRA-RAMIREZ et al., 2012).

Algumas condições podem funcionar como fatores de risco e/ou causais para as neuropatias (THOMAS, 1970). Dentre elas, destacam-se as metabólicas (diabetes mellitus), nutricionais (deficiência de vitaminas do complexo B), tóxicas (uso de alguns quimioterápicos e anti-retrovirais), compressivas (por exemplo, na síndrome do túnel do carpo) e traumáticas, inflamatórias/autoimunes e vasculares (ENGLAND; ASBURY, 2004).

Simpson (1971) considerava que menos de 50% das neuropatias avaliadas nos anos setenta do século XX alcançavam um diagnóstico etiológico primário. Essa situação tem sido modificada ao longo dos anos com o desenvolvimento de novas técnicas diagnósticas, como a pesquisa de anticorpos e os exames de biologia molecular (HARDING, 1993; PASNOOR et al., 2013), de maneira que os últimos permitem um diagnóstico mais preciso das neuropatias hereditárias, dentre as quais se encontram a doença de Charcot-Marie-Tooth (CMT), a neuropatia hereditária susceptível a compressão (HNPP), a neuropatia hereditária sensitivo-autônômica e a neuropatia

motora hereditária. Atualmente, porém, não existem recomendações em relação aos testes genéticos quando a história familiar não é clara, ou é desconhecida, e o paciente apresenta um fenótipo não característico para uma neuropatia hereditária (ENGLAND et al., 2009). Este fato assume grande importância, pois uma proporção tão alta quanto um em cada cinco (na população brasileira) a até 56,7% pacientes (em uma população japonesa) com CMT pode ter origem esporádica (MARQUES et al., 2005; YOSHIMURA et al., 2018). Estes pacientes com doença esporádica tendem a apresentar as mesmas frequências de distribuição de genes causais relacionados que os pacientes nos quais se documenta uma clara história familiar (WISE et al., 1993; ENGLAND et al., 2009).

Na Noruega, segundo Mygland e Monstand (2001), a prevalência de polineuropatias foi de 123/100000 habitantes. Dentre as principais causas destacam-se: neuropatia diabética (19%), neuropatias hereditárias (12%), neuropatias pelo álcool (10%) e PIDC (8%). Em 26% das neuropatias não se chegou a um diagnóstico etiológico.

A avaliação de 225 pacientes com neuropatia periférica em um estudo de base hospitalar realizado na Índia oriental encontrou a seguinte distribuição etiológica: Síndrome de Guillain-Barré (24,8%), neuropatia diabética (11,1%), neuropatia hereditária sensitivo-motora (7,55%), neuropatia inflamatória desmielinizante crônica (7,55%), hanseníase (4,8%), deficiência nutricional/etflica (3,55%), compressão (3,55%). Em 17,3% dos casos uma etiologia não pode ser definida (TRIVEDI et al., 2017).

No Brasil, são escassos os dados epidemiológicos populacionais em relação à frequência e distribuição das neuropatias periféricas. São encontrados, de modo geral, apenas dados de base hospitalar, o que proporciona a análise de populações muito selecionadas (FREITAS et al., 1990; MARQUES et al., 1992). Diferenças entre a distribuição etiológica em países desenvolvidos (América do Norte) e subdesenvolvidos (América do Sul) foram demonstradas por Pasnoor et al. (2013). Neste estudo, os autores verificaram a predominância de neuropatias de etiologia hereditária/degenerativa nos dois centros estudados na América do Norte, ao passo que no centro do estudo na América do Sul predominaram as etiologias diabética, infecciosa/inflamatória e sistêmica/metabólica/tóxica. As neuropatias imunomediadas e criptogênicas apresentaram proporções parecidas. Na América do Norte, 50% (107 pacientes) dos acometidos com neuropatias inflamatórias tinham PIDC e na América do

Sul, 61% (116 pacientes). No grupo das neuropatias hereditárias/degenerativas, 84% (246 pacientes) e 58% (60 pacientes) tinham a Doença de Charcot-Marie-Tooth (CMT) nestas regiões, respectivamente. Essas diferenças podem ser decorrentes dos padrões de referenciamento a especialistas, exposição desigual a doenças infecciosas e desordens hereditárias particulares em cada hemisfério.

As neuropatias periféricas devem ser suspeitadas em pacientes com sintomas sensitivos (por exemplo, dormências e/ou formigamentos), sintomas autonômicos (por exemplo: saciedade precoce, impotência, hipotensão ortostática, anormalidades na sudorese), dor neuropática (caracterizada como sensação em “queimação”, em “fincada”, em “agulhada” ou em “choque”), sintomas motores (fraqueza) e amiotrofias que podem se apresentar no mesmo indivíduo em combinações variadas (ENGLAND; ASBURY, 2004).

O sistema nervoso periférico engloba componentes autonômicos e somáticos, que por sua vez incluem nervos aferentes (sensitivos) e eferentes (motores). Embora a quantidade de fibras autonômicas seja superior ao número de fibras somáticas, sinais e sintomas de disfunção autonômica são menos frequentes que aqueles que representam disfunção dos nervos somáticos, sendo que as alterações sensitivas costumam ser percebidas mais precocemente que as motoras (BROMBERG, 2010). Costumam-se denominar sintomas sensitivos positivos aqueles que são referidos pelos pacientes como formigamentos, calor, agulhadas e choques, ao passo que os sintomas de perda de sensibilidade superficial e profunda são designados como sintomas sensitivos negativos. Os primeiros são mais ligados à etiologia inflamatória das neuropatias, ao passo que os últimos se correlacionam com as neuropatias hereditárias (FELIX; OLIVEIRA, 2010).

As neuropatias periféricas podem ser classificadas de diversas maneiras, levando-se em conta a evolução temporal, a distribuição topográfica, o tipo de sintoma/envolvimento funcional, a alteração histológica de base e a etiologia (DYCK, 1967; ENGLAND; ASBURY, 2004).

Em relação ao tempo de evolução dos sintomas, as neuropatias periféricas podem ser classificadas em agudas, subagudas e crônicas. As neuropatias inflamatórias geralmente assumem um caráter agudo ou subagudo, ao passo que as neuropatias hereditárias geralmente têm evolução crônica.

De acordo com a distribuição topográfica das alterações, as neuropatias periféricas podem ser divididas em mononeuropatias, mononeuropatias múltiplas e polineuropatias (FELIX; OLIVEIRA, 2010). Nas mononeuropatias tem-se o

acometimento isolado e não simultâneo de um nervo. Nas mononeuropatias múltiplas e polineuropatias há o acometimento simultâneo de mais de um nervo, sendo este assimétrico no primeiro caso e simétrico no caso das polineuropatias. Nas polirradiculoneuropatias há o acometimento das raízes, além dos nervos periféricos, levando a sintomas difusos, simétricos, com distribuição tanto proximal quanto distal. Nas polineuropatias e polirradiculoneuropatias geralmente se encontram sinais sensitivos e motores, ao passo que nas mononeuropatias e mononeuropatias múltiplas há uma tendência à predominância de sintomas motores (BROMBERG, 2010), embora existam exceções, como no caso da hanseníase. Tanto as neuropatias hereditárias quanto as imunomediadas geralmente assumem o fenótipo de polineuropatias, embora em algumas situações específicas possam ter apresentação assimétrica.

As neuropatias periféricas podem ser ainda classificadas de acordo com a distribuição dos sintomas clínicos (dependente do comprimento das fibras, não-dependente do comprimento da fibra e multifocal) ou com a modalidade clínica afetada (motora, sensitiva, autonômica ou combinadas).

Nas neuropatias comprimento-dependentes, a combinação de história (incluindo história familiar), exame físico, testes auxiliares e avaliação sanguínea permitem o diagnóstico etiológico em 78 a 84% dos casos (ENGLAND et al., 2009). Este é o padrão frequentemente apresentado por pacientes com etiologia hereditária, ao passo que os pacientes com neuropatias inflamatórias apresentam neuropatias não comprimento-dependentes.

Dessa forma, o diagnóstico das neuropatias periféricas se baseia em uma combinação de história clínica, achados do exame físico e métodos complementares (MCLEOD, 1995). Algoritmos têm sido propostos para auxiliar na investigação diagnóstica, tanto no caso das neuropatias inflamatórias quanto no caso das neuropatias hereditárias (BROMBERG, 2010; SOMMER et al., 2018).

1.1 Polirradiculoneuropatia inflamatória desmielinizante crônica (PIDC)

A polirradiculoneuropatia inflamatória desmielinizante crônica representa uma neuropatia adquirida, de caráter inflamatório, auto-imune, clinicamente heterogênea, grosseiramente simétrica, geralmente com comprometimento sensitivo e motor, manifestações distais e proximais, podendo assumir um caráter monofásico, remitente-recorrente ou progressivo (VALLAT; SOMMER; MAGY, 2010).

Segundo Burns (2004), Eichhorst foi o primeiro a descrever a polineurite recorrente em 1890. A partir de então, surgiram novos relatos de casos até ser reconhecida como uma afecção individualizada por Austin em 1958. A elevação de proteínas no líquido céfalo-raquidiano (LCR) foi demonstrada em 1931, e em 1956 foi apontada dramática redução da velocidade de condução nervosa em pacientes que provavelmente eram pacientes com PIDC. Dyck et al. introduziram o termo polineuropatia inflamatória crônica em 1975 ao apresentarem uma série de 53 indivíduos com a doença, definindo-a como entidade separada da polineuropatia inflamatória desmielinizante aguda. Em 1982, Dyck e colaboradores passaram a utilizar o termo polirradiculoneuropatia inflamatória desmielinizante crônica para se referirem à afecção. Os primeiros critérios diagnósticos foram propostos em 1991 (AD HOC SUBCCOMMITTE, 1991) e posteriormente revistos (VAN DEN BERGH et al., 2010).

A prevalência da PIDC varia de 0,67/100000 na região sudeste da Inglaterra (LUNN et al., 1999), passando por 1,61/100.000 no Japão (IJIMA et al., 2008), a 12/100000 habitantes em Assiut, no Egito (KANDIL et al., 2012). Em crianças a incidência é menor que 0,5/100.000 (MCLEOD et al., 1999). Nelas a doença pode se apresentar como episódios recorrentes ou lentamente progressivos de ataxia de marcha, fraqueza distal simétrica e parestesias (MCMILLAN et al., 2013).

Algumas polineuropatias crônicas podem ser erroneamente diagnosticadas como PIDC, dentre elas: polineuropatia inflamatória desmielinizante aguda (embora até 16% dos casos de PIDC em adultos e 20% em crianças possam ter apresentação aguda) (DIONNE; NICOLLE; HAHN, 2010; MCMILLAN et al., 2013), neuropatia associada a gamopatia monoclonal de significado indeterminado, neuropatia associada ao HIV, algumas formas de neuropatia diabética, neuropatia urêmica, neuropatias hereditárias (principalmente doença de Charcot-Marie-Tooth tipo 1), síndrome de POEMS (polineuropatia, organomegalia, endocrinopatia, proteína M e alterações de pele) e doença de Castleman (neuropatia paraneoplásica associada a mieloma osteoesclerótico) (DYCK; TRACE, 2018).

O diagnóstico de PIDC se baseia em uma combinação de achados clínicos, eletrofisiológicos e laboratoriais e exclusão de outras doenças que a possam mimetizar, tais como as listadas anteriormente. Para a normatização do diagnóstico, em 2005 foram propostos novos critérios pela European Federation of Neurological Societies (EFNS)/Peripheral Nerve Society (PNS), os quais foram revisados em 2010. Estes critérios admitem a ocorrência de formas típicas e atípicas da doença. A

eletro-neuromiografia (ENMG) assume importante papel na demonstração de achados compatíveis com doença desmielinizante do sistema nervoso periférico. Além disso, o exame do líquido com dissociação proteíno-citológica, a biópsia de nervo demonstrando sinais de desmielinização e/ou infiltrado inflamatório, a ressonância magnética demonstrando captação de meio de contraste por raízes ou plexos e a resposta a uma prova terapêutica com imunossuppressores ou imunomoduladores funcionam como critérios de suporte ao diagnóstico. Assim, de acordo com a combinação destes achados, os pacientes podem ser enquadrados em uma de três possíveis categorias diagnósticas de PIDC: definida, provável e possível (VAN DEN BERGH et al., 2010). Os critérios da EFNS/PNS têm sensibilidade de 81% e especificidade de 96% (RAJABALLY et al., 2009).

A doença pode ter apresentação variada, identificando-se também, além da forma clássica, pacientes com os seguintes fenótipos: forma motora pura, PIDC sensitiva ou neuropatia desmielinizante sensitiva crônica, formas mínimas e forma multifocal (Síndrome de Lewis-Sumner, neuropatia sensitivo-motora desmielinizante multifocal adquirida - MADSAM) (VALLAT; SOMMER; MAGY, 2010).

Tem sido relatada associação de PIDC com algumas doenças como diabetes mellitus, gamopatia monoclonal IgG ou IgA de significado indeterminado, gamopatia monoclonal IgM sem anticorpos contra a glicoproteína associada a mielina, infecção pelo HIV, hepatite crônica ativa, lúpus eritematoso sistêmico ou outras doenças do tecido conectivo, sarcoidose, doença da tireóide, doença inflamatória intestinal, glomerulonefrite membranosa e transplante de órgão sólido ou medula óssea (VAN DEN BERGH et al., 2010).

Embora os estudos atuais mostrem alta sensibilidade e especificidade dos critérios diagnósticos disponíveis, ainda há uma grande porcentagem de pacientes que são incorretamente diagnosticados como tendo PIDC (ALLEN; NEY; LEWIS, 2018). Isso pode ocorrer devido a não aderência dos profissionais que acompanham estes pacientes aos protocolos diagnósticos (ALLEN; LEWIS, 2015; ALLEN; GORSON; GUELINAS, 2018) e tem reflexos sobre o acompanhamento e tratamento destes pacientes.

Recentemente, Doneddu et al. (2018) verificaram ampla variação na ocorrência de definições acerca de formas atípicas da PIDC, o que conseqüentemente leva a ampla variação de sua ocorrência (1 a 49%) em diferentes séries. Dessa forma, apresentaram uma proposta de critérios diagnósticos para as formas atípicas (18% de sua série que

reuiu 460 pacientes com PIDC), além de ressaltarem que 53% dos pacientes com apresentação inicial atípica evoluíram para formas típicas de PIDC, geralmente em associação com maior duração da doença, de modo que estabeleceram um tempo de pelo menos um ano de observação para a definição da forma atípica.

Embora se pense que tanto mecanismos humorais quanto celulares estejam envolvidos na gênese de PIDC, o estudo de suas bases imunológicas não tem demonstrado resultados universais até o momento, prevalecendo achados de auto-anticorpos em alguns grupos de pacientes, o que pode se correlacionar com a heterogeneidade na patogênese da doença (ROGGENBUCK et al, 2018). Ainda não se demonstrou a existência de um marcador biológico distinto para a doença (WARE et al., 2014). Kwa et al. (2001) não encontraram presença de anticorpos contra PMP22, P0 (MPZ) e Cx32 no soro de pacientes com neuropatias inflamatórias desmielinizantes (PIDC e síndrome de Guillain-Barré). Já Diederich et al. (2018), observaram presença de ativação específica de células T contra os epítotos P0 180-199 da mielina em pacientes com a forma sensitiva de PIDC. Anticorpos como IgG4 anti-NF155 (FUJITA et al., 2018), anti-CNTN1 (MIURA et al., 2015) e anti-NF186 (DIEDERICH et al., 2018), que são dirigidos contra proteínas presentes nas regiões nodais e paranodais, têm sido recentemente descritos em alguns pacientes e seu papel na fisiopatologia da doença, participando de alterações como bloqueios de condução, e implicações na resposta terapêutica são cada vez mais conhecidas.

Hu et al. (2018) demonstraram em uma meta-análise que a presença de IgG4 anti-NF-155 poderia ser um parâmetro específico mas não sensível para PIDC, sendo que estes pacientes tendem a ter mais ataxia e tremor, além de mais frequentemente poderem apresentar envolvimento do sistema nervoso central e pior resposta ao tratamento com imunoglobulina (IgIV). Pacientes com IgG4 anti-CNTN1 poderiam apresentar doença com início e progressão mais rápidos, além de pior resposta ao tratamento com imunoglobulina e uma melhor resposta ao tratamento com corticosteróides (MIURA et al., 2015). Já no estudo de Diederich et al. (2018), pacientes com anti-NF 186 eram mais prováveis de terem formas mais assimétricas da doença, como a MADSAM.

Como não existe um teste diagnóstico específico para PIDC, se a neuropatia é desmielinizante e outras causas de neuropatia forem excluídas, o paciente recebe o diagnóstico presuntivo de PIDC, mesmo não tendo preenchido os critérios diagnósticos, e é tratado de acordo (LATOVA, 2014), uma vez que a resposta a uma prova terapêutica

com imunossupressores/imunomoduladores configura um critério e suporte ao diagnóstico.

PIDC é uma condição rara em crianças, com prevalência de 0,48/100.000 na região de New South Wales, na Austrália, em 1999 (McLeod et al, 1999), sendo responsável por 3% das polineuropatias em crianças (Shabo et al, 2007). Os critérios diagnósticos não apresentam diferenças fundamentais em relação aos usados para os adultos, incluindo ENMG, a partir dos quatro anos de idade, quando a mielinização do sistema nervoso periférico está completa (Jani-Acsadi et al., 2015). Abaixo dessa idade, deve-se atentar para as características específicas de cada etapa do desenvolvimento, o que pode dificultar o diagnóstico de desmielinização (Haliloğlu et al., 2016). Embora possam ser utilizados os mesmos critérios diagnósticos empregados para adultos, existem critérios específicos, como o proposto por Nevo e Topaloglu (2002), para esta faixa etária.

Crianças são mais propensas que os adultos a apresentarem rápida progressão da doença, ou seja, alcançar o nadir antes de oito semanas. Pode haver diferença em sinais e sintomas, como presença de comprometimento de nervos cranianos e sintomas sensitivos, além da forma de progressão (progressiva ou remitente) de acordo com a velocidade de instalação da doença. Crianças que apresentam instalação rápida da doença (nadir menor ou igual a quatro semanas) tendem a mostrar mais sinais sensitivos, envolvimento de nervos cranianos e evolução recorrente, ao passo que ataxia e evolução progressiva são mais frequentes em crianças com instalação lenta da doença (nadir maior que oito semanas). Não há predileção por sexo em crianças (Rossignol et al., 2007; McMillan et al., 2013; Cabasson et al., 2015).

Em crianças, essa condição representa um desafio diagnóstico. Haliloğlu et al (2016) encontraram três crianças com diagnóstico de neuropatia hereditária entre 23 crianças com diagnóstico inicial de PIDC e Silval et al (2018) observaram duas crianças com neuropatia hereditária em um grupo de trinta pacientes pediátricos inicialmente diagnosticados como PIDC. Dessa forma, o diagnóstico de PIDC em crianças necessita de frequente reavaliação. As causas mais frequentes para reavaliação do diagnóstico no estudo de Silval et al. (2018) foram: início dos sintomas em idade precoce, amiotrofias ou contraturas preexistentes, comorbidades associadas (como atraso de desenvolvimento, epilepsia, deleções cromossômicas, declínio cognitivo), anormalidades laboratoriais (aumento de CPK e perfil metabólico alterado), resposta pobre ou ausência de resposta a IgIV.

1.1.1 Tratamento

Em uma revisão realizada por Nobile-Orázio et al. (2017), os autores encontraram uma taxa de resposta a esteróides, plasmaférese e imunoglobulina em cerca de 50-70% dos pacientes com PIDC para cada um destes tratamentos. Além disso, cerca de 50% dos pacientes que não respondiam inicialmente a um desses tratamentos, respondiam ao segundo tratamento empregado, levando a melhora em 80% dos pacientes relatados.

Existem algumas diferenças na resposta à terapia entre pacientes com PIDC quando se leva em consideração as formas típicas e atípicas. Pacientes com neuropatia adquirida distal simétrica e com síndrome de Lewis e Sumner tendem a apresentar uma menor taxa de resposta aos tratamentos usualmente instituídos (DONEDDU et al., 2018)

A escolha do tratamento inicial para PIDC deve levar em consideração a disponibilidade, a eficácia, o custo e os efeitos colaterais de cada uma dessas terapias. Na Itália, o custo anual do tratamento de manutenção com imunoglobulina, dependendo do peso do paciente e da dose empregada, varia de 30.000,00 a 80.000,00 Euros, ao passo que o custo do uso de corticóide oral ou intravenoso no mesmo período não chega a 1.000,00 Euros (NOBILE-ORÁZIO et al., 2107).

A plasmaférese, embora considerada igualmente efetiva quando comparada a imunoglobulina e corticosteróide, geralmente é empregada como um tratamento de terceira linha. Isso se deve ao fato de ser mais invasiva e ter mais complicações relacionadas à dificuldade de acesso venoso, ao uso de citrato e alterações hemodinâmicas (CODRON et al., 2017).

Em relação a outros imunossuppressores ou imunomoduladores, Mahdi-Rogers et al. (2017), em uma revisão sistemática, avaliaram estudos randomizados com evidências de baixa qualidade que não demonstraram benefícios significativas quanto ao uso de azatioprina e interferon beta 1, e um estudo randomizado de qualidade moderada que não mostrou benefício significativo de uma dose baixa de metotrexato para o tratamento de PIDC. No entanto os autores ponderam que nenhum destes estudos foi grande o suficiente para excluir um efeito pequeno ou moderado destas drogas no tratamento de pacientes com PIDC.

Nas crianças, as taxas de sucesso terapêutico com o uso de imunoglobulina endovenosa em altas doses e corticosteróides em pulso endovenoso ou oral com

desmame lento são muito parecidas com as dos adultos (68% e 100%, em qualquer fase da doença). Essa taxa de sucesso no tratamento é menor para a plasmaférese (16%). Raramente é necessário o uso de outros imunossupressores, como a azatioprina ou o micofenolato de mofetila. Dessa forma, o uso de imunoglobulina endovenosa é o tratamento de primeira linha preferido por alguns autores (MCMILLAN et al., 2013; WARE et al., 2014).

1.2 Doença de Charcot-Marie-Tooth

A doença de Charcot-Marie-Tooth, inicialmente conhecida como atrofia muscular peroneal, foi descrita em 1886 de maneira independente por Charcot e Marie, na França, e Tooth, na Inglaterra (WANG; YIN, 2015). Uma forma de neurite intersticial hipertrófica, grave e de início na infância, foi descrita por Dejerine e Sottas nessa mesma época. Harding e Thomas (1980) demonstraram a presença de dois grandes grupos: um com características hipertróficas na biópsia e redução da velocidade de condução motora do nervo mediano ($<38\text{m/s}$), denominada de forma mielínica, e outro grupo com evidência de degeneração axonal na biópsia e velocidade de condução motora normal ($\text{VCM}>38\text{m/s}$), denominada de forma axonal. O grupo desmielinizante foi classificado como neuropatia hereditária sensitivo-motora tipo I, enquanto o grupo axonal o foi como neuropatia hereditária sensitivo-motora tipo II.

Clinicamente, observa-se inicialmente fraqueza progressiva associada a atrofia da musculatura distal das pernas. Em geral, a progressão em direção aos músculos proximais ocorre de forma lenta ao longo de vários anos. Algumas formas graves podem apresentar hipotonia desde o nascimento. Sinais bastante característicos e que se correlacionam com essa progressão lenta da fraqueza são: o aspecto em garrafa de champanhe invertida dos membros inferiores e a ocorrência de deformidades ósseas e retrações tendíneas, resultando em pés cavos, dedos em martelo e escoliose. As alterações sensitivas geralmente são do tipo negativo (hipoestesia) e podem aparecer dores decorrentes das alterações osteo-tendíneas (HARDING; THOMAS, 1980; GARCIA, 1999). O comprometimento das regiões distais dos membros superiores ocorre mais tardiamente. Podem ser encontradas ainda, fraqueza proximal, alterações auditivas, paralisia de cordas vocais e paralisia diafragmática, embora estes achados ocorram em baixa frequência e se liguem a algumas mutações em especial (VALLAT; MATHIS; FUNALOT, 2013).

Constitui-se na alteração neuromuscular hereditária mais comum, com prevalência alcançando até 1:1213 a 1:2500 (BRAATHEN et al., 2010; Skre, 1974). Braathen et al. (2010) encontraram uma frequência muito próxima entre CMT1 e CMT2 em seu estudo na população de Akershus Count, na Noruega. Na Finlândia, Martilla et al. (2017) encontraram prevalência de 34,6:100.000 habitantes, sendo mais frequente a forma de CMT2. Na Dinamarca, em um estudo com base em registro nacional de dados, Vaeth et al. (2017) encontraram uma prevalência de 22,5:100.000 habitantes, sendo a incidência geral calculada em 0,98:100.000 pessoas-ano, atingindo 1,12:100.000 pessoas-ano para homens e 0,85:100.000 pessoas-ano para mulheres, observando-se um aumento de 4,4 vezes na incidência em um período de 20 anos de acompanhamento, possivelmente em decorrência da melhoria do diagnóstico. A mortalidade no grupo de pacientes com CMT foi 36% maior que na população geral, tendo como característica o início mais precoce da doença, possivelmente em decorrência do acúmulo de comorbidades ou fragilidade, embora os autores considerem que esta cifra possa estar superestimada, uma vez que não foi realizada busca ativa de casos a partir dos casos índice, o que pode ter feito com que casos leves ou outros casos em famílias com diagnóstico já estabelecido não fossem diagnosticados. Sabe-se que algumas formas de CMT têm evolução mais grave, com início precoce dos sintomas e eventualmente acometimento diafragmático, no entanto essas formas são menos frequentes. Outros autores consideram que a CMT não afeta a sobrevida do paciente (SKRE, 1974).

A idade de início dos sintomas pode ser variável, entretanto as alterações neurofisiológicas podem estar presentes na infância. Embora em alguns casos possa haver atraso na aquisição dos marcos motores, a doença geralmente se manifesta na segunda ou terceira década de vida. A evolução da doença é insidiosa na grande maioria dos casos (SKRE, 1974). A apresentação geralmente é sob a forma de uma neuropatia simétrica, sensitivo-motora, comprimento-dependente.

Thomas, em 1970, já chamava a atenção para o fato de que as neuropatias hereditárias são mais comuns do que geralmente apreciado, pois muitas causas de pés cavos idiopáticos e outras deformidades dos pés seriam devidas a elas.

É interessante que a despeito da alta penetrância destas mutações entre grandes famílias com neuropatias hereditárias (SKRE, 1974), estima-se que apenas 20% dos membros afetados procurem atenção médica por causa dos sintomas, os quais podem surgir apenas na idade adulta. Assim, é importante, segundo Bromberg (2010), buscar informações que possam reforçar que uma neuropatia crônica pode ter uma base

familiar, dentre elas: dificuldade para correr, praticar esportes ou atividades militares; pés cavos; dedos em martelo; “mãos de palhaço”; amiotrofias; úlceras nos pés; uso de bengalas; diagnóstico incorreto de artrite ou poliomielite; dificuldade para caminhar na ponta dos pés ou calcanhares e dificuldade para se elevar a partir da posição de joelhos.

Assim, início da polineuropatia na juventude, história familiar positiva e evolução lentamente progressiva sugerem a presença de uma neuropatia hereditária (RAMCHANDREN, 2017). O ideal é que se obtenha um heredograma que englobe três ou mais gerações da família, sendo este um dos passos mais importantes para se suspeitar da doença. Também é importante inquirir-se sobre consanguinidade e sobre casamentos entre grupos populacionais isolados.

A transmissão da doença pode ocorrer de forma autossômica dominante ou recessiva, ligada ao sexo, dominante ou recessiva, ou ainda surgir na forma “de novo” sendo que esses casos esporádicos podem atingir até 49% em algumas séries (SKRE, 1974; MILLEY et al., 2018). Karadima et al. (2011) observaram 20% de casos esporádicos em seu estudo em pacientes gregos, dentre os quais 11,6% tinham duplicação do gene *PMP22*. Esses mesmos autores revisaram a prevalência da duplicação utilizando a técnica do MLPA (que não foi feita em seu estudo de 2011) e encontraram a duplicação do *PMP22* em 30% dos casos não familiares (KARADIMA et al., 2014).

Lupski e Garcia (1992) referem que a expressão fenotípica de CMT1 é idade dependente e que a penetrância é quase completa. Lembram ainda que a velocidade de condução nervosa anormal pode ser identificada nos afetados vários anos antes de se manifestarem os sintomas clínicos.

Milley et al. (2018) encontraram 7,8% dos pacientes com paralisia de nervos cranianos (facial, glossofaríngeo). Também observaram comprometimento do nervo laríngeo recorrente em 5,2%, comprometimento auditivo sensorineural bilateral em 4,9%, disfunção imune em 2,9%, envolvimento do sistema nervoso autonômico em 1,6%, cataratas em 1,3% e atrofia óptica em 0,7% dos pacientes estudados.

A doença apresenta grande variabilidade clínica, inclusive sendo observadas diferenças de apresentação dos sintomas mesmo entre gêmeos monizogóticos. A base biológica responsável por este fenômeno ainda não é conhecida (THOMAS et al, 1997; SINKIEWICZ-DAROL et al., 2015).

A descrição de uma forma infantil foi realizada por Dejerine e Sottas, em 1893. CMT é o tipo mais comum de afecção hereditária de nervos em crianças, constituindo

20% dos casos vistos em serviços pediátricos de doença neuromuscular. Embora CMT seja comum, conhece-se muito pouco sobre a taxa de progressão da fraqueza muscular e sobre o envolvimento seletivo dos diferentes grupos musculares na infância. (Burns et al., 2007). Ouvrier e Nicholson (1995) estimam que cerca de 30% dos pacientes pediátricos com doenças neuromusculares tem alguma forma de neuropatia periférica, sendo a maioria (90%) devido a causas genéticas. CMT representa o maior grupo etiológico, com prevalência estimada de 0,5 a 1:2500, resultando que 1 em cada 5 pacientes com CMT teve início dos sintomas na infância, segundo Wilmshurst e colaboradores (2003). De acordo com observações de Jani-Acsadi e colaboradores (2015) há um atraso de cerca de 10 anos no diagnóstico destes pacientes, mesmo em famílias com casos de CMT.

A neuropatia na CMT é comprimento dependente, ou seja, nervos mais longos são afetados mais precoce e intensamente. Assim os sinais iniciais são fraqueza e amiotrofias distais nos membros inferiores inicialmente e, posteriormente, dos membros superiores com a progressão da doença. Em crianças, os sinais clínicos iniciais podem ser atraso no desenvolvimento motor e marcha digitígrada, como tropeços e quedas. Estes sinais não são específicos e podem ocorrer em outras condições neurológicas, como paralisia cerebral e miopatias. Crianças maiores podem apresentar corrida lentificada, lesões de tornozelos e inabilidade nos esportes. Os sinais de acometimento de mãos podem não ser notados até que a criança tenha algum problema com o vestuário ou a escrita na escola (Jani-Acsadi et al., 2015).

1.2.1 Classificação

Inicialmente, a doença foi dividida de acordo com o padrão de herança e a velocidade de condução motora no nervo mediano (HARDING; THOMAS, 1980).

Os pacientes que apresentavam velocidade de condução no nervo mediano uniformemente menor ou igual a 38 m/s tinham a forma desmielinizante da doença sendo classificados como CMT1. Já aqueles que tinham velocidade de condução normal e diminuição na amplitude do potencial de ação muscular composto (CMAP) ou do potencial de ação sensitivo (PAS) foram classificados como CMT2 e apresentavam a forma axonal da doença. Um terceiro grupo (chamado de CMT3) incluía os casos com fenótipo grave, velocidade de condução muito reduzida e possível herança recessiva. Posteriormente, o termo preferido passou a ser doença de Dejerine-Sottas, no lugar de

CMT3, para agrupar os casos de início na infância com grave fenótipo, independente do modo de herança ou da mutação, e a expressão CMT4 passou a agrupar os pacientes com herança autossômica recessiva. Com a descoberta progressiva de novos genes, letras têm sido adicionadas a essa nomenclatura (por exemplo, CMT1A para indicar duplicação do gene *PMP22*), o que tem gerado críticas em vista da variabilidade genotípica e fenotípica da doença. Assim, alguns autores têm tentado a proposição de classificações que permitam a denominação de maneira mais informativa, levando-se em conta a herança e os achados desmielinizantes ou axonais da doença (VALLAT; MATHIS; FUNALOT, 2013; MATHIS et al., 2015).

Há um grupo de indivíduos que apresenta alterações nos estudos de condução nervosa que podem ser observadas tanto em pacientes com a forma desmielinizante quanto em pacientes com a forma axonal. Neste caso, a velocidade de condução cai na faixa de valores chamada “intermediária”, caso observado em pacientes com herança ligada ao cromossomo X. Este grupo representa uma causa frequente de CMT, em torno de 10% dos pacientes com a doença (BERCIANO et al., 2017). É subdividido em seis subtipos (CMTX1 a CMTX6), sendo que 90% dos pacientes têm a forma CMTX1, a qual, juntamente com CMTX6 apresenta herança ligada ao X dominante (WANG; YIN, 2015), uma vez que mulheres portadoras também tendem a apresentar sintomas (embora em menor intensidade que os homens).

Dessa forma, embora a crescente melhora do conhecimento em relação à fisiopatologia da doença, ainda não se dispõe de um sistema perfeito de classificação, que englobe de maneira precisa todas essas variáveis genotípicas e fenotípicas (RAMCHANDREN, 2017; MAGY et al., 2018).

Apesar de não existir um consenso, as seguintes formas são reconhecidas, embora possa haver sobreposição e variação nas siglas: CMT1 - forma desmielinizante de herança autossômica dominante; CMT2 - forma axonal de herança autossômica dominante; CMT4 - desmielinizante de herança autossômica recessiva; CMT2AR - forma axonal de herança autossômica recessiva; CMTX - formas de herança ligada ao X; CMTI - formas com velocidade de condução intermediária, que podem ter diferentes formas de herança e, mais recentemente, foi descrita uma forma com herança mitocondrial.

Mais de 90% dos pacientes com CMT apresentam mutação em um dos genes a seguir: *PMP22*, *MFN2*, *MPZ* ou *GJB1* (LOREFICE et al., 2017). A frequência de mutações em *MPZ* varia de 0,58% na Grécia (KARADIMA et al., 2011) a 8,7% na

Tailândia (LEE et al., 2004), sendo considerada a terceira causa mais frequente de CMT1, atrás da duplicação do PMP22.

Em um estudo multicêntrico com 206 crianças (3 a 20 anos), os subtipos de CMT mais frequentemente encontrados foram CMT1A (58%), CMT1B (5%), CMT2A (4%) e CMT4C (4%). CMTX1 foi encontrado em 2% das crianças. A taxa de progressão da doença varia, entre outros fatores, conforme a idade da criança (sendo mais notável a partir dos 2 anos de idade) e o subtipo da neuropatia (CMT1A, CMT1B etc), sendo mais lenta para CMT1A (Cornett et al., 2017).

Aproximadamente 80 a 90% dos casos de CMT1 autossômico dominante são CMT1A, que decorre de duplicação de 1,4Mb no cromossomo 17p11.2, que contem o gene *PMP22* (MARQUES et al., 2005; LOREFICE et al., 2017). A deleção deste mesmo gene leva ao fenótipo de uma neuropatia conhecida como neuropatia hereditária susceptível a compressão (HNPP). A tabela 1, a seguir, apresenta uma visão geral desta classificação atual mais frequentemente empregada.

Tabela 1 – Classificação da doença de Charcot-Marie-Tooth.

Tipo	Patologia / Fenótipo	Herança	Porcentagem de casos de CMT	Subtipo	Gene/ cromossomo
CMT1	Anormalidades na mielina; fraqueza distal, atrofia e perda sensitiva; início: 5 a 20 anos; velocidade de condução nervosa motora <38m/s	Autossômica dominante	50-80	CMT1A	PMP22
				CMT1B	MPZ
				CMT1C	LITAF
				CMT1D	EGR2
				CMT1E	PMP22
				CMT1F/2E	NEFL
CMT2	Degeneração axonal; fraqueza distal e atrofia, envolvimento sensitivo variável; casos graves e complicados descritos; velocidade de condução motora >38 m/s; início: variável.	Autossômica dominante	10-15	CMT2A	MFN2
				CMT2B	RAB7A
				CMT2C	TRPV4
				CMT2D	GARS
				CMT2E/1F	NEFL
				CMT2F	HSPB1
				CMT2G	12q12-q13
				CMT2H/2K	GDAP1
				CMT2I/2J	MPZ
				CMT2L	HSPB8
				CMT2M	SYNM
				CMT2N	AARS
				CMT2O	DYNC1H1
				CMT2P	LRSAM1
CMT2S	IGHMBP2				
CMT2T	DNAJB2				
CMT2U	MARS				

Continua

Tabela 1 – Classificação da doença de Charcot-Marie-Tooth (conclusão).

Forma intermediária	Mielinopatia e axonal; Velocidade de condução motora >25 m/s e <38 m/s	Autossômica dominante	<4	DI-CMTA	Desconhecido
				DI-CMTB	DNM2
				DI-CMTC	YARS
				DI-CMTD	MPZ
				DI-CMTE	INF2
				DI-CMTF	GNB4
AR-CMT1 (CMT4)	Desmielinizante; recessiva; apresentação / fenótipos variáveis	Autossômica recessiva	Rara	CMT4A	GDAP1
				CMT4B1	MTMR2
				CMT4B2	SBF2
				CMT4B3	SBF1
				CMT4C	SH3TC2
				CMT4D	NDRG1
				CMT4E	EGR2
				CMT4F	PRX
				CMT4G	HK1
				CMT4H	FGD4
				CMT4J	FIG4
				CMT2B1	LMNA
				CMT2B2	MED25
AR-CMT2	Degeneração axonal; fraqueza distal e atrofia, envolvimento sensitivo variável; casos graves e complicados descritos; velocidade de condução motora >38 m/s; início: variável.	Autossômica recessiva	Rara	AR-CMT2A (CMT2B1)	LMNA
				AR-CMT2B (CMT2B2)	MED25
				AR-CMT2C (CMT2B5)	NEFL
				AR-CMT2F /dHMN	HSPB1
				AR-CMT2H	GDAP1
				AR-CMT2K (rarely AD)	GDAP1
				AR-CMT2P (HMSN VI)	LRSAM1
				ARAN-NM	MFN2
				GAN	HINT1
				GAN	GAN
				CMTX	Degeneração axonal com anormalidades na mielina
CMTX2	Xp22.2				
CMTX3	Desconhecido				
CMTX4	AIFM1				
CMTX5	PRPS1				
CMTX6	PDK3				

Modificado de: Ramchandren, 2017; Tzair et al, 2014.

Já foram identificadas mutações responsáveis por CMT em aproximadamente 100 genes, perfazendo mais de 1000 mutações, lista que ainda aumenta (TIMMERMAN; STRICKLAND; ZÜCHNER, 2014). Estes genes estão envolvidos em diversos processos relacionados à manutenção da função do sistema nervoso periférico, tais como a codificação de proteínas nas células de Schwann ou neurônios, que

contribuem para a organização da mielina, a função mitocondrial, a agregação de proteínas e o transporte axonal.

O sucesso na identificação do gene causativo é variável, tendo sido encontrado em 59,9% dos pacientes da série de Milley et al. (2018), na Hungria, sendo mais frequente o diagnóstico etiológico nos pacientes com CMT1 (67,2%) do que CMT2 (34,4%). Já Lorefice et al. (2017), analisando uma população italiana com CMT, na região da Sardenha, chegaram a um diagnóstico etiológico em 46,3% dos indivíduos, compreendendo 49,9% dos pacientes com CMT1, 38,5% dos pacientes com CMT2 e 11,6% dos pacientes com HNPP. Entre os pacientes com CMT1A, a duplicação do gene *PMP22* foi encontrada em 77,6% dos pacientes com diagnóstico molecular caracterizado.

Na Finlândia, Marttila et al. (2017) chegaram a um diagnóstico molecular em 55% dos pacientes de sua série, sendo a mutação p.His123Arg em heterozigose no gene *GDAP1* a mais frequente (31,5% dos pacientes), em pacientes com CMT2, seguida pela duplicação do gene *PMP22* encontrada em 16,9% dos pacientes. Esses achados podem ser devidos a um efeito fundador, o que leva ao aumento da prevalência de um determinado gene em um grupo populacional específico.

Na avaliação de 17880 pacientes com neuropatia hereditária referidos para um laboratório comercial para diagnóstico, DiVicenzo et al. (2014) não encontraram diferenças significativas nas frequências de resultados positivos da análise de 14 genes relacionados a CMT, a despeito das diferenças metodológicas entre o sequenciamento pela técnica de Sanger e o sequenciamento de nova geração.

Os pacientes com CMT1C parecem indistinguíveis de pacientes com CMT1A em termos clínicos e neurofisiológicos. Eles preenchem os critérios amplamente aceitos para CMT1, incluindo fraqueza distal e amiotrofia, diminuição de reflexos osteotendíneos e comprometimento sensitivo (BENNETT et al., 2004; GUIMARÃES-COSTA et al., 2017).

Fenótipos complexos e com evolução atípica podem ser decorrentes da herança de mais de uma mutação, mesmo nos casos em que o quadro clínico dos ascendentes seja discreto em relação aos sinais e sintomas habitualmente encontrados (MEGGOUH et al., 2005). Os sintomas podem ser inclusive mais leves em relação ao que seria esperado para uma das mutações isoladas (GOUVEA et al., 2010).

Bort et al. (1997) analisaram 47 pacientes espanhóis não-relacionados, nos quais foi excluída duplicação do gene *PMP22*. Entre estes, havia fenótipos de CMT1, CMT2

e DS. Pela técnica de *single-strand conformation polymorphism (SSCP)* foram avaliadas mutações e polimorfismos nos genes *GJB1*, *MPZ* e *PMP22*. Em 34% dos pacientes foram encontradas mutações, sendo no gene *GJB1* em 10 pacientes (21%), no gene *MPZ* em cinco pacientes (10,6%) e um paciente (2,1%) apresentou mutação no gene *PMP22*. Chama a atenção o fato de 43% dos pacientes mutados apresentarem mutação *de novo*. Os autores lembram a possibilidade de diagnóstico incorreto da neuropatia como hereditária, uma vez que em 2/3 dos pacientes não foi encontrada mutação.

Recomenda-se que seja realizada pesquisa de mutações em *MPZ* nos pacientes com CMT1 que não apresentem duplicação ou mutação de ponto em *PMP22* (NELIS et al., 1994a).

A seguir, apresentamos uma breve caracterização dos genes de interesse no presente estudo:

1.2.2 Gene *PMP22*

O gene *PMP22* codifica uma glicoproteína integral de membrana, com peso molecular de 22-kDa, que assume a forma de um tetrâmero helicoidal, altamente expressa (2 a 5% das proteínas da mielina) nas células mielinizantes de Schwann. Sua correta expressão em termos quantitativos e qualitativos é essencial para o desenvolvimento e a manutenção da normalidade da mielina nas células de Schwann, contribuindo tanto para a organização quanto para a adesão das camadas da mielina (MITTENDORF et al., 2017). O gene *PMP22* se localiza na região 17p11.2 do cromossomo 17.

A duplicação do gene *PMP22* é a alteração mais encontrada em pacientes com CMT em diferentes séries, ocorrendo em 13,6 a 79% das famílias analisadas (BRAATHEN et al., 2010; MARQUES et al., 2005), determinando alterações celulares em decorrência do aumento da dose de proteína produzida. Geralmente se encontra história familiar, no entanto a frequência de duplicação *de novo* varia de 8,5 a 26,5% (BRAATHEN, 2010). A deleção do mesmo gene leva ao fenótipo de uma neuropatia assimétrica, conhecida como Neuropatia Hereditária Susceptível a Compressão (do inglês, *hereditary neuropathy with liability to pressure palsies – HNPP*). Pacientes com mutação de ponto neste gene (que são raras) podem exibir fenótipo variável, desde formas leves da doença até formas graves, como a Síndrome de Dejerine-Sotas (LI et al., 2017). Roa et al. (1993) encontraram um paciente com mutação de ponto neste gene entre 32 pacientes com CMT1 que foram negativos para a duplicação do mesmo. Em

uma coorte de 1005 pacientes japoneses com CMT nos quais foi excluída duplicação do *PMP22* e que mostrava predominância de CMT2 (67,8%), mutações de ponto neste gene foram responsáveis por 4,3% dos casos (13 pacientes) de CMT nos quais foram identificadas mutações, o que corresponde a 6,2% dos pacientes com CMT1 (YOSHIMURA et al., 2018).

1.2.3 Gene *GJB1*

O gene *GJB1*, localizado no cromossomo Xq13.1, codifica uma proteína conhecida como conexina 32 (Cx32). Essa proteína é expressa nas células de Schwann e forma junções apertadas entre as membranas de duas células adjacente, resultado da interação de dois hemicanais apostos (*conexons*). Esses canais permitem o trânsito de íons, moléculas de sinalização, pequenos metabólitos e provêm vias para o acoplamento elétrico e químico entre as células. Cx32 se encontra distribuída tanto no sistema nervoso periférico quanto no central (onde é expressa nos oligodendrócitos), além de fígado, rins e pâncreas (WANG; YIN, 2015). A conexina pertence a uma família de vários genes que codificam 20 proteínas com alta homologia e, dessa forma, pacientes com mutação na conexina 32 têm sintomas localizados predominantemente no sistema nervoso periférico. Seis conexinas formam um hemicanal ao redor de um poro central. Dois hemicanais em oposição constituem uma junção apertada entre duas células (SCHERER; KLEOPA, 2012).

Mutações neste gene causam CMTX1, o segundo tipo mais comum de CMT na maioria das séries (NELIS et al., 1997), respondendo por 4,6% em turcos (BISSAR-TANDAMOURI et al., 2000), a 21,9% de todos os casos de CMT nos quais foi excluída duplicação do *PMP22*, o que equivale a 40,3% dos pacientes com CMT1 na série de Yoshimura et al. (2018), já tendo sido reportadas mais de 400 mutações (SCHERER; KLEOPA, 2012). Homens tendem a apresentar sintomas mais exuberantes e em menor idade que as mulheres (PANOSYAN et al., 2017).

Estudos de velocidade de condução em pacientes com mutações neste gene geralmente mostram velocidades de condução na faixa conhecida como intermediária, sendo a redução mais acentuada em homens do que em mulheres. Chama a atenção, no entanto, o crescente relato de pacientes com características neurofisiológicas que remetem a aquelas observadas em pacientes com neuropatias inflamatórias, ou seja, assimetria de achados com presença de dispersão temporal e, eventualmente, bloqueios de condução (MICHELL et al., 2009).

Embora geralmente ocorra deterioração lenta da função motora nestes pacientes, em alguns casos pode ocorrer piora rápida dos sintomas (MIKI et al., 2013). Há ainda uma grande variabilidade na apresentação clínica e no envolvimento de nervos em pacientes com CMTX, mesmo naqueles com a mesma mutação do gene *GJB1*. Alguns pacientes podem apresentar concomitância com doença inflamatória do sistema nervoso central, o que poderia indicar uma predisposição a sobreposição de doenças inflamatórias do sistema nervoso em pacientes com mutação neste gene (WEISHAUPT; GANSER; BÄHR, 2012)

1.2.4 Gene *LITAF*

É um gene que consiste de quatro exons, sendo três deles codificantes, resultando em uma proteína com peso molecular calculado de 17.1kDa (BENNETT et al., 2004). Está ligado a região 16p13.1-p12.3 do cromossomo 16. Mutações neste gene causam CMT1C (STREET et al., 2003). Seu produto, LITAF (fator ativador de TNF induzido por LPS), também conhecido como SIMPLE (proteína integral pequena de membrana para o endossomo tardio), é uma proteína integral de membrana associada ao endossomo, importante para o agrupamento de corpos multivesiculares. Também pode ser importante para outros eventos celulares, uma vez que é induzido por toxinas bacterianas, por expressão do p53 e tem sido implicado em doenças inflamatórias. Localiza-se na superfície da célula e em vários compartimentos endocíticos (QIN et al., 2016). O mecanismo exato pelo qual mutações neste gene causam doença ainda permanece desconhecido, sendo que recentemente foi demonstrado que ocorre localização anormal do LITAF do endossomo/lisossomo para a mitocôndria, resultando em defeitos na regulação e sinalização do tráfego endossomal (SINKIEWICZ-DAROL et al., 2015).

Foi encontrado como causa de CMT em 0,5% dos 17880 indivíduos referenciados a um laboratório comercial especializado em diagnósticos genéticos (DIVINCENZO et al., 2014), em 0,6% dos pacientes com CMT1 avaliados por Latour et al. (2006) e em 0,7% dos analisados por Ciotti et al. (2014). Em Ribeirão Preto, estado de São Paulo, foi encontrado como causa de doença em 3% de 66 indivíduos com CMT, sem alterações de *PMP22*, *GJB1* e *MPZ* (BUENO, 2011). O fenótipo destes pacientes pode incluir indivíduos com manifestações clínicas tardias e mesmo assintomáticos do ponto de vista do comprometimento motor (LUIGETTI et al., 2014).

A ENMG destes pacientes geralmente traduz uma polineuropatia sensitivo-motora desmielinizante simétrica, com VCM geralmente entre 16 e 33 m/s. No entanto, há descrição de pacientes nos quais foram encontrados bloqueios de condução na ENMG (STREET et al., 2003; GERDING et al., 2009; CIOTTI et al., 2014; GUIMARÃES-COSTA et al., 2017), o que pode causar confusão diagnóstica com neuropatias inflamatórias.

1.2.5 Gene *MPZ*

Este gene apresenta seis exons, compreendendo uma extensão de 7 kilobases. Com a observação inicial de uma família com neuropatia e velocidades de condução motora extremamente baixa (5-15 m/s) e, posteriormente, a realização de estudos de ligação que permitiram a associação do gene com a herança do sistema Duffy de grupo sanguíneo, esse gene foi localizado no cromossomo 1, sendo identificado em 1993, encontrando-se no braço longo do cromossomo 1q22-23 (SU et al., 1993; NELIS et al., 1994; BIRD et al., 1997; SHY, 2006).

A proteína zero da mielina, produto do gene *MPZ*, é a principal proteína estrutural da mielina periférica, pertencendo à superfamília das imunoglobulinas (HAYASAKA, 1993). É considerada como responsável por importante papel na compactação da mielina normal, via interações homofílicas mediadas por um domínio extracelular único semelhante à imunoglobulina e sua porção N-terminal ligada a carboidrato. Qualidades adesivas similares também podem ser mediadas por interações homofílicas dos domínios intracelulares e suas interações com fosfolípidos de membrana. É uma proteína integral de membrana expressa exclusivamente por células de Schwann mielinizantes (LEMKE, 1998) de forma que não está presente no sistema nervoso central. Por conseguinte, as alterações patológicas, embora possam ter repercussões a nível medular, são basicamente restritas aos nervos periféricos (BIRD et al., 1997).

Os pacientes podem exibir fenótipos variados, englobando CMT1, CMT2 e a DS. Os sintomas tendem a aparecer em idades mais precoces, embora alguns pacientes possam apresentar o início dos sintomas após a quarta década de vida, inclusive com rápida progressão dos mesmos levando os pacientes a necessitarem do uso de órteses em poucos anos. De maneira geral, os pacientes podem ser enquadrados em dois grandes grupos: um com início precoce (infância) dos sintomas e outro com início na idade adulta (SHY et al., 2004), sendo que estes pacientes tendem a apresentar

características clínicas e neurofisiológicas muito parecidas, quando se considera o quadro dentro da mesma família e eventualmente a mesma mutação em diferentes famílias (SANMANEECHAI et al., 2015) Essa situação, aliada a ausência de clara história familiar, pode levar a erros diagnósticos tomando-se por adquirida uma neuropatia hereditária (LAURÀ et al., 2007). Alguns pacientes apresentam sintomas sensitivos positivos (Donaghy et al, 2000). Os sintomas podem ter apresentação assimétrica e pode haver variação fenotípica para a mesma mutação dentro de uma família (SZABO et al., 2005; SOUAYAH; TICK CHONG, 2010). Os pacientes podem apresentar ainda surdez e anormalidades pupilares (KURIHARA et al., 2004; MURPHY et al., 2011). Por outro lado, pacientes com sintomas mínimos ou mesmo assintomáticos também podem ser encontrados (LAGUENY et al., 2001). Pode haver hiperproteínoorraquia em alguns pacientes e naqueles com fenótipo de CMT2I pode ser que ocorram alterações ainda não bem caracterizadas na interação mielina/axônio de modo que ocorra dano axonal (SHY et al., 2004).

Esse gene é reponsável por 2 a 27,1% dos pacientes com CMT1 em algumas séries, podendo determinar casos esporádicos em até 50% dos pacientes (DRAC et al., 2011; NELIS et al., 1994a; SHY et al., 2004; YOSHIMURA et al., 2018).

1.2.6 Neurofisiologia

A avaliação neurofisiológica, através dos estudos de condução nervosa e da eletromiografia, é importante para se estabelecer a presença de polineuropatia, a extensão do dano, a alteração fisiopatológica subjacente (desmielinizante X axonal) e para o acompanhamento da doença (KRARUP, 2003).

Os achados característicos em pacientes com CMT são a diminuição da velocidade de condução motora (<38 m/s), nos casos desmielinizantes, ou a diminuição da amplitude do potencial de ação muscular composto ou do potencial de ação sensitivo, nas formas axonais, sendo estas alterações, por convenção, estabelecidas no nervo mediano ou no nervo ulnar (THOMAS; CALNE, 1974). Nas formas mielínicas a redução da velocidade de condução é uniforme (LEWIS; SUMNER, 1982), ou seja, com as alterações são semelhantes quando se comparam diferentes segmentos de um mesmo nervo, o mesmo segmento de nervos de um mesmo membro, ou o mesmo segmento de membros contralaterais. Assim, não se espera encontrar alterações como bloqueios de condução e marcada dispersão temporal (que são considerados marcadores

de neuropatias desmielinizantes adquiridas). No entanto, sabe-se que algumas mutações podem apresentar estas últimas características, o que funcionaria como um fator de confusão em relação à etiologia da neuropatia (LEWIS; SUMNER; SHY, 2000). Assimetria, dispersão temporal e até bloqueios de condução nos exame de condução nervosa foram relatados em pacientes com CMT1C, com mutação em LITAF (STREET et al., 2003; BENNETT et al., 2004) e em pacientes com CMT1B, por mutação no gene MPZ (MURPHY et al., 2011; O'CONNOR et al., 2012; STREET et al., 2002), no entanto parecem nem sempre resultar de alterações inflamatórias podendo ocorrer em decorrência das disfunções causadas pelas próprias mutações.

Em pacientes com CMTX geralmente se encontra, no estudo da condução nervosa, uma diminuição uniforme da velocidade de condução motora na faixa intermediária (25-45 m/s), podendo eventualmente aparecer dispersão temporal e bloqueios de condução. As alterações neurofisiológicas tendem a ser mais marcadas em homens do que em mulheres (NICHOLSON; NASH, 1993; DUBOURG et al., 2001).

Alguns pacientes podem apresentar estudos de condução nervosa compatíveis com CMT2, demonstrando a variabilidade fenotípica que pode suceder em decorrência de mutações em genes como MPZ, que mais frequentemente determina CMT1, sendo que estas alterações axonais podem ser inclusive confirmadas em biópsia de nervo (LAURÀ et al., 2007).

1.2.7 Tratamento

Atualmente não se dispõe de tratamento comprovadamente curativo/modificador de doença para a doença de Charcot-Marie-Tooth. Tentativas de tratamento envolveram o uso de ácido ascórbico (GESS et al, 2015), curcumina (KHAJAVI et al, 2007), antagonistas da progesterona, inibidores HDAC6 (D'YDEWALLE et al, 2011) e fatores neurotróficos (SAHENK et al, 2005).

O ácido ascórbico reduziu a gravidade da neuropatia em camundongos transgênicos com super-expressão de *PMP22* (modelo animal de CMT1A) em comparação a animais não tratados. No entanto, ensaios clínicos com ácido ascórbico em pacientes com CMT1A não se mostraram bem sucedidos (PAREYSON et al., 2011).

Em ratos transgênicos que funcionam como modelos de CMT1A, antagonistas da progesterona foram capazes de reduzir expressão de mRNA PMP22, retardar a progressão da atrofia muscular e determinar melhoras em aspectos neuropatológicos. Entretanto, os antagonistas atualmente disponíveis apresentam alta toxicidade, o que impede a sua administração a pacientes com CMT1A, aguardando-se o desenvolvimento de análogos mais seguros (MEYER ZU HORSTE et al, 2007).

A curcumina mostrou algum efeito em modelos animais de CMT1B, aguardando por outros estudos, incluindo em pacientes (PATZKÓ et al, 2012).

Recentemente, em modelos experimentais de CMT1A, o uso de oligonucleotídeos anti-sense produziu melhora nos parâmetros clínicos, neurofisiológicos e morfológicos dos animais acometidos por neuropatia que simula CMT1A em humanos (ZHAO et al., 2018).

O manejo deve ser realizado de maneira multidisciplinar, com o envolvimento de neurologistas, ortopedistas, fisiatras, fisioterapeutas, terapeutas ocupacionais (MCCORQUODALE; PUCILLO; JOHNSON, 2016).

Outro ponto fundamental é se evitar, sempre que possível, condições que sabidamente podem levar a piora da neuropatia nestes pacientes. Como exemplo, pode-se citar o diabetes mellitus, o tabagismo, o etilismo, medicações (dentre eles alguns quimioterápicos como a vincristina, cisplatina e a carboplatina, além de análogos nucleosídeos) (PANAS et al., 2014).

1.3 Concomitância entre neuropatias hereditárias e adquiridas

Desde época anterior à determinação mais precisa dos mecanismos moleculares das neuropatias hereditárias, alguns pacientes foram suspeitos de albergarem neuropatias inflamatórias e hereditárias ao mesmo tempo.

Dicky e colaboradores apresentaram um grupo de pacientes com uma neuropatia hereditária responsiva a corticosteróides em 1982. Desde então, outros autores têm descrito casos sugestivos de sobreposição, embora também tenham sido apresentados pacientes com suposta sobreposição, nos quais o mais provável é que tenha havido erro diagnóstico (pacientes com CMT sendo inicialmente diagnosticados como PIDC). A falta de clara história familiar, o início tardio, sintomas sensitivos positivos (como dor

neuropática) e a rápida progressão dos sintomas são fatores que podem ser observados nos casos de diagnóstico incorreto e utilização de um ou mais tratamentos imunossupressores, sem sucesso, por estes pacientes (RAJABALLY et al., 2016). A biópsia de nervo destes pacientes pode, inclusive, mostrar infiltrados inflamatórios esporádicos de macrófagos, monócitos e linfócitos T CD45Ro+ que também podem funcionar como um fator confundidor da presença de doença inflamatória como determinante da neuropatia periférica, embora possa ser uma explicação para a heterogenidade fenotípica, devido a atividade inflamatória sobreposta à alteração degenerativa determinada pela presença da mutação. No entanto, essas interações e seus determinantes ainda aguardam uma melhor explicação para a definição de causa ou consequência deste infiltrado inflamatório (DACCI et al., 2012; O'CONNOR et al., 2012).

Segundo Milley et al. (2018), comparados aos pacientes não-CMT1A, os mecanismos desimunes tais como polineuropatia inflamatória, deficiência isolada de IgG e IgA, lúpus eritematoso sistêmico, tireoidite autoimune ou vasculite foram mais frequentemente associados com duplicação do *PMP22* do que seria esperado pelo acaso (6,5%, N=6, 5 pacientes não relacionados, $p < 0,01$).

Não há como se afirmar que essa sobreposição seja ligada a uma mutação específica. A maioria dos pacientes relatados apresenta CMT1A (que é a causa mais frequente de CMT entre todas as populações), no entanto também já foram relatados pacientes que apresentavam mutações em *GJB1*, *LITAF* e *MPZ* (RAJABALLY et al., 2016).

A crescente identificação destes pacientes tem permitido o estudo das características que sugerem a sobreposição entre as doenças, bem como as situações responsáveis pelo erro diagnóstico. Em relação às características já levantadas por diferentes autores, destacam-se: progressão rápida dos sintomas, presença de sintomas sensitivos positivos, presença de bloqueio de condução nervosa na ENMG, hiperproteinorraquia, presença de infiltrado inflamatório na biópsia de nervo e resposta ao tratamento imunomodulador (GINSBERG et al., 2004), acrescido de presença de fraqueza proximal (MARQUES et al., 2010).

Scelsa (2010) descreveu o caso de mãe e filho com uma neuropatia sensitivo-motora assimétrica, de predomínio em membros superiores, compatível com a Síndrome de Lewis e Sumner, responsiva a corticóides. Na análise molecular destes pacientes (duplicação do *PMP22*, sequenciamento de *PMP22*, *GJB1*, *MPZ*, *EGR2*,

NFL, *MFN2* e *LITAF*) encontrou-se apenas o polimorfismo isoleucina92valina, no gene *LITAF*. O autor sugeriu o nome de *FaDSAM* (*familial, demyelinating sensory and motor polyneuropathy with conduction block*) para esta condição e ponderou que embora a alteração encontrada seja considerada um polimorfismo benigno, ela poderia estar causando modificação da expressão de outro gene não identificado, associado a neuropatia.

Em modelos animais, neurite autoimune experimental pode ser desencadeada por imunização contra as proteínas P0 (MILNER et al, 1987) e PMP22 (GABRIEL et al, 1998), o que poderia sugerir a participação destas proteínas na gênese da sobreposição com neuropatia inflamatória em pacientes com CMT.

2 OBJETIVOS:

2.1 Geral:

Investigar a presença de mutações e polimorfismos nos genes *PMP22*, *GJB1* (*Cx32*), *LITAF* e *MPZ* (*P0*) em pacientes com diagnóstico inicial de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica.

2.2 Específicos:

Avaliar a frequência de mutações e polimorfismos no gene *PMP22* em pacientes com o diagnóstico de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica;

Avaliar a frequência de mutações e polimorfismos no gene *GJB1*(*Cx32*) em pacientes com o diagnóstico de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica;

Avaliar a frequência de mutações e polimorfismos no gene *LITAF* em pacientes com o diagnóstico de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica;

Avaliar a frequência de mutações e polimorfismos no gene *MPZ* (*P0*) em pacientes com o diagnóstico de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica;

Determinar se os pacientes mutados apresentavam concomitância entre polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica e Doença de Charcot-Marie-Tooth;

Determinar a porcentagem de falsos diagnósticos (pacientes com CMT, diagnosticado e tratado como PIDC);

Levantar as características clínico/laboratoriais que permitam o diagnóstico de sobreposição entre PIDC e CMT;

Compreender os fatores que levaram a confusão diagnóstica entre polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica e Doença de Charcot-Marie-Tooth.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram incluídos neste estudo pacientes que apresentavam diagnóstico PIDC, de acordo com os critérios da EFSN (VAN DEN BERGH et al., 2010):

1- Critério Clínico:

Qualquer paciente com polirradiculoneuropatia progressiva, simétrica ou assimétrica, no qual o curso clínico é remitente, ou recorrente, ou progressivo por mais de dois meses, especialmente se existem sintomas sensitivos positivos, fraqueza proximal, arreflexia sem perda de massa muscular, ou preferencialmente perda de sensibilidade vibratória ou cinético postural.

a) PIDC típico

Fraqueza proximal e distal simétrica, recorrente, em “degraus” ou cronicamente progressiva e disfunção sensitiva em todas as extremidades, desenvolvendo-se por pelo menos dois meses; nervos cranianos podem ser afetados; e Ausência ou redução dos reflexos osteo-tendíneos em todas as extremidades.

b) PIDC atípica (ainda considerada PIDC, mas com achados diferentes)

Um dos seguintes, mas de qualquer forma como em (a) (reflexos osteo-tendíneos podem ser normais nos membros não afetados):

Predominantemente distal (desmielinizante adquirida distal simétrica, *DADS*),
ou

Assimétrica [neuropatia motora e sensitiva desmielinizante multifocal adquirida (*MADSAM*), Síndrome de Lewis-Sumner], ou

Focal (por exemplo, envolvimento do plexo braquial ou lombossacro ou de um ou mais nervos periféricos em um membro superior ou inferior),

Puramente motor, ou

Puramente sensitiva (incluindo polirradiculoneuropatia sensitiva imune crônica afetando os processos centrais dos neurônios sensitivos primários).

2- Critérios de exclusão

Infecção por *Borrelia burgdorferi* (Doença de Lyme), difteria, exposição a drogas e toxinas que provavelmente causem a neuropatia,

Neuropatia desmielinizante hereditária,

Distúrbio esfíncteriano proeminente,

Diagnóstico de neuropatia motora multifocal,

Gamopatia monoclonal IgM com altos títulos de anticorpo contra a glicoproteína associada a mielina (anti-MAG),

Outras causas para a neuropatia desmielinizante incluindo a síndrome de POEMS, mieloma osteoesclerótico, radiculo-plexo-neuropatia lombossacra diabética e não-diabética. Linfoma do sistema nervoso periférico e amiloidose podem ocasionalmente ter achados desmielinizantes.

3- Critérios neurofisiológicos

a) Definida: pelo menos um dos seguintes

a1) Prolongamento da latência distal motora $\geq 50\%$ acima do limite superior da normalidade em dois nervos (excluindo neuropatia do mediano no punho devido à síndrome do túnel do carpo), ou

a2) Redução da velocidade de condução motora $\geq 30\%$ do limite inferior da normalidade em dois nervos, ou

a3) Prolongamento da latência da onda F $\geq 30\%$ do limite superior da normalidade em dois nervos ($\geq 50\%$ se a amplitude do pico negativo do CMAP $< 80\%$ dos valores do limite inferior da normalidade),

a4) Ausência de onda F em dois nervos, se estes nervos têm amplitude de pico distal do CMAP $\geq 20\%$ do limite inferior da normalidade + ≥ 1 outro parâmetro de desmielinização em ≥ 1 outro nervo, ou

a5) Bloqueio parcial de condução motora: redução de $\geq 50\%$ na amplitude do pico negativo proximal do CMAP em relação ao distal, se o pico distal negativo for $\geq 20\%$ do limite inferior da normalidade em dois nervos, ou em um nervo + ≥ 1 outro parâmetro de desmielinização em ≥ 1 outro nervo, ou

a6) Dispersão temporal anormal (aumento $> 30\%$ na duração entre os picos negativo proximal e distal do CMAP) em ≥ 2 nervos, ou

a7) Aumento da duração do CMAP distal (intervalo entre o início do primeiro pico negativo e o retorno à linha de base do último pico negativo) em mais de um nervo (mediano $\geq 6,6$ ms, ulnar $\geq 6,7$ ms, peroneiro $\geq 7,6$ ms e tibial $\geq 8,8$ ms), + ≥ 1 outro parâmetro de desmielinização)

b) Provável

$\geq 30\%$ de redução da amplitude dos picos negativos proximais do CMAP em relação ao distal, excluindo o nervo tibial, se o pico negativo distal do CMAP $\geq 20\%$ do limite inferior da normalidade, em dois nervos, ou em um nervo + ≥ 1 outro parâmetro de desmielinização em mais de um outro nervo.

c) Possível

Como em (a), só que apenas em um nervo.

4- Critérios de suporte

- a. Líquido cefalorraquidiano com aumento de proteínas e contagem de leucócitos $<10/\text{mm}^3$,
- b. Ressonância magnética mostrando impregnação por gadolínio ou hipertrofia da cauda equina, das raízes dos nervos cervicais ou lombossacra, ou dos plexos lombossacro ou braquial.
- c. Avaliação sensitiva eletrofisiológica anormal em pelo menos um nervo:
 - i. Sural normal com potencial de ação nervoso sensitivo (*SNAP*) em mediano (excluindo neuropatia do mediano no punho por síndrome do túnel do carpo) ou radial anormais,
 - ii. Velocidade de condução $<80\%$ do limite inferior de normalidade ($<70\%$ se amplitude do *SNAP* $<80\%$ do limite inferior da normalidade), ou
 - iii. Potenciais evocados somatossensitivos atrasados na ausência de doença do sistema nervoso central.
- d. Melhora clínica objetiva após tratamento imunomodulador,
- e. Biópsia de nervo mostrando evidência inequívoca de desmielinização e/ou remielinização por microscopia eletrônica ou pela análise de fibras dissociadas.

3.1 Pacientes

Recrutaram-se pacientes com diagnóstico de PIDC, cujos exames moleculares foram realizados no Laboratório de Neurologia Aplicada e Experimental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. A maioria destes pacientes estava em seguimento no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do Hospital de Clínicas da FMRP-USP.

3.2 Obtenção das amostras

As amostras foram obtidas a partir do isolamento de DNA de leucócitos do sangue periférico. Para tanto, 10 ml de sangue periférico foram colhidos dos

participantes do estudo, após a assinatura do termo de consentimento informado (Anexo B, pág. 131), utilizando-se o sistema de coleta a vácuo com anticoagulante EDTA.

3.3 Extração do DNA

O DNA genômico foi extraído no Centro de Medicina Genômica localizado no HCFMRP, utilizando-se o seguinte protocolo recomendado pelo *Maxwell® 16 Blood DNA Purification Kit* (Promega):

As amostras de sangue total foram centrifugadas 2.000 g, durante 20 minutos, originando a separação do material em três camadas: (i) uma camada inferior contendo principalmente glóbulos vermelhos; (ii) uma camada superior de plasma; (iii) e uma camada branca fina na interface, conhecida por camada leucoplaquetária, a qual foi colhida cuidadosamente e utilizada como protocolo de processamento.

O DNA foi extraído da camada leucoplaquetária de forma automatizada, seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante. O método foi utilizado em conjunto com o equipamento *Maxwell® 16 Instrument*, o que automatiza o processo de purificação de ácidos nucleicos de até 16 amostras, utilizando lise celular com subsequente ligação de partículas de sílica magnetizadas a ácidos nucleicos como princípio de separação primário.

Após essa etapa, é feita a seleção do protocolo de processamento. Conforme solicitado no instrumento *Maxwell® 16*, as amostras são colocadas nos cartuchos de reagente que, logo após, são colocados na plataforma do instrumento *Maxwell® 16*. Em seguida, o instrumento foi inicializado, efetuando automaticamente todos os procedimentos do protocolo. Os passos automatizados efetuados pelo sistema *Maxwell® 16* incluem: i) lise da amostra na presença de um agente caotrópico e detergente; (ii) ligação dos ácidos nucleicos a partículas de sílica magnetizadas; (iii) lavagem das partículas ligadas, isolando-as dos outros componentes celulares; (iv) e eluição de ácidos nucleicos.

3.4 Detecção da duplicação/deleção do gene *PMP22*

A detecção da duplicação e da deleção do cromossomo 17p11.2-p12 foi realizada pela análise de marcadores micro-satélites na região de interesse (MARQUES et al., 2005; THOMAS et al., 1997). Os casos com resultados duvidosos foram

submetidos à análise pelo método MLPA (SLATER et al., 2004) ou por eletroforese para se avaliar a mobilidade de fragmentos do DNA após digestão.

3.5 Detecção da duplicação com marcadores microssatélites fluorescentes e análise semiquantitativa em sequenciador automático

A presença da duplicação da região 17p11.2 foi pesquisada pela análise de 15 marcadores microssatélites (Tabela 2, pág. 46) localizados dentro da região com a duplicação, amplificados pela reação em cadeia pela polimerase (PCR) (BLAIR et al., 1995; CUDREY et al., 1995; QU et al., 1996; BADANO et al., 2001) com *primers* fluorescentes e análise semi-quantitativa em um sequenciador automático *3500XL Genetic Analyzer DNA Sequencer* (Applied Biosystems) com a utilização do programa de análise *GeneMapper* (Applied Biosystems). O diagnóstico da duplicação foi feito ou pela detecção de 3 alelos em pelo menos um dos marcadores e/ou por significativa diferença de dosagem entre os alelos de um mesmo locus (de acordo com THOMAS et al., 1997). Nesta condição, a proporção entre a altura ou a área dos dois alelos é inferior a 40:60 nos alelos duplicados e maior nos não duplicados (THOMAS et al., 1997). Para que o diagnóstico da duplicação seja preciso, todos os microssatélites informativos (não homozigotos) devem estar duplicados.

3.6 MLPA (*Multiplex ligation-dependent probe analysis*)

O diagnóstico da duplicação 17p11.2-p12 pelo MLPA foi realizado com o kit diagnóstico disponibilizado pela MRC-Holland. Aproximadamente 100 ng de DNA genômico em 5 µL de buffer TE foram misturados a 1,5 µL da mistura de sondas, contendo duas sondas para cada sequência alvo, um oligonucleotídeo sintético curto e um nucleotídeo sintético longo derivado da sequência M13, que conta com fragmento específico que permite a diferenciação de todas as sondas utilizadas. A seguir as sondas específicas são aneladas e ligadas. 10 µL do mix polimerase, contendo um par de iniciadores marcados com substância fluorescente (D4) é adicionado a 40 µL do mix de ligação e amplificado por PCR (33 ciclos). O produto final é lido no sequenciador ABI-3500XL (Applied Biosystems) e analisado pelos programas *GENESCAN* e *GENOTYPER*. Na presença de deleção o sinal da fluorescência de um exon deletado será 50% menor que o do controle, enquanto um fragmento duplicado apresentará fluorescência 50% mais intensa. Para maior segurança, são analisadas 34 diferentes sequências da região de interesse.

Tabela 2 - Marcadores microssatélites utilizados no diagnóstico da duplicação 17p11.2-p12

Marcador	Sequência
D17S2218	F- (FAM)-AAATGCTTGTGGATTAGTTG R-GTGTCTTGGGTACCTTTATGTTTTCTT
D17S2217	F-(HEX)-TGCAACACCAGTCAACACAG R-GTGTCTTGGCTTTTCATTCTGAGCATTGG
D17S2219	F-(TET)-ATAAAAGATGAGTTGCTTGG R-GTGTCTTAATCGTTCATGTTGTGGATG
D17S2225	F-(FAM)-TGTATCTGGGAGTATTCACG R-GTGTCTTGCACCTTTATGGGGAGTTAG
D17S2226	F-(TET)-GCATTCTTGTCTCAGTCTG R-GTGTCTTCCAGAGCTAACACCACATTC
D17S2220	F-(FAM)-CCTCAGTCATCTTCTCCTT R-GTGTCTTTGGGCAACAGAGCAAAATCC
D17S2221	F-(FAM)-GAAAATTTCCCAAAGG R-GTGTCTTCCCTCTCCCTGAGTGTCTGGT
D17S2224	F-(TET)-GTGTCTTGTTCATTCTATCGTCTCAA R-AAGGCTACCATAAATCTTGT
D17S2229	F-(HEX)-CCCATTCCATAGTCATCAGA R-GTGTCTTTGCCATTTTACCACAAGAGG
D17S2216	F-AGGCACGGGATTAGGAAGTT R-GTGTCTTGCAGTTTGAAGGCTGGAGA
D17S2227	F-(FAM)-TTAAACTAGCATTCTTCCAA R-GTGTCTTTAACCAGTTTCATCTCACAG
D17S2228	F-(HEX)-GGCTGTCATAAATGTTTCCTA R-GTGTCTTAGGTAAAGTTCTGGTGAGC
D17S2223	F-(FAM)-TACAAGAAAGGGAACAAAGC R-GTGTCTTTGAAGAAGCAAGAGACGAGT
D17S2222	F-(FAM)-CCCTGAGTCTCTTACTTTCT R-GTGTCTTTGAGATGGATAGAGCTATGG
D17S2230	F-(TET)-GGAAACTGATGTCTAAAACT R-GTGTCTTGTGAATCCAGGAGGCAGAGC

3.7 Sequenciamento dos genes *PMP22*, *GJB1* (*Cx32*), *LITAF* e *MPZ* (*P0*)

Os pacientes negativos para a duplicação/deleção da região 17p11.2-p12 foram submetidos a sequenciamento bidirecional direto dos genes *PMP22*, *GJB1* (*Cx32*), *LITAF* e *MPZ* (*P0*) pela técnica de sequenciamento de Sanger, através da utilização de primers *sense* e *anti-sense* dos referidos genes utilizando-se o kit de ciclo de sequenciamento *BigDye terminator v3.1* (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA) e o Sequenciador ABI 3500XL (Applied Biosystems) de acordo com os protocolos do fabricante.

3.7.1 Seleção dos primers:

3.7.1.1 Gene *PMP22* (Proteína 22 da mielina periférica)

As sequências dos primers empregados na análise para pesquisa de mutações no gene *PMP22* foram as mesmas utilizadas por Takashima, Boerkoel e Lupski (2001), descritas na tabela 3. Posteriormente, as sequências foram conferidas usando-se uma ferramenta de PCR *in silico* através do site University of California, Santa Cruz (UCSC) (KENT et al., 2002).

3.7.1.2 Gene *LITAF* (Fator alfa de necrose tumoral induzido por lipopolissacarídeo)

As sequências dos primers empregados na análise para pesquisa de mutações no gene *LITAF* foram as mesmas utilizadas por Street et al. (2003), descritas na tabela 3, na página seguinte. Posteriormente, as sequências foram conferidas usando-se uma ferramenta de PCR *in silico* através do site University of California, Santa Cruz (UCSC) (KENT et al., 2002).

3.7.1.3 Gene *GJB1* (Conexina 32)

As sequências dos primers empregados na análise para pesquisa de mutações no gene da *Cx32* foram as mesmas utilizadas por Takashima, Boerkoel e Lupski (2001), descritas na tabela 3, a seguir. Posteriormente, as sequências foram conferidas usando-se uma ferramenta de PCR *in silico* através do site University of California, Santa Cruz (UCSC) (KENT et al., 2002).

3.7.1.4 Gene *MPZ* (Proteína Zero da Mielina)

As sequências dos *primers* empregados na análise para pesquisa de mutações no gene *MPZ* foram as mesmas utilizadas por Takashima, Boerkoel e Lupski (2001), descritas na tabela 3, a seguir. Posteriormente, as sequências foram conferidas usando-se uma ferramenta de PCR *in silico* através do site University of California, Santa Cruz (UCSC) (KENT et al., 2002).

Tabela 3 - *Primers* dos genes *GJB1*, *LITAF*, *MPZ* e *PMP22* utilizados

Gene	Exon	Primer
<i>GJB1</i>	1F	5'-TGTA AACGACGGCCAGTTGAGGCAGGATGAACTGGACAGGT-3'
	1R	5'-CAGGAAACAGCTATGACCTTGCTGGTGAGCCACCTGCATGGC-3'
	2F	5'-TGTA AACGACGGCCCAGTATCTCCCATGTGCGGCTGTGGTCC-3'
	2R	5'-CAGGAAACAGCTATGACCGATGATGAGGTACACCACCT-3'
	3F	5'-TGTA AACGACGGCCAGTCGTCTTCATGCTAGCTGCCTCT-3'
	3R	5'-CAGGAAACAGCTATGACCTGGCAGGTTGCCTGGTATGT-3'
<i>LITAF</i>	2F	5'-TGTTTGCCAGAAAGAAAATTGA-3'
	2R	5'-TGGAACGTACTGGCACTTCA-3'
	3F	5'-CCTGCGTTCCTCTCTTTGTC-3'
	3R	5'-AATGTCTGGCCCTGAATGTC-3'
	4F	5'-CCAGTGTTACCCCTGTTGTG-3'
	4R	5'-AAGATATTCGGATAGGGCAATG-3'
<i>MPZ</i>	1F	5'-CCACCTCTCAACTGCACATG-3'
	1R	5'-ATTGCTGAGAGACACCTGAGTCC-3'
	2F	5'-TCCTCTGTATCCCTTACTGG-3'
	2R	5'-TTTGAAGCACTTCTGTTATCC-3'
	3F	5'-GGAGCTAAGCTTTGACAGCTGTG-3'
	3R	5'-ATCCCCTCCCAA ACTGCTTC-3'
	4F	5'-CGGACTAGGAACCACAGATAC-3'
	4R	5'-TCCGCCAGATGGGGGATAG-3'
	5F	5'-TGTGTCCGCGGTGCAAGGGGTTC-3'
	5R	5'-CTCCCAGGGTTCCTTCCCA-3'
<i>PMP22</i>	2F	5'-CTAGTGC GCGGACCCTC-3'
	2R	5'-CTGAACCAGCAGGAGCACGGGCTG-3'
	3F	5'-CATGCAGGGGTGGGCGGTGTG-3'
	3R	5'-GGGCTGAGAAACGTGTTACAG-3'
	4F	5'-TGGCCCTTCAGGCCCTGCACCT-3'
	4R	5'-CCCACACATACAAGCACCCACCCTCA-3'
	5F	5'-TTCCTACCCAGCAATTGTCAGC-3'
	5R	5'-CTTCTCCCTTCCCTATGTACG-3'

F: sequência *forward* (*sense*); R: sequência *reverse* (*antisense*)

3.7.2 Reação em cadeia da polimerase

As reações em cadeia da polimerase foram montadas à temperatura de aproximadamente 4°C (no gelo) e realizadas em termocicladores ABI, sendo utilizados os seguintes protocolos de sequenciamento:

3.7.2.1 Proteína 22 da mielina periférica (*PMP22*):

O protocolo de sequenciamento do gene *PMP22* está descrito nas tabelas 4 e 5, a seguir.

Tabela 4 - Protocolo da reação de PCR para o gene *PMP22*.

Reagente	Exon 2	Exon 3	Exon 4	Exon 5
ddH ₂ O	20,4 µl	20,4 µl	22,5 µl	33,4 µl
Buffer 10x	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl
dNTP	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl
MgCl ₂	3,0 µl	3,0 µl	1,0 µl	3,0 µl
DMSO	3,0 µl	3,0 µl	3,0 µl	-
Betaina	10,0 µl	10,0 µl	10,0 µl	-
Primer PMP 22 R	1,0 µl	1,0 µl	1,0 µl	1,0 µl
PMP 22 F	1,0 µl	1,0 µl	1,0 µl	1,0 µl
DNA	2,0 µl	1,0 µl	1,0 µl	1,0 µl
Taq	0,6 µl	0,6 µl	0,5 µl	0,6 µl

Tabela 5 - Perfil térmico da reação de PCR para o gene *PMP22*.

Programa	Exon 2 (Ta/xN ciclos)	Exon 3 (Ta/xN ciclos)	Exon 4 (Ta/xN ciclos)	Exon 5 (Ta/xN ciclos)
95°C - 5 minutos				
95°C - 30 segundos	67/x30	63/x35	65/x30	62/x40
Ta°C - 30 segundos				
72°C - 30 segundos				
72°C - 10 minutos				
4°C - ∞				

Ta – temperatura de anelamento; xN – número de ciclos

3.7.2.2 Fator alfa de necrose tumoral induzido por lipopolissacarídeo (*LITAF*):

O protocolo de sequenciamento do gene *LITAF* está descrito nas tabelas 6 e 7, a seguir.

Tabela 6 - Protocolo da reação de PCR para o gene *LITAF*.

Reagente	Exon 2	Exon 3	Exon 4
ddH ₂ O	34,9 µl	33,5 µl	34,9 µl
Buffer 10x	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl
dNTP	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl
MgCl ₂	1,5 µl	1,5 µl	1,5 µl
Primer LITAF R	1,0 µl	1,0 µl	1,0 µl
LITAF F	1,0 µl	1,0 µl	1,0 µl
DNA	1,0 µl	1,0 µl	1,0 µl
Taq	0,6 µl	0,5 µl	0,6 µl

Tabela 7 - Perfil térmico da reação de PCR para o gene *LITAF*.

Programa	Exon 2 (Ta/xN ciclos)	Exon 3 (Ta/xN ciclos)	Exon 4 (Ta/xN ciclos)
95°C - 5 minutos			
95°C - 30 segundos	61/x35	63/x35	65/x35
Ta°C - 30 segundos			
72°C - 30 segundos			
72°C - 10 minutos			
4°C - ∞			

Ta – temperatura de anelamento; xN – número de ciclos

3.7.2.3 Conexina 32 (*GJB1*):

O protocolo de sequenciamento do gene *GJB1* (*Cx32*) está descrito nas tabelas 8 e 9, a seguir.

Tabela 8 - Protocolo da reação de PCR para o gene *GJB1*.

Reagente	Exon 1	Exon 2	Exon 3
ddH ₂ O	31,6 µl	31,0 µl	31,0 µl
Buffer 10x	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl
dNTP	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl
MgCl ₂	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl
Primer GJB1 R	0,5 µl	0,8 µl	0,8 µl
GJB1 F	0,5 µl	0,8 µl	0,8 µl
DNA	2,0 µl	2,0 µl	2,0 µl
Taq	0,4 µl	0,4 µl	0,4 µl

Tabela 9 - Perfil térmico da reação de PCR para o gene *GJB1*.

Programa	Exon 1 (Ta/xN ciclos)	Exon 2 (Ta/xN ciclos)	Exon 3 (Ta/xN ciclos)
94°C - 5 minutos			
94°C - 30 segundos	70/x33	67/x35	69/x35
Ta°C - 30 segundos			
72°C - 30 segundos			
72°C - 10 minutos			
4°C - ∞			

Ta – temperatura de anelamento; xN – número de ciclos

3.7.2.4 Proteína Zero da Mielina (MPZ):

O protocolo de sequenciamento do gene *MPZ* (*P0*) está descrito nas tabelas 10 e 11, a seguir.

Tabela 10 - Protocolo da reação de PCR para o gene *MPZ*.

Reagente	Exon 1	Exon 2	Exon 3	Exon 4	Exon 5	Exon 6
ddH ₂ O	31,6 µl	31,0 µl	31,0 µl	35,4 µl	35,4 µl	25,4 µl
Buffer 10x	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl
dNTP	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl
MgCl ₂	5,0 µl	5,0 µl	5,0 µl	1,0 µl	1,0 µl	1,0 µl
Betaína	-	-	-	-	-	10,0 µl
Primer MPZ R	0,5 µl	0,8 µl	0,8 µl	1,0 µl	1,0 µl	1,0 µl
MPZ F	0,5 µl	0,8 µl	0,8 µl	1,0 µl	1,0 µl	1,0 µl
DNA	2,0 µl	2,0 µl	2,0 µl	1,0 µl	1,0 µl	1,0 µl
Taq	0,4 µl	0,4 µl	0,4 µl	0,6 µl	0,6 µl	0,6 µl

Tabela 11 - Perfil térmico da reação de PCR para o gene *MPZ*

Programa	Exon 1	Exon 2	Exon 3	Exon 4	Exon 5	Exon 6
	(Ta/xN ciclos)					
95°C - 5 minutos						
95°C - 30 segundos						
Ta°C - 30 segundos	65/x34	62/x34	65/x34	65/x34	65/x34	63/x34
72°C - 45 segundos						
72°C - 10 minutos						
4°C - ∞						

Ta – temperatura de anelamento; xN – número de ciclos

3.7.3 Reação de sequenciamento

Após a realização da amplificação dos genes descritos, foi realizada reação de sequenciamento direto, em ambas as direções, através de eletroforese capilar no equipamento ABI PRISM 3500XL (Applied Biosystems), com utilização da química *Big Dye* (Applied Biosystems). A análise do seu sequenciamento foi realizada através do *software Sequencing Analysis v 6.0* (Applied Biosystems).

O protocolo empregado foi o seguinte:

As amostras foram preparadas com o kit de reação *ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready* (Applied Biosystems). Para cada amostra a ser sequenciada, utilizaram-se aproximadamente 200-500ng de DNA (1-2 µl), 2 µl de primer 5pM/µl (específico para cada região analisada), 2 µl de *Big Dye* (deoxinucleotídeos, dideoxinucleotídeos fluorescentes, enzima Taq DNA-Polimerase), 2

μl de tampão de diluição do Big Dye (200mM Tris-HCl pH 9,0 e 5mM de cloreto de magnésio) e água milli-Q estéril, suficiente para um volume final de 10 μl.

O programa de PCR utilizado foi o seguinte:

Desnaturação – 96°C por 2 minutos (passo inicial)

Desnaturação – 96°C por 45 segundos

Pareamento – 50°C por 30 segundos

Extensão – 60°C por 4 minutos

Número total de ciclos = 35

Manutenção: 4°C por tempo indeterminado

3.7.4 Precipitação da reação de sequenciamento em placas:

Após a reação de sequenciamento, os 10 μl de cada reação foram transferidos para uma placa com 96 poços, contendo 1,0 μl de EDTA e 1,5 μl de Acetato em cada poço. Após 1 minuto de homogeneização, foi acrescentado 30 μl de etanol 100% gelado e novamente homogeneizado por 1 minuto, sendo então deixada em repouso por 15 minutos à temperatura ambiente. A placa foi a seguir centrifugada (3000rpm por 30 min), invertida e realizado spin de 200g por 20 segundos. A cada poço foi então acrescentado 35 μl de etanol 70% gelado. A placa foi novamente centrifugada a 2500rpm por 15 min, sendo imediatamente realizado novo spin de 200g por 20 segundos com a placa invertida. Para secagem da placa a mesma foi submetida à temperatura de 60°C por 10 min. No momento da corrida, foram acrescentados 10 μl de formamida gelada e realizada desnaturação com a utilização de temperatura de 95°C por 5 minutos, seguida pela imediata colocação da placa em cuba de gelo por, no mínimo, dois minutos.

3.7.5 Reação de eletroforese e análise das sequências:

A reação de eletroforese foi realizada em sequenciador automático ABI3500XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). As imagens dos eletroferogramas e a sequência dos nucleotídeos obtidos no sequenciamento foram feitas com os programas *Sequence Analysis – Applied Biosystems* versão 6.0 e *SeqMan (Lasergene – DNASTar®)*.

3.7.6 Nomenclatura

Todas as alterações encontradas no presente trabalho foram nomeadas de acordo com as diretrizes da *Human Genome Variation Society* (HGVS) (DEN DUNNEN et al., 2016) e do *American College of Medical Genetics and Genomics* (RICHARDS et al., 2015). Além disso, foi utilizada uma ferramenta de bioinformática, disponível online, que foi projetada para confirmar as descrições das variantes levando em consideração as normas da HGVS, chamada *Mutalyzer* (WILDEMAN et al., 2008).

3.7.7 Bioinformática

3.7.7.1 Estudo *in silico*

Para todas as alterações encontradas no trabalho, mesmo para aquelas que já haviam sido descritas na literatura, foram realizados estudos *in silico*, utilizando-se de ferramentas de bioinformática para a predição de patogenicidade.

Os programas utilizados foram *SIFT*, *Polyphen2* e *MutationTaster* que se utilizam de diferentes algoritmos para fazer essa predição.

O *SIFT* (*Sorting Tolerant From Intolerant*) baseia-se na conservação evolutiva dos aminoácidos dentro da família de proteínas, utilizando-se da homologia de sequências em bancos de dados. Posições altamente conservadas tendem a ser intolerantes à substituição, ao passo que aquelas com baixo grau de conservação tolerariam mais essas substituições. Com base nisso, desenvolveu-se um algoritmo, onde os resultados quanto mais próximos de zero, mais deletéria será a alteração encontrada (KUMAR; HENIKOFF; NG, 2009).

PolyPhen-2 (*Polymorphism Phenotyping v2*) utiliza-se de informações estruturais da proteína e faz comparações evolutivas. Com base nisso, desenvolveu-se um algoritmo, que ao contrário do *SIFT*, resultados quanto mais próximos de um (1), mais deletéria será a alteração encontrada (ADZHUBEI; JORDAN; SUNYAEV, 2013).

MutationTaster integra informações de diferentes bancos de dados biomédicos e se utiliza de ferramentas de análises estabelecidas. A análise baseia-se na conservação evolutiva, alterações em regiões de *splice*, perda de função da proteína e mudanças na expressão gênica (SCHWARZ et al., 2010).

3.7.7.2 Estudo de Frequência em bancos de dados populacionais

O *ExAC* (*Exome Aggregation Consortium*) é uma coligação de pesquisadores que buscam consolidar os dados de vários projetos de sequenciamento de exomas, e torná-los públicos para toda a comunidade científica. O conjunto de dados envolvidos nesse site abrange 60.706 indivíduos não relacionados que foram sequenciados como parte de vários estudos genéticos de doenças específicas na população. Foram removidos indivíduos afetados por doença pediátrica grave, pois se acreditava que assim estariam excluindo indivíduos afetados por doenças mendelianas de início na infância (LEK et al., 2016).

Também foram realizadas pesquisas nos bancos de dados, como o *1000 Genomes* e *NHLBI Exome Sequencing Project (ESP)* do *National Heart, Lung, and Blood Institute*. Ambos são projetos de exoma, que já foram finalizados e que contribuíram com dados para a realização do projeto *ExAC*. O *1000 Genomes* sequenciou 2.504 indivíduos de 26 diferentes populações, e os dados podem ser obtidos através do site do *European Bioinformatics Institute (EBI)/Ensembl* (YATES et al., 2016). Já o projeto *ESP*, sequenciou 6.503 indivíduos e os dados podem ser obtidos através do site do *Exome Variant Server, NHLBI (EVS)*, (2018). Também se utilizaram dados disponíveis no *ABraOM (Brazilian Genomic Variants)*, que se constitui em um banco de dados de variantes genômicas encontradas em uma coorte de idosos brasileiros, que são menos propensos a portarem mutações patogênicas de doenças que se iniciariam na infância ou na idade adulta (NASLAVSKY et al., 2017).

A tabela 12, na página seguinte, resume as ferramentas de bioinformática utilizadas.

3.7.8 Critério para sobreposição entre polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica e Doença de Charcot-Marie-Tooth.

O critério utilizado para confirmar a sobreposição entre PIDC e CMT foi a resposta positiva ao tratamento imunomodulador e/ou imunossupressor, nos pacientes do estudo em que foram identificadas mutações nos genes *PMP22*, *GJB1*, *MPZ* e *LITAF*.

Tabela 12 - Banco de dados e sites utilizados

BANCOS DE DADOS / PROGRAMAS PARA ANÁLISES <i>IN SILICO</i>	
SEQUÊNCIA	https://genome.ucsc.edu/ http://www.genatlas.org/ http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/ http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/ http://www.ensembl.org/index.html
NOMENCLATURA	http://varnomen.hgvs.org/ https://mutalyzer.nl/
POPULACIONAIS	http://exac.broadinstitute.org/ http://evs.gs.washington.edu/EVS http://abraom.ib.usp.br/
DOENÇA/MUTAÇÃO	http://www.omim.org/ http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/ http://www.hgmd.org https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?locusId=54332 http://mitodyn.org/home.php?select_db=GDAP1 http://www.molgen.ua.ac.be/CMTMutations/Mutations/Mutations.cfm?Context=20
PROTEÍNA	http://www.uniprot.org/
PROGRAMAS DE PREDIÇÃO	http://www.mutationtaster.org - Mutationtaster http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2 - Polyphen2 http://sift.jcvi.org - SIFT

3.7.9 Análise estatística

Os resultados representados por variáveis contínuas foram expressos em termos de média e desvio padrão, sendo a mediana, valores mínimos e máximos apresentados quando pertinente. As variáveis categóricas foram expressas sob a forma de porcentagens, em relação ao grupo total ou aos subgrupos, conforme apropriado. As diferenças entre os grupos foram avaliadas com a utilização dos testes t pareado, Mann-Whitney, ANOVA e Kruskal-Walis, no caso das variáveis contínuas, ou através do teste do qui-quadrado e do teste de Fisher, no caso das variáveis categóricas, quando pertinente. Significância estatística foi atribuída ao achado de $p \leq 0,05$.

3.7.10 Considerações éticas

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-FMRP/USP de acordo com o processo HCRP n° 14586/2010.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização da amostra

Foram incluídos 119 pacientes, sendo a idade média de $44,33 \pm 19,17$ anos, variando de 2 a 83 anos (mediana de 48 anos). Destes, 42 (35%) eram do sexo feminino e 77 (65%) do sexo masculino. Em relação à cor da pele, setenta e nove pacientes eram brancos (66,4%), seguidos por 12 pardos (10%), cinco negros (4%) e um amarelo (0,8%). Não havia referência à cor da pele em 22 casos (18,8%).

Os sintomas se iniciaram aos $41,13 \pm 19,51$ anos, variando dos seis meses de idade aos 78 anos, com mediana de 44,5 anos. No início os sintomas foram sensitivos em 64 (54%) pacientes, motores em 45 (38%) e sensitivo-motores em 10 (8,40%) pacientes.

A presença de um evento antecedente foi referida por 10 pacientes (8,40%), sendo infecções em sete casos, uso de interferon para tratamento de hepatite, gestação e perda de peso em um caso cada. Um paciente referiu um episódio prévio diagnosticado como Síndrome de Guillain-Barré. Dois pacientes referiram história familiar de neuropatia, porém sem maiores detalhes no prontuário que permitissem caracterizar o quadro.

O tempo de evolução até o nadir foi maior que oito semanas em 110 pacientes (92,4%), entre quatro e oito semanas em oito pacientes (6,8%), e menor que quatro semanas em um paciente (0,8%) (o qual teve o diagnóstico inicial de polineuropatia inflamatória demielinizante aguda, havendo posteriormente recorrência dos sintomas, o que levou a reclassificação do mesmo como PIDC). Em 92 pacientes (77%) a doença apresentou caráter progressivo, remitente-recorrente em 24 pacientes (20%) e se apresentou como episódio único em três pacientes (3%).

Apenas três pacientes não apresentavam manifestações motoras na avaliação inicial. Noventa e três pacientes (78%) tinham manifestações motoras nos membros superiores e inferiores. Em 21 pacientes (18%) as manifestações eram restritas aos membros inferiores, sendo distais e proximais em 17 casos, e em dois pacientes (1,7%) eram restritas a membros superiores. Em 13 pacientes (11%) houve acometimento de nervos cranianos. Atrofias musculares foram observadas em 48 pacientes (40,3%), não sendo observadas em 71 pacientes (59,7%).

Sintomas sensitivos foram observados em 91 pacientes (76%), estando ausentes em 27 pacientes (23%) e não pesquisados em uma paciente, devido à baixa idade da mesma, na época da avaliação inicial. A distribuição foi referida como em “bota e luva” em 71 (78%) pacientes, em “bota” em 17 (18,68%) pacientes e em “luva” em três (3,29%) pacientes. Esses sintomas foram simétricos em 79 (86,81%) pacientes e assimétricos em 12 (13,19%) pacientes.

Em 36 pacientes (30,25%) houve relato de dores, predominantemente em membros inferiores e com características neuropáticas. Parestesias foram relatadas por 83 pacientes (69,75%), sendo na maior parte das vezes com característica em “bota e luva”.

A alteração de reflexos osteo-tendíneos foi principalmente dos aquileus, abolidos em 106 pacientes e diminuídos em outros oito, apresentando alteração em 114 pacientes (95,79%), patelar em 106 pacientes (89,07%) (abolido em 84 e diminuído em 22), estilorrádial em 100 pacientes (84,03%) (abolido em 70 e diminuído em 30), tricipital em 98 pacientes (82,35%) (abolido em 59 e diminuído em 39) e bicipitais em 94 pacientes (78,99%) (abolido em 61 e diminuído em 33).

Dedos em martelo foram observados em 14 pacientes (11,76%) e pés cavos em 22 pacientes (18,49%). Mãos em garra foram encontradas em oito pacientes (6,72%). Escoliose foi um achado em dois pacientes (1,68%). A presença de hipertrofia neural foi constatada em sete pacientes (5,88%).

O líquido foi obtido em 100 pacientes (84,03%) e mostrou contagem média de células de $3,2 \pm 6,6$ células por mm^3 , variando de 0 a 56 células, com mediana de duas células. O valor mais alto encontrado foi de um paciente cujo líquido foi obtido após o início do tratamento com imunoglobulina. Foi observada hiperproteinorraquia com valor médio de $96,71 \pm 77,40$ mg/dL, variando de 14 a 504 mg/dL, com mediana de 79,50 mg/dL.

A eletroneuromiografia mostrou neuropatia desmielinizante em 111 pacientes (93,27%), sendo referida como assimétrica em 100 pacientes (90,09%). Em quatro casos (3,36%) os achados foram compatíveis com neuropatia axonal e em um caso (0,84%) foi encontrado achado compatível com desnervação parcial crônica. Não foi observado relato de eletroneuromiografia em três pacientes.

Em relação ao tratamento, quatro pacientes (3,36%) tinham quadro clínico considerado leve e estável, não tendo recebido qualquer tipo de tratamento medicamentoso, permanecendo em observação em relação à deterioração clínica. Nos

outros 115 pacientes (96,63%), foi utilizada alguma intervenção imunomoduladora e/ou imunossupressora, sendo as mais frequentes o emprego de corticóide em 85 pacientes (71,43%), sendo o uso isolado em 41 pacientes, ou em combinações variadas com imunoglobulina, plasmaférese e imunossupressores em 44 pacientes. Imunoglobulina foi utilizada como tratamento isolado em 22 pacientes (18,49%) e em combinação variada com imunossupressores em dois pacientes. Em cinco pacientes (4,20%) a plasmaférese foi uma opção terapêutica seguida por manutenção com imunoglobulina. Um paciente (0,9%) utilizava imunossupressores como tratamento prescrito em outro serviço.

Em relação ao seguimento, setenta e cinco pacientes (63,02%) tiveram evolução favorável com melhora dos sintomas, trinta e quatro pacientes (28,57%) apresentaram estabilização do quadro clínico e 10 pacientes (8,40%) apresentaram piora da doença.

4.2 Análise molecular e caracterização dos pacientes com mutações

Foram encontradas mutações em sete pacientes (7/119, 5,9%), sendo dois pacientes com duplicação do gene *PMP22*, dois com mutações no gene *MPZ (P0)* e três com mutações no gene *GJB1 (Cx32)*. Nenhum desses pacientes apresentava história familiar de neuropatia periférica. A caracterização destes pacientes é apresentada na tabela 13 (página 59).

Quatro pacientes (57%) eram do sexo feminino e três (43%) eram do sexo masculino. Em quatro pacientes a cor informada no prontuário era branca e nos demais não havia essa referência. A idade dos pacientes com mutação foi de $31,13 \pm 21,23$ anos, sendo o mínimo de 2,9 e o máximo de 71 anos na avaliação inicial, apresentando como mediana 24 anos. Os sintomas começaram aos $27,23 \pm 24,44$ anos, tendo como 6 meses a idade mínima, alcançando até os 69 anos como idade máxima, sendo a mediana 21 anos.

Tabela 13 - Características clínicas dos pacientes com diagnóstico prévio de PIDC nos quais foram encontradas mutações.

Paciente	Gene Mutação	Sexo	Idade da avaliação inicial	Idade de início dos sintomas [#]	Manifestação clínica inicial	Evento antece- dente
1	<i>PMP22</i> Duplicação	M	48	42	Sensitiva	Não
2	<i>PMP22</i> Duplicação	M	71	69	Motora	Não
3	<i>MPZ (P0)</i> Val58Asp (c.173T>A)	F	3	0,6	Motora	Não
4	<i>MPZ (P0)</i> Trp101Cys (c.303G>T)	F	13	1	Motora	Não
5	<i>GJB1 (Cx32)</i> Trp132Valfs*14 (c.394_395delTG);	M	20	19	Sensitiva	Não
6	<i>GJB1 (Cx32)</i> Trp24Cys c.72G>T	F	24	21	Sensitiva	Sim ^{&}
7	<i>GJB1 (Cx32)</i> Arg164Gln (c.491G>A)	F	39	38	Sensitiva	Não

[&]Início dos sintomas durante a gestação; [#] em anos

O Paciente 5 havia apresentado um episódio motor prévio, aos 13 anos de idade, que recebeu o diagnóstico de Síndrome de Guillain Barré, e ficou com sequela motora em membros inferiores desde então, mantendo-se estável até a idade de 19 anos, quando voltou a ter piora dos sintomas. O Paciente 1 tinha história de diabetes mellitus e há um ano estava em tratamento de hanseníase, mas a evolução da neuropatia não foi compatível com as neuropatias determinadas por essas doenças. Já a Paciente 3 apresentava uma neuropatia com diagnóstico sindrômico compatível com Doença de Dejerine-Sottas, porém ainda sem diagnóstico molecular que confirmasse sua etiologia, até a suspeita de PIDC. Ao longo do seguimento, essa paciente também desenvolveu diabetes mellitus tipo 1 e a evolução da neuropatia não foi compatível com neuropatia diabética.

As queixas iniciais foram descritas como sensitivas em quatro pacientes (57%) e motoras em três (43%). Todos os pacientes apresentaram duração da piora dos sintomas maior que oito semanas, cuja evolução foi caracterizada como progressiva em todos, com exceção do Paciente 5, no qual foi classificada como remitente. Seis pacientes

apresentaram fraqueza proximal e distal, ao passo que em um paciente a fraqueza foi classificada como distal.

Apenas um dos pacientes apresentou envolvimento de nervos cranianos, caracterizada por dificuldade para deglutição, chegando inclusive a necessitar do uso de sonda nasoentérica antes do tratamento com metilprednisolona. Quatro pacientes apresentaram amiotrofias, as quais não foram observadas em três pacientes. Sintomas sensitivos foram relatados por quatro pacientes e estavam ausentes em dois, não sendo possível a pesquisa na avaliação inicial de uma paciente devido à idade da mesma. Estes sintomas assumiram a configuração em bota e luva nos quatro casos. Dor foi relatada apenas por um paciente. Todos os pacientes apresentavam abolição do reflexo aquileu e de maneira variada em relação aos outros reflexos profundos. Dedos em martelo foram observados em dois pacientes e pés cavos em cinco pacientes. Mão em garra foi observada em um paciente, e nenhum deles apresentava escoliose, no momento da consulta inicial, sendo que a Paciente 3 desenvolveu escoliose ao longo do seguimento ambulatorial. Em um dos pacientes foi detectada hipertrofia neural durante o exame neurológico.

Em todos os pacientes a ENMG mostrou uma neuropatia desmielinizante, caracterizada como assimétrica em cinco e simétrica em dois. Em três pacientes havia dispersão temporal (dois pacientes com mutação no *MPZ* e um com mutação em *GJB1*). Em um deles foi encontrado bloqueio de condução motora (com mutação em *MPZ* e tendo diabetes mellitus tipo 1 como comorbidade).

O líquido foi avaliado em quatro pacientes e apresentou celularidade média de $0,9 \pm 1,7$ leucócitos/mm³, tendo como valores mínimo e máximo 0,1 e 2,5 leucócitos/mm³, respectivamente. Houve tendência a hiperproteinorraquia encontrando-se valor médio de proteínas de $59,2 \pm 29,0$ mg/dL, sendo os valores mínimo de 22,8 e máximo de 91,0 mg/dL.

Todos os pacientes realizaram biópsia de nervo sural. Em nenhuma delas foi encontrado infiltrado inflamatório. Todos apresentaram neuropatia desmielinizante, com evidência de bulbos de cebolas em cinco pacientes. Degeneração axonal foi relatada em quatro pacientes.

As características do líquido, da ENMG e da biópsia de nervo individuais são apresentadas na tabela 14, a seguir.

Tabela 14 - Características do líquido, da eletroneuromiografia e da biópsia de nervo dos pacientes com diagnóstico prévio de PIDC nos quais foram encontradas mutações

Paciente	Líquor células	Líquor proteínas	Eletroneuromiografia		Biópsia Mielina	Biópsia infiltrado inflamatório
1	0,16	91	Desmielinizante	NU	Desmielinização Bulbos de cebola	Ausente
2	NR	NR	Desmielinizante	U	Desmielinização Bulbos de cebola	Ausente
3	NR	NR	Desmielinizante	U	Desmielinização Bulbos de cebola	Ausente
4	1	70,7	Desmielinizante	NU	Desmielinização Bulbos de cebola	Ausente
5	2,5	52,2	Desmielinizante	NU	Desmielinização	Ausente
6	NR	NR	Desmielinizante	NU	Desmielinização Bulbos de cebola	Ausente
7	0,3	22,8	Desmielinizante	NU	Desmielinização	Ausente

NU: não uniforme; NR: não realizado; U: uniforme

4.2.1 História clínica dos pacientes nos quais foram encontradas mutações

A seguir, descrevemos de maneira sucinta, a história dos pacientes nos quais foram encontradas mutações, identificando-os conforme a ordem em que são apresentados nas tabelas anteriores. A resposta ao tratamento, configurando sobreposição entre PIDC e CMT, foi considerada com base no relato de melhora da função motora para as atividades de vida diária e/ou melhora documentada na ENMG.

Paciente 1

Paciente masculino, 48 anos (na avaliação inicial), pardo, casado, motorista aposentado, natural do estado de São Paulo e procedente do estado de Minas Gerais.

Informou, na consulta inicial, que há seis anos iniciou formigamentos nos membros inferiores, com lenta diminuição da força nas pernas, progressiva, com piora rápida da fraqueza há um ano. Deambula pequenas distâncias com dificuldade, necessitando apoio de bengala, e tem quedas frequentes. Há seis anos tem impotência sexual.

Tinha diagnóstico de diabetes mellitus há cinco anos, com controle não satisfatório. Há um ano foi feito diagnóstico de hanseníase virchowiana e estava em tratamento com dapsona, clofazimina, rifampicina e prednisona. Ex-etilista e está em abstenção de uso de álcool há 12 anos.

Não apresentava história familiar de neuropatia periférica.

Ao exame mostrava marcha atáxica, sinal de Romberg ausente. Amiotrofias em interósseos dorsais, regiões tenar, hipotenar, quadríceps e panturrilhas. Nervos cranianos normais. Tetraparesia com acometimento proximal e distal, pior em membros inferiores. Arreflexia global. Hipoestesia tátil e dolorosa em bota longa e luva. Apalestesia artelho-maleolar e hipopalestesia em joelhos e cotovelos.

A ENMG de maio/2003 foi compatível com neuropatia sensitivo-motora desmielinizante com componente axonal associado. Havia dispersão temporal nos nervos ulnares.

O exame do líquido em maio/2003 mostrou 1,6 células/mm³ e proteína de 91 mg/dL.

Ressonância magnética de medula em maio/2003 mostrou espessamento difuso de raízes lombares e sacrais.

Foi realizada biópsia de nervo sural em maio/2003. Neste exame não foi evidenciado infiltrado inflamatório e nem presença de bacilos álcool-ácido resistentes. A maioria dos fascículos apresentava acentuadíssima redução do número de fibras mielínicas e formações em bulbo de cebola. A conclusão informava tratar-se de neuropatia axonal gravíssima, havendo sugestão de que anteriormente houve componente desmielinizante significativo.

Em maio/2003 foi submetido à pulsoterapia com metilprednisolona por três dias, seguido por pulso mensal (um dia) com o mesmo medicamento de julho a novembro de 2003. Houve melhora da sensibilidade e da força. Após o terceiro pulso mensal andava dois quarteirões sem necessidade de bengala, mas ainda precisava apoiar-se para subir escadas.

Em junho de 2005, houve piora da força em pernas e braços, tendo sido submetido à pulsoterapia com IgIV por cinco dias e reforços mensais de julho/2005 a abril/2006. Houve melhora discreta da força, com estabilização do quadro.

Em 2010, voltou a ter piora da força, sendo indicado novo pulso com IgIV em setembro. No quinto dia do pulso evoluiu com infarto do miocárdio sem elevação do segmento ST. No seguimento ambulatorial, em novembro de 2010, não foi indicada

nova intervenção terapêutica devido às comorbidades (síndrome da apnéia obstrutiva do sono grave, insuficiência cardíaca congestiva, infarto agudo do miocárdio prévio, hipertensão arterial sistêmica e diabetes mellitus).

Em abril de 2012 apresentava piora progressiva dos sintomas da insuficiência cardíaca, tendo ficado restrito a cadeira de rodas em julho de 2012. O seguimento foi perdido em junho de 2014.

A análise molecular identificou duplicação do gene *PMP22*.

Paciente 2

Paciente masculino, 71 anos, moreno, casado, motorista aposentado, natural e procedente do estado de Minas Gerais.

Informava, na avaliação inicial, dificuldade para deglutir há dois anos associada a dificuldade para falar há um ano. Além disso, há cinco meses apresentava perda de força em pernas, progressiva, com dificuldade para deambular. Negava alterações de sensibilidade e alterações esfinterianas. Relatava emagrecimento de 12 kg em um ano. Houve necessidade de uso de sonda nasoenteral (SNE) devido à disfagia. Os sintomas apresentaram discreta melhora espontânea há cerca de dois meses.

Ex-tabagista, parou de fumar há 30 anos.

Negava história familiar de neuropatia periférica.

Ao exame: presença de pés cavos e dedos em martelo. Disfonia, diminuição da elevação do palato, reflexo do vômito hipoativo, tremor discreto em língua. Tetraparesia com acometimento proximal e distal, pior em membros inferiores. Arreflexia de aquileus e reflexos bicipital e tricípital hipoativos. Apalestesia em artelhos. Hipopalestesia em maléolos e quirodáctilos. Disestesia em bota e luva.

A ENMG foi compatível com neuropatia desmielinizante não uniforme.

A biópsia de nervo mostrou neuropatia predominantemente desmielinizante e hipertrófica. O laudo da biópsia afirmava que os achados poderiam ser compatíveis com a hipótese clínica de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica.

Em julho de 2003 foi submetido à pulsoterapia com metilprednisolona por três dias, com reforços mensais de um dia de agosto a novembro de 2003 e em janeiro de 2004. Houve pequena melhora da força em membros e marcada melhora da disfagia, possibilitando a retirada da SNE. Mantido em observação clínica a partir de então.

O último retorno ambulatorial ocorreu em abril de 2005. O paciente mantinha independência funcional, com engasgos ocasionais (mais para líquidos).

Posteriormente houve perda de seguimento devido a óbito do paciente.

A análise molecular identificou duplicação do gene *PMP22*.

Paciente 3

Paciente do sexo feminino, branca, dois anos e onze meses (na avaliação inicial), natural e procedente do estado de São Paulo.

Acompanhada pela responsável (tia) na consulta inicial, a qual relatava diminuição na força das pernas da criança desde os oito meses. Engatinhou com oito meses, sentou-se com apoio aos 12 meses e andou aos 20 meses, com dificuldade, se apoiando e com muitas quedas. Não havia notado alterações em membros superiores. Fala sem alterações para a idade.

Era cuidada pela tia (irmã do pai) desde os seis meses de idade. A mãe era etilista, sendo essa a única informação disponível no prontuário (tia desconhecia antecedentes mórbidos da mãe da criança).

Ao exame apresentava amiotrofias em extensores curtos dos dedos e interósseos, marcha com hiperextensão dos joelhos, base alargada e instável. Nervos cranianos sem alterações. Hipotonia global. Tetraparesia, com diminuição de força distal e proximal, mais acentuada em membros inferiores. Arreflexia global.

Em novembro de 2001, foi realizada ENMG que mostrou alterações de velocidade de condução sugestivas de diagnóstico de neuropatia hereditária, possivelmente neuropatia hereditária sensitivo-motora tipo III (Doença de Dejerine-Sottas), mas foram avaliados apenas dois nervos – mediano e ulnar, que tinham dispersão temporal, não sendo possível análise mais extensa devido o despertar da criança.

Permaneceu em seguimento regular no ambulatório, com acompanhamento pela fisioterapia, conduta terapêutica medicamentosa expectante e prosseguiu investigação da neuropatia.

Em 2006 realizou biópsia fascicular de nervo sural, que demonstrou neuropatia desmielinizante hipertrófica. Havia homogeneização do espaço endoneural, sugestivo de edema. Ausência de infiltrado inflamatório. Os achados podiam ser encontrados na neuropatia sensitivo-motora hereditária do tipo III (Dejerine-Sottas). O aspecto do

espaço endoneural era habitualmente visto na polirradiculoneuropatia inflamatória desmielinizante crônica.

Em 2009 desenvolveu diabetes mellitus tipo1. Nessa época teve relato de escoliose e de hiper-hidroze nas mãos.

Desde o início de 2010 passou a fazer uso de cadeira de rodas. ENMG realizada em agosto deste ano mostrou dispersão temporal, sendo interrogado componente adquirido e, em virtude da presença de fraqueza proximal importante foi aventada a hipótese de PIDC associado. Em setembro de 2010 foi realizada nova ENMG que trazia os mesmos achados de neuropatia motora desmielinizante com acentuada redução das velocidades de condução (que se encontravam na faixa de 5-9 m/s) e significativa dispersão temporal. Tais achados associados à clínica da paciente sugeriam uma neuropatia desmielinizante hereditária (Doença de Charcot-Marie-Tooth 1A ou no contexto da Doença de Dejerine Sottas), não se podendo excluir uma condição adquirida sobreposta.

Em maio de 2011, devido a piora da fraqueza, foi solicitado IgIV para teste terapêutico.

Houve grande intervalo de espera, sendo que a indução com IgIV foi realizada em fevereiro de 2015 (cinco dias), havendo relato de melhora subjetiva. Foram realizadas novas doses em janeiro de 2016 (dois dias) e em fevereiro de 2016 (um dia). No retorno ambulatorial (em junho de 2016) referia melhora da força com a IgIV, pois estava saindo da cadeira de rodas para sentar-se em outro local com um pouco mais de facilidade, e que piorou ao ficar sem a IgIV. Depois a força manteve-se estável.

Em setembro de 2015, realizou nova ENMG do membro superior após o tratamento que demonstrou, em comparação ao exame de setembro de 2010, melhora significativa da amplitude dos potenciais de ação muscular compostos dos nervos mediano e ulnar esquerdos, e melhora parcial da velocidade de condução nestes nervos e detecção de potenciais de ação sensitivos dos nervos mediano, ulnar e radial esquerdos.

No retorno, em maio de 2018, foi optado por manter sem IgIV devido a resposta clínica não significativa, apesar da melhora da ENMG, e estabilidade do quadro motor nos dois últimos anos. O quadro neurofisiológico apresentado na tabela 15, a seguir. O uso foi irregular devido à dificuldade de acesso à medicação.

A análise molecular identificou a mutação Val58Asp (c.173T>A) no gene *MPZ*.

Tabela 15 - Quadro comparativo da evolução neurofisiológica (ENMG) da Paciente 3.

	14/11/01			13/09/10			01/09/14			21/09/15		
	Lat	A	VC	Lat	A	VC	Lat	A	VC	Lat	A	VC
MOTOR												
Mediano dir												
Punho	7,85	0,11		12,2	0,80		7,5	0,60				
Cotovelo	27,5	0,18	5,6	37,8	0,61	8,6	25,7	0,43	11,5			
Axila				53	0,30	6,9	33,1	0,70	12,2			
Ulnar dir												
Punho	5,65	0,22		8,4	1,43		6,0	1,08				
↓ cotovelo	45,8	0,08	3,6	40,4	0,48	6,3	23,8	0,41	11,8			
↑ cotovelo				51,8	0,19	6,6	31,4	0,32	13,8			
Axila				60,4	0,35	9,3						
Mediano esq												
Punho				11	0,23					7,2	2,92	
Cotovelo				40,4	0,27	7,3				24,0	1,12	13,7
Axila										38,3	1,00	8,0
Ulnar esq												
Punho				8,4	1,14					6,2	3,31	
↓ cotovelo				39,8	0,32	6,2				28,1	1,20	11,0
↑ cotovelo				58	0,29	4,9				34,5	1,00	17,2
Axila				67,8	0,20	7,7						
SENSITIVO												
Mediano esq	NR			NR			ND			6,66	2,20	19,5
Ulnar esq	NR			NR			ND			5,04	2,50	20,8
Radial esq	NR			NR			ND			4,08	1,60	22,9

A: amplitude (motora: mV; sensitiva: μ V); Lat: latência (ms); VC: velocidade de condução (m/s); dir: direito; esq: esquerdo; ↓: abaixo; ↑: acima; ND: não detectado; NR: não realizado.

Paciente 4

Paciente do sexo feminino, branca, 13 anos de idade, estudante, natural e procedente do estado de Minas Gerais.

Na consulta inicial, em agosto de 2009, a acompanhante relatava que a jovem apresentava dificuldade para andar desde bebê. Teve demora em deambular, iniciando aos 20 meses, com posteriores quedas frequentes. Não conseguia correr e a força estava piorando, mais acentuadamente, há cerca de dois anos. Queixava-se ainda de desequilíbrios e câimbras em membros inferiores. Referia dificuldade para escrever e dor nas mãos. Tem asma.

Pais não apresentavam consanguinidade e não havia história familiar de neuropatia.

Ao exame mostrava amiotrofias em regiões tenar e hipotenar, com mão em garra à esquerda. Presença do sinal de Romberg, na avaliação do equilíbrio. Nervos cranianos sem alterações. Fraqueza proximal e distal, pior em membros inferiores. Arreflexia global. Hipoestesia tátil e dolorosa em bota e luva.

ENMG em agosto de 2009 mostrou polineuropatia sensitivo-motora, desmielinizante, assimétrica. Observou-se perda axonal associada, sem sinais de atividade. Presença de dispersão temporal em cinco nervos e bloqueio de condução em um.

O líquido mostrou uma célula por mm³ e proteína de 70 mg/dL.

Em 2010 realizou biópsia de nervo sural que evidenciou neuropatia desmielinizante hipertrófica. Não se observou infiltrado inflamatório ou edema. O laudo chamava atenção para o fato de que as formações em bulbo de cebola poderiam ser encontradas em associação principalmente com polirradiculoneuropatia inflamatória desmielinizante crônica, diabetes mellitus, doença de Charcot-Marie-Tooth e suas variantes e doença de Refsum.

Foi optado por teste terapêutico com IgIV, tendo realizado infusão em março de 2011 (cinco dias). Reforços (um dia) em maio, junho e setembro de 2011 e agosto de 2012. Não apresentou melhora com uso da imunoglobulina.

Em agosto de 2011, após o uso de IgIV, realizou ENMG que mostrou neuropatia sensitivo-motora, desmielinizante e assimétrica. Em comparação com o exame de agosto de 2009 não apresentava alterações significativas, mas mostrava uma tendência a certa piora (houve melhora da amplitude do potencial de ação muscular composto do nervo mediano direito – de 6,93 para 8,3 mV – e piora da amplitude do nervo ulnar esquerdo – de 6,33 para 2,58 mV). A evolução dos exames de ENMG é apresentada de maneira comparativa na tabela 16, a seguir.

A análise molecular identificou a mutação Trp101Cys (c.303G>T) no gene *MPZ*.

Tabela 16 - Quadro comparativo da evolução neurofisiológica (ENMG) da Paciente 4.

	10/08/09			01/08/11			11/05/15		
	Lat	A	VC	Lat	A	VC	Lat	A	VC
MOTOR									
Mediano dir									
Punho	5,2	6,93		5,8	8,3		6,7	6,91	
Cotovelo	39,6	3,53	6,1	46,6	3,0	5,1	62,1	1,28	4,2
Axila	46,2	0,46	20,5	51,0	0,70	25,0	ND		
Ulnar dir									
Punho	6,5	4,60		5,7	3,74		5,2	3,91	
↓ cotovelo	28,8	3,87	9,0	31,1	2,51	8,1	48,3	2,44	5,3
↑ cotovelo	33,4	3,26	15,2	38,3	2,60	11,8	57,2	0,33	12,4
Axila	42,2	2,88	9,1	49,5	1,42	6,2			
Mediano esq									
Punho	6,0	3,30		5,4	5,33				
Cotovelo	35,8	2,19	6,5	44,8	3,79	5,5			

continua

Tabela 16 - Quadro comparativo da evolução neurofisiológica (ENMG) da Paciente 4 (continuação).

Axila	46,2	0,94	10,8	59,8	1,48	8,0	
Ulnar esq							
Punho	3,8	6,33		5,1	2,58		
↓ cotovelo	28,1	3,98	8,6	33,2	2,37	7,5	
↑ cotovelo	31,7	3,88	20,8	38,7	2,39	16,4	
Axila	39,2	1,51	12,7	49,1			
Peroneiro dir							
Tornozelo	10,9	1,65		14,0	1,0		
Cab fíbula	55,8	0,84	5,8	52,9	0,53		
Poplíteo	60,8	0,58	16,0	55,2	0,78		
Peroneiro esq							
Tornozelo	11,4	1,01					
Cab fíbula	52	1,02	5,8				
Poplíteo	56	0,81	17,5				
Tibial dir							
Tornozelo	ND			10,1	0,32		
Tibial esq							
Tornozelo	12,35	0,10					
Frênico dir						ND	
Frênico esq						ND	
SENSITIVO							
Sural dir		ND					
Peron Sup dir		ND					
Peron Sup esq		ND					
Mediano esq	6,26	1,15	20,0				
Ulnar esq	5,18	3,00	22,2				
Radial esq		ND					
Mediano dir	ND			6,82	0,58	17,6	ND
Ulnar dir	5,44	2,80	18,4	5,33	1,70	19,4	ND
Radial dir		ND					

A: amplitude (motora: mV; sensitiva: μ V); Lat: latência (ms); VC: velocidade de condução (m/s); dir: direito; esq: esquerdo; cab: cabeça; peron sup: peroneiro superficial; ↓: abaixo; ↑: acima; ND: não detectado; NR: não realizado.

Paciente 5

Paciente do sexo masculino, 20 anos, branco, trabalha como agente de saúde, natural e procedente do estado de São Paulo.

Consulta inicial em março de 2004. Referia que aos 12 anos de idade apresentou quadro motor, com tetraparesia de evolução rápida, com duração de uma semana, que foi interpretado como Síndrome de Guillain-Barre, tendo realizado ENMG compatível com o diagnóstico da doença na época. Ficou com tremor e fraqueza distal, principalmente em pés, que permaneceu estável por vários anos. Há um ano vinha apresentando diminuição da sensibilidade em mãos e pés, além de parestesias que pioravam com esforço e dores em pernas e antebraços. Também referia piora dos tremores (antes apenas aos esforços e atualmente em repouso). Engasgos eventuais e dispnéia quando fadigado. Andava quatro quarteirões com dificuldade extrema.

Necessitava de auxílio para abotoar a roupa. Negava etilismo e tabagismo. Negava casos de neuropatia periférica na família.

Ao exame apresentava tremor postural (moderado) e em repouso (leve) em mãos, amiotrofias em interósseos, tenar e hipotenar. Dedos em martelo. Marcha escarvante e talonante. Nervos cranianos sem alterações. Tetraparesia proximal e distal, de predomínio distal e em membros inferiores. Arreflexia bicipitais, patelares e aquileus. Hipoestesia tátil e dolorosa em bota e luva. Hipopalestesia acentuada em pododáctilos, moderada em maléolos e quirodáctilos.

O líquido mostrava 2,3 células por mm^3 e concentração de proteínas de 52,2 mg/dL.

ENMG de abril de 2004 mostrou polineuropatia sensitivo-motora desmielinizante com grave componente axonal associado.

Biópsia de nervo sural em abril de 2004 mostrou neuropatia predominantemente desmielinizante.

Devido à hipótese diagnóstica de PIDC foi optado por pulso com metilprednisolona na dose de um grama ao dia, por três dias (em abril de 2004), seguido por reforços mensais (um grama em um dia) em junho, julho e setembro de 2004.

Após pulsos, referia melhora da força, podendo deambular mais de quatro quarteirões e também houve melhora da movimentação fina (conseguia abotoar as roupas sozinho).

Em janeiro de 2005 realizou nova ENMG que mostrou neuropatia sensitivo-motora desmielinizante assimétrica (não uniforme), com acentuada perda axonal associada a sinais de atividade. Em relação ao exame de abril de 2004 não houve alteração neurofisiológica substancial (dispersão temporal em mediano e ulnar direitos).

Em junho de 2008 houve piora da força em membros inferiores. A ENMG mostrou evidência de piora de perda axonal e manutenção dos sinais de atividade. Observado bloqueio de condução em ulnares no antebraço e dispersão temporal em medianos. Foi indicado novo pulso com solumedrol (três dias) seguido por reforços mensais por seis meses. A evolução temporal dos exames de ENMG é apresentada na tabela 17, a seguir.

Tabela 17 - Quadro comparativo da evolução neurofisiológica (ENMG) do Paciente 5.

	23/04/04			25/01/05			11/06/08			04/12/14		
	Lat	A	VC	Lat	A	VC	Lat	A	VC	Lat	A	VC
MOTOR												
Mediano dir												
Punho	4,85	1,1		5,1	0,2		5,5	0,44		4,3	4,86	
Cotovelo	13,35	0,7	30,0	12,15	0,3	35,5	10,25	0,20	52,6	11,35	4,39	31,9
Axila	17,2	0,9	40,3	17,25	0,2	23,5	16,8	0,12	14,5	13,7	4,07	46,8
Ulnar dir												
Punho	3,80	6,7		4,0	5,8		3,6	3,63		3,6	7,66	
↓ cotovelo	10,3	5,2	43,1	10,0	2,8	44,2	10,5	2,17	36,2	9,75	6,12	36,6
↑ cotovelo	11,5	4,8	41,7	12,65	2,3	38,5	12,35	1,97	37,8	12,05	6,06	47,8
Axila	13,6	4,5	34,9	14,0	1,2	57,1	13,95	1,80	53,1	14,75	5,92	29,6
Mediano esq												
Punho	4,3	3,2					6,05	0,76		4,65	5,76	
Cotovelo	12,6	2,9	31,5				16,05	0,49	25,0	10,7	4,53	37,2
Axila	15,7	2,4	40,3				20,0	0,23	27,8	12,95	4,43	48,9
Ulnar esq												
Punho	4,2	7,3	38,2				4,45	4,08		3,55	6,29	
↓ cotovelo	11,0	5,4	34,9				11,4	2,81	38,1	8,5	6,11	44,4
↑ cotovelo	13,1	4,7	31,5				13,9	2,72	34,0	11,5	4,24	42,7
Axila	15,8	3,7					16,25	2,71	34,0			
Peroneiro dir												
Tornozelo				ND						7,55	0,60	
Cab fíbula	4,7	0,1								3,1	0,31	
Poplíteo	7,4	0,1	23,3							4,95	0,27	33,5
Peroneiro esq												
Tornozelo										4,5	1,85	
Cab fíbula	3,4	0,34								15,35	1,79	28,6
Poplíteo	6,5	0,35	28,3							16,75	1,73	42,9
Tibial dir												
Tornozelo	8,4	0,1		7,75	0,06		23,2	0,26		4,4	3,48	
Poplíteo	26,5	0,1	23,3							19,3	0,55	26,2
Tibial esq												
Tornozelo	8,6	0,4								5,15	4,17	
Poplíteo	22,4	0,5	30,7							16,2	3,12	35,3
SENSITIVO												
Sural dir												
	2,9	3,0	32,8							ND		
Sural esq												
	3,7	2,1	32,1							ND		
Peron Sup dir												
	3,5	2,3	34,3							3,16	1,0	26,9
Peron Sup esq												
	3,44	2,0	30,5							ND		
Mediano esq												
	ND									3,42	1,7	38,0
Ulnar esq												
	ND									3,26	1,4	35,3
Radial esq												
	2,08	5,6	37,1							2,34	4,2	36,3
Mediano dir												
	ND			ND			ND			3,92	2,0	34,4
Ulnar dir												
	ND			5,94	0,2	19,4	ND			3,48	2,0	33,0
Radial dir												
	2,64	5,0	39,8	4,30	1,6	30,2				2,8	6,2	35,7

A: amplitude (motora: mV; sensitiva: μ V); Lat: latência (ms); VC: velocidade de condução (m/s); dir: direito; esq: esquerdo; cab: cabeça; peron sup: peroneiro superficial; ↓: abaixo; ↑: acima; ND: não detectado; NR: não realizado.

Em janeiro de 2009, no retorno ambulatorial, referia melhora da força. A força permanecia estável no retorno de novembro de 2009, tendo sido optado por observação clínica.

A análise molecular identificou a mutação Trp132Valfs*14 (c.394_395delTG) no gene *GJB1*.

Paciente 6

Paciente do sexo feminino, 21 anos, branca, do lar, casada, procedente do estado de Goiás.

Foi avaliada inicialmente em dezembro de 1994 referindo que há quatro meses notava dificuldade para escrever. Há quatro anos vinha apresentando parestesias em pernas e pés. Os sintomas se iniciaram após a primeira gestação e se mantiveram intermitentes, ocorrendo também na segunda gestação, dois anos após. Há cinco meses vinha apresentando dormências nas mãos, intermitentes. Dificuldade para subir escadas (cansaço, palpitações). Tabagista de dois a três cigarros ao dia. Nega diabetes mellitus e etilismo. Nega história familiar de neuropatia.

ENMG de dezembro de 1994 mostrou neuropatia sensitivo-motora assimétrica, comprometimento não-uniforme e intermediário das respectivas velocidades de condução. Dispersão temporal em alguns nervos.

Ao exame neurológico apresentava diminuição de força em mãos e pés, arreflexia em aquileus, hipoestesia tátil e dolorosa em bota e luva, hipopalestesia artelho-maleolar.

Pela suspeita de PIDC foi indicado plasmaférese (sete sessões), em março de 1995, com melhora significativa da força e das parestesias.

Em fevereiro de 1996 queixava de dormências em membros superiores e em membros inferiores, com instalação progressiva há dois meses. Ao exame apresentava diminuição da força para flexão das coxas. Indicado IgIV por três dias com melhora importante dos sintomas.

Em abril de 1996 retornou referindo que ficou um mês bem e que havia retornado a dormência e a redução de força em mãos. ENMG realizada neste mês foi compatível com neuropatia desmielinizante. Indicado manutenção de doses mensais de IgIV, tendo realizado cinco ciclos de um dia ao mês com estabilização dos sintomas. Realizou biópsia de nervo sural que mostrou bulbos de cebola.

Em maio de 1999 volta com história de piora dos sintomas há seis meses, após o parto. ENMG mostrava sinais de desnervação aguda no músculo gastrocnêmio direito e bloqueio de condução no nervo peroneiro direito. Indicado novo pulso com IgIV por três dias e reforços mensais com melhora dos sintomas, durando cerca de 20 dias após a infusão da mesma.

Perdeu seguimento em junho de 2000.

A análise molecular identificou a mutação Trp24Cys (c.72G>T) no gene *GJB1*.

Paciente 7

Paciente do sexo feminino, 38 anos, branca, representante comercial, natural e procedente do estado de São Paulo.

Na avaliação inicial, em outubro de 2008, contou que há seis meses iniciou dor em dedos de mão direita, que irradiava para face medial do membro superior direito, seguida por fraqueza (não conseguia segurar copos, não girava chaves, dificuldade para escrever), progressiva. Negava etilismo, tabagismo, diabetes mellitus. História familiar de neuropatia ausente.

Ao exame neurológico apresentava nervos ulnar direito e retroauricular direito espessados. Diminuição de força em dedos das mãos e pés. Reflexos aquileus abolidos. Hipoestesia tátil e dolorosa em braços e pernas, assimétrica. Hipopalestesia em artelhos e quirodáctilos.

ENMG de maio de 2009 mostrou neuropatia sensitivo-motora desmielinizante, assimétrica, com grave perda axonal associada, sem sinais de atividade. O comprometimento do músculo glúteo médio à esquerda corroborava um comprometimento radicular associado (polirradiculoneuropatia). Os achados acima descritos são encontrados na PIDC.

Líquor mostrou 0,3 células por mm³ e concentração de proteínas de 22,8 mg/dL.

Ultrassonografia de nervos ulnares realizada em março de 2009 foi normal.

Biópsia de nervo sural foi compatível com PIDC, mostrando uma neuropatia predominantemente desmielinizante com presença de bulbos de cebola.

Foi realizado *tilt-test* que mostrou discreto comprometimento do componente vagal.

Em setembro de 2009, devido a hipótese de PIDC e história de alergia a corticosteróides foi iniciado IgIV por cinco dias, seguido por reforços de 01 dia por mês. Houve melhora da dor. Não se observou alteração na força e na sensibilidade.

Foi realizada nova ENMG em julho de 2010, que comparada com o estudo anterior, de maio de 2009, mostrou um aumento da amplitude dos potenciais de ação musculares compostos dos nervos mediano e tibial direitos, bem como melhora da velocidade de condução dos demais nervos avaliados. Foi observada diminuição da amplitude dos potenciais de ação sensitivos dos nervos sural e fibular superficial

direitos, tendo este último nervo apresentado também dispersão temporal. A evolução comparativa dos exames de ENMG é apresentada na tabela 18, a seguir.

A análise molecular identificou a mutação Arg164Gln (c.491G>A) no gene *GJB1*.

Tabela 18 - Quadro comparativo da evolução neurofisiológica (ENMG) da Paciente 7.

	16/06/09			20/07/10		
	Lat	A	VC	Lat	A	VC
MOTOR						
Mediano dir						
Punho	3,6	3,40		3,75	4,30	
Cotovelo	8,45	2,43	44,3	8,50	2,90	44,2
Axila	10,95	2,22	44,0	11,1	2,40	44,2
Ulnar dir						
Punho	2,25	6,24		2,25	6,00	
↓ cotovelo	6,45	5,22	47,6	6,10	4,50	53,2
↑ cotovelo	7,95	4,60	53,3	7,60	4,00	56,7
Axila	9,45	4,03	50,0	9,30	3,20	52,9
Mediano esq						
Punho	3,8	4,90				
Cotovelo	8,85	4,40	38,6			
Axila	11,25	4,10	39,6			
Ulnar esq						
Punho	2,75	5,08				
↓ cotovelo	7,15	4,15	43,2			
↑ cotovelo	9,05	3,17	47,4			
Axila	10,55	3,11	46,7			
Peroneiro dir						
Tornozelo	5,45	2,45		3,70	2,15	
Cab fíbula	13,75	1,71	31,9	12,85	0,96	32,2
Poplíteo	16,25	1,71	30,0	14,25	0,97	46,6
Peroneiro esq						
Tornozelo	6,3	1,68				
Cab fíbula	13,6	1,03	36,3			
Poplíteo	15,9	0,95	30,4			
Tibial dir						
Tornozelo	5,0	3,02		4,10	5,09	
Poplíteo	13,4	1,10	40,5	12,15	1,17	43,5
Tibial esq						
Tornozelo	5,55	4,63				
Poplíteo	14,85	0,28	36			
SENSITIVO						
Sural dir	2,04	26,1	36,8	1,68	13,3	41,7
Sural esq	2,64	9,2	32,2			
Peron Sup dir	2,96	2,3	35,5	2,12	0,9	40,1
Peron Sup esq	3,94	4,2				
Mediano esq	3,2	4,7	40,6			
Ulnar esq	3,08	4,6	36,7			
Radial esq	2,26	10,7	46,5			
Mediano dir	3,02	3,4	39,7	2,3	4,1	47,8
Ulnar dir	2,76	5,2	39,1	2,6	8,5	40,4
Radial dir	2,0	5,2	44,0	1,34	24,2	59,7

A: amplitude (motora: mV; sensitiva: μ V); Lat: latência (ms); VC: velocidade de condução (m/s); dir: direito; esq: esquerdo; cab: cabeça; peron sup: peroneiro superficial; ↓: abaixo; ↑: acima; ND: não detectado; NR: não realizado.

4.3 Caracterização dos pacientes nos quais foram excluídas mutações nos genes *GJB1*, *LITAF*, *MPZ* e *PMP22*.

Em 112 pacientes não foram encontradas mutações nas regiões codificantes dos genes *GJB1*, *LITAF*, *MPZ* e *PMP22*.

A idade média destes pacientes, na avaliação inicial, foi de $45,16 \pm 18,70$ anos, com valor mínimo de dois anos e dois meses e o máximo de 83 anos, configurando mediana de 49 anos. A idade de início dos sintomas foi de $42,00 \pm 18,95$ anos, com mediana de 45 anos, e valores mínimo e máximo de oito meses e 78 anos, respectivamente.

A distribuição por sexo mostrou 74 pacientes masculinos (66%) e 38 pacientes do sexo feminino (34%). Em relação à cor, 75 pacientes (80,65%) eram brancos, cinco pacientes negros (5,38%), 12 pacientes (12,90%) eram pardos e um paciente (1,08%) amarelo. Em 19 pacientes não foi possível a verificação deste dado no prontuário.

A primeira manifestação foi referida como sensitiva em 60 pacientes (53,57%), motora em 42 pacientes (37,50%) e sensitivo-motora em 10 pacientes (8,93%). A presença de um evento antecedente foi relatada por 10 (8,93%) dos pacientes, ao passo que 102 (91,07%) dos pacientes não apresentaram evento antecedente.

Conhecimento prévio de neuropatia periférica foi relatado por cinco pacientes (4,46%), sendo que 107 pacientes (95,54%) não apresentavam referência prévia a neuropatia. História familiar de neuropatia periférica foi apresentada por dois pacientes (1,79%) e estava ausente em 110 pacientes (98,21%).

A evolução da doença até a piora máxima foi maior que oito semanas em 103 pacientes (91,96%), entre quatro e oito semanas em oito pacientes (7,14%) e menor que quatro semanas em um paciente (0,9%). Os sintomas tiveram evolução progressiva em 86 pacientes (76,79%), remitente-recorrente em 23 pacientes (20,53%) e interpretada como episódio único em três pacientes (2,68%).

O acometimento motor foi observado nos segmentos proximal e distal dos quatro membros em 68 pacientes (62,38%), distal em membros superiores e inferiores em 17 pacientes (15,60%), distal e proximal em membros inferiores em 13 pacientes (11,93%), proximal em membros inferiores em quatro pacientes (3,76%), distal em membros inferiores em quatro pacientes (3,76%), distal em membros superiores em dois pacientes (1,84%) e proximal em membros superiores e inferiores em um paciente (0,9%). Em três pacientes não havia manifestações motoras. Assim, fraqueza proximal

foi encontrada em 86 pacientes (78,8%). As manifestações motoras foram simétricas em 89 pacientes (80,18%) e assimétrica em 19 pacientes (17,12%). Em um paciente (0,90%) foi definida como focal.

Houve comprometimento de nervos cranianos em 12 pacientes (10,71%) e em 100 pacientes (89,29%) esse comprometimento não foi observado. Amiotrofia foi observada em 44 pacientes (39,29%) e estava ausente em 68 pacientes (60,71%).

Sintomas sensitivos estavam presentes em 87 pacientes (77,68%) e ausentes em 25 pacientes (22,32%). A distribuição em bota e luva foi encontrada em 67 pacientes (59,82%), seguida pela distribuição em bota em 17 pacientes (15,18%) e em luva em três pacientes (2,68%). Os sintomas sensitivos foram simétricos em 76 pacientes (67,86%) e assimétricos em 11 pacientes (9,82%).

Presença de dor foi relatada por 35 pacientes (31,25%) e estava ausente em 77 pacientes (68,75%). Hipoestesia dolorosa foi encontrada em 93 pacientes (83,04%). A sensibilidade dolorosa estava normal em 19 pacientes (16,96%).

Hipoestesia tátil foi observada em 89 pacientes (79,46%) e estava ausente em 23 pacientes (20,54%). Em 89 pacientes (79,46%) foi encontrada hipopalestesia. A pesquisa da sensibilidade vibratória foi normal em 23 pacientes (20,54%).

Arreflexia foi encontrada em bicipitais, tricipitais, estilorradiais, patelares e aquileus em 58 (51,79%), 56 (50%), 67 (59,82%), 80 (71,43%) e 99 (88,30%) dos pacientes, respectivamente. Hiporreflexia foi observada nestes mesmos sítios em 31 (27,68%), 37 (33,04%), 30 (26,79%), 21 (18,75%) e oito (7,14%) pacientes, respectivamente. Reflexos normais em bicipitais, tricipitais, estilorradiais, patelares e aquileus foram encontrados em 23 (20,54%), 19 (16,96%), 15 (13,39%), 11 (9,82%) e 5 (4,46%) destes pacientes.

Dedos em martelo foram observados em 12 pacientes (10,81%) e estavam ausentes em 99 pacientes (89,19%). Pés cavos estavam presentes em 17 pacientes (15,32%) e ausentes em 94 pacientes (84,68%). Mãos em garra foram vistas em sete pacientes (6,31%) e estavam ausentes em 105 (93,69%). Escoliose foi observada em dois pacientes (1,80%), estando ausente em 110 pacientes (98,20%). Hipertrofia neural foi encontrada em seis pacientes (5,45%) e estava ausente em 104 (94,55%), sendo que em dois não havia relato em relação à mesma.

O líquido foi avaliado em 97 pacientes (86,6%) e evidenciou celularidade média de $3,32 \pm 6,75$ leucócitos/mm³, sendo o mínimo de zero células e o máximo de 56 células no líquido coletado de um paciente que já havia iniciado o tratamento com IgIV. O

exame de proteínas no líquido mostrou concentração média de $97,48 \pm 78,44$ mg/dL, sendo os valores mínimo e máximo 14 e 504 mg/dL, respectivamente.

A ENMG foi laudada como desmielinizante em 103 pacientes (91,96%), caracterizada como não-uniforme em 98 casos (95,15%) e uniforme em cinco pacientes (4,85%). Em dois pacientes (17,85%) o padrão encontrado na ENMG foi compatível com intermediário e em quatro casos com axonal (3,57%). Dois desses pacientes que tinham padrão axonal na ENMG realizaram biópsia de nervo na qual foi evidenciado presença de sinais compatíveis com neuropatia desmielinizante.

Biópsia de nervo foi realizada em 46 pacientes (41,07%). Observado infiltrado inflamatório em oito pacientes (17,39%), nos quais foi caracterizado como leve. Em cinco pacientes (10,87%) o infiltrado era constituído por linfócitos, em dois (4,35%) por macrófagos e em um paciente havia presença de linfócitos e macrófagos. Em 38 pacientes (82,61%) não foi encontrado infiltrado inflamatório. A bainha de mielina foi descrita como normal em cinco pacientes. Em 38 pacientes (82,61%) foram encontradas evidências inequívocas de desmielinização e em oito pacientes (17,39%) foram observadas formações do tipo “bulbo de cebola”. Edema endoneural/subneural foi encontrado em oito pacientes (17,39%). Degeneração axonal foi observada em 37 pacientes (80,43%).

Nenhuma doença associada foi referida por 78 pacientes (69,64%) e não foi possível recuperar essa informação em três casos. Diabetes mellitus foi referida por 21 pacientes (18,75%), gamopatia monoclonal IgM sem anticorpos contra a glicoproteína associada a mielina por dois pacientes (1,78%), hepatite por quatro pacientes (3,57%), lúpus eritematoso sistêmico ou outra doença do tecido conectivo por dois pacientes (1,78%), tireoidopatia por oito pacientes (7,14%).

Em apenas quatro pacientes (3,57%) foi adotada conduta expectante, em virtude das características clínicas e evolutivas da doença, com pequeno acometimento funcional. Em todos os outros casos, houve intervenção terapêutica, sendo o uso de pulsos endovenosos com metilprednisolona a conduta mais adotada, alcançando 39 pacientes (34,82%) de maneira isolada e mais 43 pacientes (38,39%) em combinações, totalizando 82 pacientes (73,21%). Imunoglobulina humana endovenosa isolada foi o tratamento de 19 pacientes (16,96%), e empregada em combinação em 47 pacientes (41,96%), totalizando 66 pacientes (58,93%). Imunossupressor foi referido como tratamento isolado em apenas um paciente (0,9%), sendo utilizado em combinação em 14 pacientes (12,50%). Plasmaférese isolada não foi utilizada como terapêutica por

nenhum paciente, mas foi utilizada em algum momento no tratamento de 12 pacientes (10,71%). Esses tratamentos obedeceram às diretrizes da literatura internacional, no que diz respeito a doses e tempo de tratamento.

Na evolução, obervou-se melhora em 70 pacientes (62,50%), estabilização dos sintomas da doença em 32 pacientes (28,57%), perfazendo um bom prognóstico em 91,07% dos pacientes. Em dez pacientes (8,93%) houve piora do quadro.

4.4 Características sugestivas de sobreposição entre polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica e Doença de Charcot-Marie-Tooth nos pacientes que apresentaram mutações.

A presença de algumas características clínicas e/ou alterações laboratorias, poderiam sugerir, nos pacientes com diagnóstico de CMT, a ocorrência de sobreposição com PIDC. Chamam a atenção dentre estas características a presença de progressão rápida dos sintomas, a presença de manifestações clínicas assimétricas, a ENMG mostrando condução nervosa não-uniforme, a presença de infiltrado inflamatório na biópsia de nervo periférico, ocorrência de sintomas sensitivos positivos, achado de fraqueza não-comprimento dependente e a resposta positiva ao tratamento. Essas características estão apresentadas na tabela 19, a seguir.

Tabela 19 - Achados sugestivos do diagnóstico de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica nos pacientes nos quais foram encontradas mutações.

Paciente	Progressão rápida sintomas	Manifestações assimétricas	Condução nervosa não-uniforme	Infiltrado inflamatório biópsia	Sintomas sensitivos positivos	Fraqueza não-comprimento dependente	Resposta positiva ao tratamento
1	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
2	Sim	Não	Não	Não	Sim	Sim	Sim
3	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não
4	Não	Não	Sim	Não	Não	Sim	Não
5	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
6	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
7	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Não

Por outro lado, algumas dessas mesmas características poderiam alertar o profissional, frente a um paciente com diagnóstico inicial de PIDC, de que a neuropatia, na verdade, poderia se tratar de uma neuropatia hereditária (CMT).

Ao se realizar a comparação destes dois grupos (com mutação e sem mutação), obtivemos os resultados apresentados nas tabelas 20, 21 e 22, que se encontram a seguir:

Tabela 20 - Características epidemiológicas (idade da primeira avaliação, idade de início dos sintomas, gênero e cor) dos pacientes com suspeita inicial de polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica em seguimento no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do HC-FMRP/USP, de acordo com a presença ou ausência de mutações nos genes *GJB1*, *LITAF*, *MPZ* e *PMP22*.

		Com mutação	Sem mutação	Análise estatística
Idade (anos; mediana)		24	49	p=0,79*
Idade de início dos sintomas (anos; mediana)		21	45	p=0,59*
Gênero	Masculino	3,90%	96,10%	p=0,24**
	Feminino	9,52%	90,48%	
Cor	Branco	5,06%	94,94%	p=1,0**
	Não branco	0	100%	

(*) Teste de Mann-Whitney; (**) Teste exato de Fisher

Tabela 21 - Comparação dos valores de celularidade e concentração de proteínas no líquido dos pacientes com diagnóstico final de PIDC (ou seja, sem mutação) ou com mutação *GJB1*, *LITAF*, *MPZ* e *PMP22* (CMT) em seguimento no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do HC-FMRP/USP.

	Com mutação	Sem mutação	Análise estatística*
Celularidade (células/mm ³ ; mediana)	0,65	2,0	p= 0,16
Proteínas (mg/dL; mediana)	61,45	80,0	p= 0,32

(*) Teste de Mann-Whitney

Tabela 22 - Comparação dos achados sugestivos de concomitância entre Doença de Charcot-Marie-Tooth e polineuropatia inflamatória desmielinizante cônica nos pacientes com diagnóstico final de PIDC (ou seja, sem mutação) ou com mutação *GJB1*, *LITAF*, *MPZ* e *PMP22* (CMT) em seguimento no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do HC-FMRP/USP.

		Com mutação (%)	Sem mutação (%)	p *
Progressão rápida dos sintomas	Sim	5 (21,74)	18 (78,26)	0,003
	Não	2 (2,08)	94 (97,92)	
Manifestações assimétricas	Sim	3 (8,57)	32 (91,43)	0,42
	Não	4 (4,76)	80 (95,24)	
Condução nervosa não-uniforme	Sim	5 (4,81)	99 (95,19)	0,19
	Não	2 (14,29)	12 (85,71)	
Infiltrado inflamatório na biópsia de nervo periférico	Sim	0 (0)	10 (100)	0,33
	Não	7 (15,22)	39 (84,78)	
Sintomas sensitivos positivos	Sim	5 (5,75)	82 (94,25)	1,0
	Não	2 (6,25)	30 (93,75)	
Resposta positiva ao tratamento	Sim	6 (6)	94 (94)	1,0
	Não	1 (6,67)	14 (93,33)	
Fraqueza não-comprimento dependente	Sim	6 (6,45)	87 (93,55)	1,0
	Não	1 (3,85)	25 (96,15)	

(*) Teste Exato de Fisher

5 DISCUSSÃO

As neuropatias periféricas são afecções relativamente comuns, podendo apresentar-se com combinações de sintomas deficitários (como fraqueza e diminuição da sensibilidade), autonômicos (hipotensão postural, alterações na sudorese e dificuldade de ereção), além de sintomas positivos (como parestesias e dor) conforme os apresentados pelos pacientes incluídos neste trabalho. É um grupo heterogêneo de doenças com um amplo espectro etiológico que frequentemente se apresenta aos neurologistas e demais médicos (TIVERDI et al., 2017) podendo ocasionar dificuldades diagnósticas, conforme aqui evidenciado, entre pacientes com PIDC e CMT.

Diferentes idades, raças e gêneros podem ser afetados, de maneira que estas características clínicas e epidemiológicas podem auxiliar no diagnóstico etiológico. Um estudo populacional recentemente realizado na Islândia (HAFSTEINSDOTTIR; OLAFSSON, 2016) encontrou incidência de 0,3/100.000 pessoas-ano de observação para PIDC. Além disso, a prevalência da doença varia entre 0,67/100000 (LUNN et al., 1999) a 7,7/100000 (MYGLAND; MONSTAD, 2001) mostrando que essa afecção tem uma prevalência bem menor do que a geralmente reportada para CMT, de 40 a 82 casos/100000 habitantes (PAREYSON; MARCHESI, 2009; BRAATHEN, 2012).

No Brasil há escassez de dados populacionais sobre estas duas condições, que são abordadas apenas em séries baseadas em dados hospitalares (FREITAS et al., 1990; MARQUES et al., 1992; PASNOOR et al., 2013), com exceção de recentes dados oriundos da região sul do estado de Sergipe (municípios de Tobias Barreto, Pedrinhas e Itabaianinha), onde Barreto (2016) encontrou a prevalência de 62 casos/100000 habitantes para a Doença de Charcot-Marie-Tooth, sendo 37/100000 para CMT1 e 25/100000 para CMT2. A autora considera a alta prevalência encontrada decorrente de efeito fundador ou de endocruzamentos presentes na região de estudo.

Em 112 pacientes não foram identificadas mutações nos genes *GJB1*, *LITAF*, *MPZ* e *PMP22*. Nestes pacientes a idade média do diagnóstico (45 anos) foi menor que a observada por Lunn et al. (1999), 54 anos, e por Hafsteinsdottir e Olafsson (2016), 57 anos. Houve concordância em relação ao predomínio do gênero masculino entre os pacientes, fato também observado em um estudo inglês (56,5%), um japonês (73%) e em um estudo italiano (68%), o qual mais se aproximou da proporção aqui encontrada (66%) (LUNN et al., 1999; KUSUMI et al., 1995; CHIÒ et al., 2007).

A maioria dos pacientes apresentou evolução progressiva, seguida pela forma remitente recorrente, o que está de acordo com o que foi observado em outras populações (LUNN et al., 1999; MYGLAND; MONSTAD, 2001; CHIÒ et al., 2007; HAFSTEINSDOTTIR; OLAFSSON, 2016), porém contrasta com o que foi encontrado por McLeod et al. (1999).

O acometimento dos segmentos distal e proximal de membros inferiores foi a forma predominante da doença, atingindo 62,38% dos pacientes, comparado a 53% dos pacientes na investigação de Hafsteinsdottir e Olafsson (2016), seguido pela fraqueza predominantemente distal em 15% dos pacientes deste estudo, comparado a 37% dos pacientes avaliados por Hafsteinsdottir e Olafsson (2016). O acometimento de nervos cranianos (10,52%) foi superior aos 5,8% relatados por Chiò et al. (2007) e aos 3,84% de San-Juan e Castro-Macías (2008). A presença de um evento antecedente foi relatada em proporções semelhantes pelos pacientes do presente trabalho e por aqueles avaliados por Chiò et al. (2007) (8,93 X 9,7%, respectivamente), com o predomínio de infecções nos dois grupos.

As características clínicas apresentadas pelos pacientes nos quais não foram identificadas mutações são compatíveis com uma polineuropatia de fibras grossas, não-comprimento dependente, o que está de acordo com os achados esperados em pacientes com PIDC. A maioria destes pacientes apresenta uma polirradiculoneuropatia simétrica “clássica”, seguida pela forma multifocal, o que também foi anotado por Dyck e Tracy (2018). Em um estudo sobre os erros do eletrodiagnóstico de PIDC, Allen, Ney e Lewis (2018) encontraram que 30,5% dos pacientes com diagnóstico incorreto preenchiam os critérios clínicos da EFSN/PNS, embora fossem clinicamente classificados como “atípicos”, o que pode demonstrar a dificuldade do diagnóstico da doença.

Dentre os exames complementares realizados, a ENMG foi compatível com desmielinização não-uniforme na maioria dos pacientes. No estudo de Hafsteinsdottir e Olafsson (2016), os achados mais frequentes na ENMG de pacientes com PIDC foram bloqueio de condução parcial (95%), redução da velocidade de condução (89%), anormalidades da onda F (71%), prolongamento da latência distal (58%) e dispersão temporal (50%). Assim, a presença de características como diminuição da velocidade de condução, bloqueio de condução e dispersão temporal poderiam dificultar o diagnóstico diferencial entre as neuropatias inflamatórias e algumas neuropatias hereditárias (como as determinadas por mutação no gene *GJB1/Cx32*) que podem mostrar tais características na ENMG (DUBOURG et al., 2001). Os casos de PIDC que foram aqui

incluídos e que não apresentavam ENMG tipicamente desmielinizante possuíam outros fatores de suporte compatíveis com o diagnóstico como, por exemplo, biópsia de nervo mostrando desmielinização e/ou resposta positiva ao tratamento imunossupressor, configurando casos da doença classificados na categoria “atípicos”. Outro fator que pode dificultar o diagnóstico é o tempo de evolução da doença, levando a perda axonal secundária importante, o que dificulta a identificação de características de desmielinização na ENMG, além da concomitância com outras doenças que podem determinar alterações axonais, como por exemplo, o diabetes mellitus. Allen e Lewis (2015) pontuaram situações que poderiam funcionar como confundidoras no diagnóstico neurofisiológico de PIDC, tendo encontrado: (i) a interpretação como desmielinizante de uma neuropatia axonal comprimento-dependente com velocidades de condução levemente reduzida, (ii) achados do nervo peroneiro profundo a partir de um pequeno músculo do pé (extensor curto dos dedos) sendo interpretados como desmielinização focal, (iii) leve diminuição na velocidade de condução na doença do neurônio motor sendo interpretada como desmielinização e (iv) diminuição da velocidade de condução ou bloqueios de condução em locais de compressão nervosa sendo interpretados como desmielinização inflamatória. A interpretação inadequada dos estudos de condução nervosa é um importante fator envolvido nos erros diagnósticos. Allen, Ney e Lewis (2018) revisaram, em seu trabalho, os estudos de condução de 29 pacientes com diagnóstico incorreto de PIDC e em apenas um caso a ENMG inicial satisfazia os critérios de desmielinização de EFSN/PNS. Este paciente foi posteriormente diagnosticado como portador de mutação no gene *SH3TC2* (CMT4C). Em seis casos, a ENMG foi considerada normal e dentre os 22 restantes houve supervalorização de uma ou mais anormalidades leves ou moderadas que poderiam ser potencialmente interpretadas como representativas de processo desmielinizante generalizado em 20 pacientes (90%). Em dois pacientes que foram posteriormente reclassificados como CMT (2/16; 12,5%) foram observados bloqueios de condução. No geral, os autores consideraram que em 55% dos pacientes que foram erroneamente diagnosticados como PIDC a ENMG inicial foi um dos fatores determinantes.

As características encontradas nas biópsias de nervo foram compatíveis com as apresentadas por pacientes com PIDC (DYCK; TRACY, 2018). Atualmente a biópsia de nervo periférico é considerada componente de suporte no diagnóstico de PIDC e pode apresentar algumas características sobreponíveis com aquelas encontradas em pacientes com as neuropatias hereditárias determinadas pelos genes avaliadas neste

estudo, como por exemplo, as formações em bulbo de cebola. Por outro lado, a biópsia de nervo apresenta um grande valor para o diagnóstico diferencial em relação a outras causas de neuropatias (doenças de depósito, como na amiloidose, inflamatórias, como nas vasculites, e infecciosas, como na hanseníase), no entanto um estudo mostrou que raramente modificou o diagnóstico de PIDC realizado por neurologistas experientados em relação à doença (MOLENAAR; VERMEULEN; HAAN, 1998). Em relação às doenças associadas, a mais comum foi o diabetes mellitus. Alguns trabalhos demonstraram não haver aumento da incidência de PIDC em pacientes com diabetes (MYGLAND; MONSTAD, 2001; LAUGHLIN et al., 2009), embora ainda permaneça um tema de debates (DYCK; TRACY, 2018).

No presente estudo, o líquido foi avaliado em 86,6% dos pacientes, mostrando hiperproteinorraquia com média de concentração de proteínas de $97,48 \pm 74,88$ mg/dL. Esses valores estão muito próximos aos encontrados por Mygland e Monstad (2001) que relataram proteinorraquia média de 116 mg/dL. Na série de Hafsteinsdottir e Olafsson (2016), 63% dos pacientes foram submetidos à punção lombar e o líquido mostrou hiperproteinorraquia em 75% dos casos, a qual persistiu em 80% dos pacientes no qual foi obtida uma segunda amostra vários meses a anos após a avaliação inicial. A análise do líquido também é considerada um fator de suporte no diagnóstico de PIDC.

A utilização de tratamento medicamentoso ou plasmaférese ocorreu em 96,4% dos pacientes avaliados, comparável a 90% dos pacientes no trabalho de Hafsteinsdottir e Olafsson (2016), sendo que estes autores reportaram evolução insatisfatória em uma proporção maior de pacientes (26%) do que no presente estudo (8,93%). Este fato é muito importante, pois Lunn et al. (1999) identificaram que até 54% dos pacientes ficaram incapacitados de uma vida independente em algum estágio de sua doença, o que reforça a necessidade no empenho do diagnóstico e tratamento da mesma.

A mortalidade não é afetada pela presença de PIDC quando comparada a população geral, segundo as observações de Hafsteinsdottir e Olafsson (2016). No presente estudo não tivemos acesso a dados consistentes de mortalidade dos pacientes, de maneira que não podemos acessar tal informação, no entanto foram identificados nove óbitos, sendo que em nenhum dos que foi possível a obtenção da causa houve relação direta com a neuropatia.

Neste trabalho, observamos que entre 119 pacientes diagnosticados como PIDC, sete apresentaram mutações em três dos quatro principais genes responsáveis pela ocorrência de CMT, o que equivale a 5,9% dos pacientes avaliados. Esse número

corresponde ao que já foi descrito na literatura internacional, sendo encontrado (sem confirmação molecular) em 7,5% dos pacientes com diagnóstico inicial de PIDC no estudo de Allen e Lewis (2015), porém nunca havia sido levantado em amostra de pacientes brasileiros com PIDC, ao se considerar a prevalência das mutações mais frequentes para CMT. A pesquisa da duplicação/deleção do gene *PMP22* em pacientes com PIDC em trabalho anterior (SILVA, 2014) havia revelado a presença desta alteração em 9% (10/111) dos pacientes pesquisados. Esse dado mostrou considerável prevalência de mutações em pacientes com diagnóstico inicial de PIDC e também serve para demonstrar que, assim como na maioria das séries de pacientes com CMT, de origem familiar ou esporádica, a duplicação/deleção do gene *PMP22* é a alteração mais prevalente nestes indivíduos previamente diagnosticados como PIDC (WISE et al., 1993; GINSBERG et al., 2004). Neste caso, duas possibilidades devem ser aventadas: o erro diagnóstico ou a concomitância entre neuropatia hereditária (CMT) e neuropatia inflamatória (PIDC).

A doença de Charcot-Marie-Tooth é um grupo de neuropatias clínica e geneticamente heterogêneo que é classificado com base em seus achados histológicos, clínicos, neurofisiológicos e genéticos (HARDING; THOMAS, 1980). Achados clínicos comuns são os reflexos tendíneos reduzidos ou ausentes, deformidades nos pés, fraqueza em membros predominantemente distal, amiotrofias e sintomas sensitivos negativos (MARTILLA et al., 2017). Seis dos sete pacientes nos quais foram identificadas mutações apresentavam fraqueza proximal, três apresentaram sintomas sensitivos positivos. Três dos quatro que tiveram o líquido examinado apresentaram hiperproteinorraquia. Os sete tinham ENMG compatíveis com neuropatia desmielinizante, sendo considerada assimétrica em cinco, com achados de dispersão temporal em três pacientes e bloqueio de condução em um paciente. Estas características, que são comuns às verificadas por Ginsberg et al. (2004), associadas a ausência de história familiar em todos estes pacientes podem ter contribuído para o diagnóstico de PIDC antecedendo a confirmação diagnóstica de CMT. Faz-se importante lembrar que a ausência de história familiar não deve funcionar como fator de exclusão para o diagnóstico diferencial de uma neuropatia hereditária, haja vista que 5,2 a 17,2% dos pacientes russos com CMT1A avaliados por Mersiyanova et al. (2000) e 26,17% dos pacientes de Martilla et al. (2017), na Finlândia, foram casos esporádicos.

As características que apresentamos a seguir não premitiram, a rigor, o diagnóstico de neuropatia hereditária, pois provavelmente não proporcionaram

sensibilidade ou especificidade suficiente para o diagnóstico, embora estas não tenham sido calculadas no presente estudo. Todos estes pacientes tiveram tempo de evolução da doença superior a oito semanas, sendo progressiva em seis pacientes e remitente-recorrente em um. Todos apresentavam arreflexia em aquileus e apenas três apresentavam arreflexia em estilorradaiais. Pés cavos foram encontrados em cinco pacientes. Os sete pacientes foram submetidos à biópsia de nervo sural, tendo sido evidenciada desmиеnização em todos e presença de formações em bulbo de cebola em cinco pacientes. Em seis deles não havia presença de infiltrado inflamatório conforme esperado em pacientes adultos com CMT1 (FREITAS et al., 1995). Não havia referência a esse dado em um paciente.

A presença de infiltrado inflamatório na biópsia de nervo foi observado em pacientes com concomitância entre PIDC e CMT por Ginsberg et al. (2004). Vital et al. (1992) evidenciaram a presença de macrófagos levando a desmиеnização ativa em duas de três biópsias de crianças com CMT1 e consideraram que poderia haver a presença de sobreposição de um fenômeno imune nas fases iniciais da doença. Gabreëls-Festen et al. (1993) encontraram presença de células inflamatórias perivasculares no perineuro e endoneuro em 12% dos pacientes com HMSNI por eles estudados, além de marcado edema endoneural em 21% destes pacientes, destacando que nenhum deles apresentava critérios clínicos para sobreposição com PIDC. Assim, consideraram que a avaliação criteriosa de todos os dados clínicos, neurofisiológicos, morfológicos e morfométricos é essencial para se evitar o diagnóstico falso-positivo de PIDC. Outros autores, como Nakai et al. (2001) consideram que em fases iniciais da doença poderiam ser encontrados infiltrados inflamatórios como um achado precoce sem que estas células desempenhassem algum papel na progressão da doença.

O papel do sistema imunológico na gênese e progressão das neuropatias hereditárias é um tema bastante interessante e que merece maiores estudos. Elegantes modelos experimentais de animais deficientes em *PMP22*, *MPZ (P0)* e *GJB1 (Cx32)* quando cruzados com animais deficientes em células B, T e macrófagos, mostraram que a evolução da neuropatia tende a ser mais branda nos animais imunodeficientes, quando comparada aos animais imunocompetentes. Também há pior evolução quando os animais imunodeficientes têm sua imunidade reconstituída. Foram observados infiltrados inflamatórios na biópsia de nervo destes animais (SCHMID et al, 2000; CARENINI et al, 2001; MARTINI; TOYKA, 2004). Estas características apontam a possibilidade de participação do sistema imunológico na gênese da lesão em algumas

formas de neuropatia hereditária, o que poderia explicar, por exemplo, períodos de progressão mais rápida dos sintomas, sem necessariamente haver sobreposição entre CMT e PIDC. O que determina a intensidade e a duração deste fenômeno em diferentes pacientes ainda aguarda por ser elucidado.

Apesar do aperfeiçoamento diagnóstico, até 50% dos pacientes com diagnóstico de PIDC podem não ter a doença (ALLEN; LEWIS, 2015). Dentre os diagnósticos incorretos podem ser encontrados: neuropatia diabética (11%), esclerose lateral amiotrófica (11%), fibromialgia (11%) e neuropatia idiopática de fibras finas (11%). Experiências subjetivas do paciente após tratamento (melhora subjetiva) podem contribuir para o diagnóstico incorreto de PIDC, perpetuando o uso de drogas imunomoduladoras pelos pacientes (ALLEN; LEWIS, 2015). Segundo estes mesmos autores, os causadores de maior confusão no diagnóstico de PIDC incluiriam a hipervalorização da percepção subjetiva de benefício do tratamento referida pelo paciente, a interpretação incorreta de exames de eletrodiagnóstico e uma excessiva valorização da dissociação proteino-citológica leve ou moderada no líquido céfalo-raquidiano. Estes erros são perpetuados principalmente nos pacientes com formas clínicas atípicas da doença.

5.1 Mutações encontradas no gene *PMP22*.

Dois mecanismos podem explicar a fisiopatologia das mutações no gene *PMP22*, localizado no cromossomo 17: na CMT1A tem-se a duplicação do gene *PMP22*, enquanto na CMT1E tem-se mutações de ponto no mesmo gene. Nos dois casos, por mecanismos diferentes, leva-se a alteração no produto final deste gene, a Proteína da Mielina Periférica de 22 kDa. Os pacientes podem apresentar desde formas leves até o comprometimento importante da função motora, com o fenótipo de bebê hipotônico (MARQUES et al., 2005). Os sintomas geralmente se instalam na segunda década de vida e são lentamente progressivos, assumindo caráter de neuropatia comprimento-dependente (ROA; LUPSKI, 1993). Fatores como, por exemplo, inflamação sobreposta, gestação (LEAL, 2016), diabetes mellitus (ALGEMIRO, 2015), obesidade e toxicidade por drogas podem alterar a evolução natural da doença (URSINO et al., 2013). Usualmente os pacientes com CMT1A apresentam um quadro mais brando, enquanto os com CMT1E apresentam um fenótipo tipo Dejerine-Sottás, embora algumas mutações de ponto causem HNPP.

Eventualmente pacientes com CMT podem ser diagnosticados a partir de uma neuropatia inflamatória sobreposta ou ter um diagnóstico incorreto de neuropatia adquirida revisado.

Em dois dos nossos pacientes foi evidenciada duplicação do gene *PMP22*, que é apontada na maioria das séries como a principal causa para CMT (CHOI et al., 2004), configurando o diagnóstico de CMT1A. Esse achado representou 1,7% dos pacientes aqui analisados, e configurou 28,5% das mutações encontradas. Mutações de ponto neste gene são uma causa pouco frequente da doença (CHOI et al., 2004), observada em apenas 1 de 133 pacientes com CMT analisados por Bort et al. (1997), nos quais foram pesquisados alterações nos gene *PMP22*, *GJB1* e *MPZ*. Os dois pacientes aqui apresentados não traziam história familiar de neuropatia periférica, sendo este um aspecto que não é infrequente e pode contribuir para a dificuldade diagnóstica.

O exame físico foi compatível com uma neuropatia não-comprimento dependente nos dois casos, o que é pouco frequente, embora já tenha sido relatado em pacientes com CMT (MARQUES et al., 2005). A fraqueza proximal em pacientes com CMT geralmente ocorre nas fases mais tardias da doença e sua presença em fases mais precoces deve levantar a suspeita de outras doenças associadas como distrofias musculares e PIDC (AUER-GRUMBACH et al., 1999; AUER-GRUMBACH et al., 2000; BERCIANO et al., 2006; LEE et al., 2013). É interessante o relato de acometimento de nervos cranianos, resultando em disfagia grave, referido por um dos pacientes e que foi o fator determinante de sua busca por assistência. O relato de acometimento de nervos cranianos é pouco frequente em pacientes com CMT1A (DAS et al., 2017), em geral. Maeda et al. (2015), no entanto, reportam que mais de 60% das crianças com CMT1 em idade escolar podem apresentar comprometimento auditivo. Relatam o caso de uma criança com CMT1 (esporádico, sem identificação da mutação) que aos 8 anos e 11 meses começou a apresentar comprometimento auditivo sensorio-neural recorrente que melhorava com o uso de corticosteróides. No entanto, os autores consideraram que o mecanismo de ação para melhora poderia ser decorrente de outras ações que não a atividade antiinflamatória da droga.

A evolução prolongada da doença pode ser evidenciada pela presença de alterações osteo-ligamentares, como dedos em martelo (apresentados por um dos pacientes) e pés cavos (apresentado por ambos). Há relatos de pacientes com CMT com sintomas muito leves ou mesmo assintomáticos (LUIGETTI et al., 2014; PANAS et al.,

2014; TOMASELLI et al., 2017), o que pode favorecer um diagnóstico tardio da afecção.

Em um dos pacientes, o líquido apresentou elevação de proteínas, o que é esperado no caso de PIDC, mas também já foi descrito em pacientes com CMT, também podendo ser encontrada em pacientes com diabetes mellitus e neuropatia diabética (LLEWELYN, 2003; DYCK; NORELL; DYCK, 2001; DELI et al., 2013), e que pode funcionar como um fator confundidor no diagnóstico. A biópsia de nervo mostrou uma neuropatia desmielinizante em um dos casos e sugeriu a possibilidade de uma neuropatia desmielinizante prévia no outro, sem evidências de infiltrado inflamatório. Esse exame pode, no entanto, trazer dificuldades diagnósticas, pois a presença de infiltrado inflamatório não é um achado constante em pacientes com PIDC e alguns pacientes com CMT eventualmente exibem infiltrado inflamatório na biópsia de nervo, o que suscita a discussão em relação ao papel destas células no paciente com CMT (se constituiriam um achado ocasional das fases iniciais da doença ou se representaria a presença de um dano imunologicamente mediado levando a sobreposição entre neuropatia hereditária e inflamatória) (NAKAI et al, 2001; GABRIEL et al., 2002). Podem ser encontradas disfunções imunológicas em pacientes com CMT1A, como diminuição de células B CD19+ e diminuição dos níveis sérico de IgG, o que pode contribuir para a ocorrência de fenômenos auto-ímmunes concomitantes (PÁL et al., 2009). Gabriel et al. (2002) encontraram maior prevalência de anticorpos anti-PMP22 em pacientes com CMT1A, quando comparados com pacientes normais, mas sem diferenças ao se comparar com pacientes com outras neuropatias. O mesmo não foi observado em relação aos níveis de IL-6, fator solúvel do receptor 1 de TNF, teste de fixação de complemento e anticorpos antigangliosídeos. Também não houve diferenças entre pacientes com CMT1A com progressão remittente ou progressiva.

No caso dos Pacientes 1 e 2, tendo-se em vista suas evoluções clínicas é provável que os mesmos apresentaram uma concomitância entre PIDC e CMT, uma vez que houve resposta positiva ao tratamento imunomodulador/imunossupressor (Tabela 19, pág. 77), e posteriormente foi evidenciada dependência deste tratamento em vista de novos episódios de deterioração com necessidade de novos ciclos de tratamento. O paciente 1 apresentava ainda outras doenças associadas ao desenvolvimento de neuropatia periférica (diabetes mellitus e hanseníase), no entanto as mesmas estavam controladas e tanto a evolução clínica, quanto a ENMG e a resposta terapêutica não foram compatíveis com as neuropatias ligadas a essas doenças.

A concomitância entre CMT1A e PIDC já foi descrita por alguns autores (RAJABALLY et al., 2000; VITAL et al., 2003; GINSBERG et al., 2004; GAZULLA; ALMÁRCEGUI; BERCIANO, 2018) e deve ser suspeitada nos casos de rápida deterioração dos sintomas nos pacientes com CMT, na presença de sintomas positivos (aqui referido por um dos pacientes) ou dor neuropática, de fraqueza proximal e frente a melhora dos sintomas após o uso de medicação imunomoduladora. Por outro lado, deve-se suspeitar de que um paciente com diagnóstico inicial de PIDC tenha CMT no caso de início da doença nas primeiras décadas de vida, na presença de história familiar de neuropatia periférica, alterações osteo-ligamentares (pés cavos e dedos em martelo) já na apresentação do quadro clínico e a não resposta à terapêutica imunossupressora/imunomoduladora.

Em avaliação prévia de 111 pacientes com diagnóstico inicial de PIDC encontramos 10 pacientes com mutação no gene *PMP22*, sendo nove pacientes com duplicação e um paciente com deleção. Quatro pacientes (todos com duplicação do gene *PMP22*) foram considerados como concomitância entre PIDC e CMT devido às características clínicas, neurofisiológicas e resposta ao tratamento, e os demais foram considerados erros diagnósticos, uma vez que foram definidos apenas como CMT1A ou HNPP, sendo descartada sobreposição entre as doenças (SILVA, 2014).

Esse diagnóstico criterioso é de suma importância uma vez que o tratamento imunomodulador/imunossupressor pode levar a melhora funcional devido ao controle da atividade inflamatória nos pacientes com sobreposição PIDC/CMT (GINSBERG et al., 2004; SILVA, 2014). No entanto, não trará benefícios aos pacientes com CMT isolado, além de expor os pacientes ao risco de complicações decorrentes da terapêutica, sendo um exemplo de complicação o observado no Paciente 1.

5.2 Mutações encontradas no gene *GJB1/Cx32*.

Nos pacientes 5, 6 e 7 foram identificadas mutações nos genes *GJB1/Cx32*, sendo um paciente do sexo masculino e dois do sexo feminino. Este gene é o principal relacionado à forma da doença ligada ao X, determinando CMTX1, e segundo alguns autores responde pela segunda causa mais frequente de CMT nos pacientes com diagnóstico molecular, variando de 5,3 a 19,2% (ENGLAND et al., 2009), representado 42,8% dos pacientes em que encontramos mutação (3/7). Atualmente mais de 400 mutações foram identificadas neste gene (TSAI et al., 2016).

A herança é ligada ao sexo e a ENMG mostra redução de VC na faixa intermediária ou desmielinizante, sendo que nas mulheres muitas vezes o quadro sugere uma neuropatia axonal (LEE et al., 2002; CASASNOVAS, 2006). Embora alguns estudos tenham investigado as características clínicas e eletrofisiológicas de diferentes mutações neste gene, as correlações entre estas mutações e os fenótipos clínicos ainda não foram completamente estabelecidas (TSAI et al., 2016).

Outra característica interessante é a diferença na manifestação clínica determinada pelo sexo do paciente, de maneira que os homens exibem acometimento mais grave que as mulheres (DUBOURG et al., 2001; LEE et al., 2002; CASASNOVAS et al., 2006).

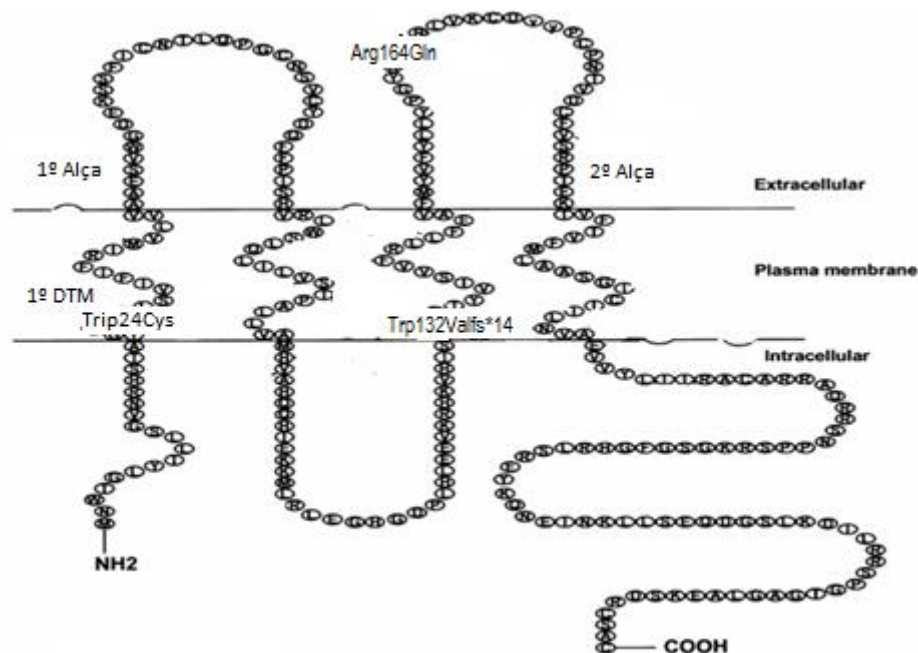
A idade de início dos sintomas foi de 19, 21 e 38 anos, respectivamente, o que coincide com outros relatos (LEE et al., 2002), contra mediana de 45 anos dos pacientes sem mutação. Dois pacientes apresentaram fraqueza distal e proximal em membros superiores e inferiores, o que se diferenciou dos achados mais comuns nos pacientes com CMTX1, nos quais a fraqueza é predominantemente distal (TSAI et al., 2016). O Paciente 5 apresentava queixa de tremores de membros superiores, que é mais comum em pacientes com CMTX do sexo masculino que feminino, e apresentou idade de início mais precoce do que as duas mulheres, assim como descrito para outros pacientes com mutações neste gene (DUBOURG et al., 2001; RYAN; JONES, 2005).

A ENMG foi compatível com o que é descrito para CMTX1, apresentando características desmielinizantes não-uniforme e as típicas VC motoras entre 30-40 m/s nos homens e 30-50 m/s em mulheres afetadas, sendo que estas tendem a ter exames com VC motoras mais assimétricas entre ulnares e medianos (DUBOURG et al., 2001; TSAI et al., 2016). Esta última característica poderia funcionar como um fator de confusão no diagnóstico etiológico entre neuropatia adquirida e hereditária, principalmente nos casos esporádicos (RYAN; JONES, 2005). A desmielinização, no entanto, parece ser uniforme através do nervo, uma vez que pacientes com CMTX1 mostraram índice de latência terminal em nervo mediano comparável a pacientes com CMT1A e controles normais de acordo com Dubourg et al. (2001). Estes autores também referem que em alguns pacientes com CMTX1 podem ser observados dispersão temporal e bloqueios de condução. Em um dos pacientes aqui avaliados foi observada a presença de dispersão temporal na ENMG.

As mutações detectadas no gene GJB1/Cx32 neste estudo estão localizadas no primeiro e no terceiro domínio transmembrânico e na segunda alça extracelular (figura

1, a seguir). Tem sido reconhecida ultimamente a importância de mutações em regiões 5' e 3' UTR do gene *GJB1/Cx32* na gênese de CMTX1 (TOMASELLI et al, 2017), respondendo por 11,4% das mutações em pacientes com características clínicas e neurofisiológicas compatíveis com CMTX1, podendo inclusive determinar apresentações atípicas da doença.

Figura 1. Representação esquemática da proteína Cx32 e localização das mutações encontradas.



Fonte: Modificado de BONE et al., (1995). DTM= domínio transmembrana

No Paciente 5, foi identificada uma mutação, já descrita por Haites, Nelis e Van Broeckhoven (1998), originada da deleção das bases TG resultando uma alteração *frameshift* que altera o quadro de leitura da proteína. Essa alteração apresentou-se como patogênica pelos programas de predição in silico *UMD-Predictor* (patogênica grau 100) e *MutationTaster* (causadora de doença). No estudo de conservação entre espécies mostrou ser uma região conservada e parcialmente conservada. Essa variante não foi encontrada no *ExAC* ou *1000G*.

A Paciente 6 apresentou a transição da base nitrogenada G para T na posição 72, resultando na troca do aminoácido triptofano, que é um aminoácido do grupo aromático, polar, para cisteína, que é um aminoácido hidrofílico, na posição 24 da proteína (Trp24Cys), localizada no primeiro domínio transmembrânico, já descrita anteriormente por outros autores (LEE et al., 2002; PANOSYAN et al., 2017). A análise de predição

in silico mostrou os seguintes resultados *Polyphen2* (1,00/possivelmente patogênica), *SIFT* (0,00/deletéria), *UMD-Predictor* (patogênica grau 100) e *MutationTaster* (causadora de doença). No estudo de conservação entre espécies mostrou ser uma região altamente conservada. Essa variante não foi encontrada no *ExAC* ou *1000G*.

O Paciente 7 apresentou a transição de G para A na posição 491, resultando na troca do aminoácido Arginina que é um aminoácido carregado positivamente, no códon 164, por Glicina que é um aminoácido polar (Arg164Gli), localizada no segundo *loop* extracelular, já descrita anteriormente (BORT et al., 1997; PANAS et al., 1998; MERSIYANOVA et al., 2000; YOSHIHARA et al., 2000; DUBOURG et al., 2001; HUEHNE et al., 2003; CHOI et al., 2004; SEEMAN, 2004; CASASNOVAS et al., 2006; TSAI et al., 2016), sendo uma das mutações mais frequentes neste gene (CASASNOVAS et al., 2006), representando um *hotspot* para mutações. Um fato interessante é que o paciente relatado por Choi et al. (2004) tratava-se de um caso esporádico e apresentava o fenótipo de CMT2, enquanto o paciente por nós identificado, assim como os relatados por outros autores, apresentava o fenótipo de CMT1. Através da análise de predição *in silico* mostrou os seguintes resultados *Polyphen2* (0,9888/possivelmente patogênica), *SIFT* (0,01/deletéria), *UMD-Predictor* (provavelmente patogênica grau 72) e *MutationTaster* (causadora de doença). No estudo de conservação entre espécies mostrou ser uma região altamente conservada. Essa variante não foi encontrada no *ExAC* ou *1000G*.

Autores como Miki et al. (2013) sustentam que no caso de CMTX alguns pacientes poderiam apresentar deterioração rápida dos sintomas devido a participação de células inflamatórias no processo de lesão dos nervos, determinada por um mecanismo subjacente relacionado à própria doença, o que não significaria, simplesmente, a co-ocorrência de PIDC ao acaso. Outros pacientes podem apresentar deterioração dos sintomas devido a lesões do sistema nervoso central (PANAS et al., 1998; LEE et al., 2002).

Outros autores recomendam que em pacientes com CMT1 nos quais foi afastada a duplicação do gene *PMP22*, *GJB1* seja o primeiro gene a ser sequenciado na avaliação destes pacientes, principalmente se não há transmissão da doença entre homens e se a ENMG apresenta VC nos valores intermediários. Pacientes esporádicos com neuropatia crônica e pés cavos deveriam seguir este mesmo raciocínio (BORT et al., 1997; LEE et al., 2002).

Devido as características clínicas e evolução com o tratamento (Tabela 19, pág. 77), é provável que os pacientes 5 e 6 tenham apresentado concomitância entre CMT1X e PIDC. O paciente 7 foi reclassificado como CMTX1 apenas.

5.3 Mutações encontradas no gene *MPZ*

Pacientes com mutações em *MPZ* podem apresentar fenótipos variados, englobando CMT1B, Doença de Dejerine-Sottas e Neuropatia Hipomielinizante Congênita (WARNER et al., 1996), além de CMT2 (MARROSU et al., 1998; LIU et al., 2013).

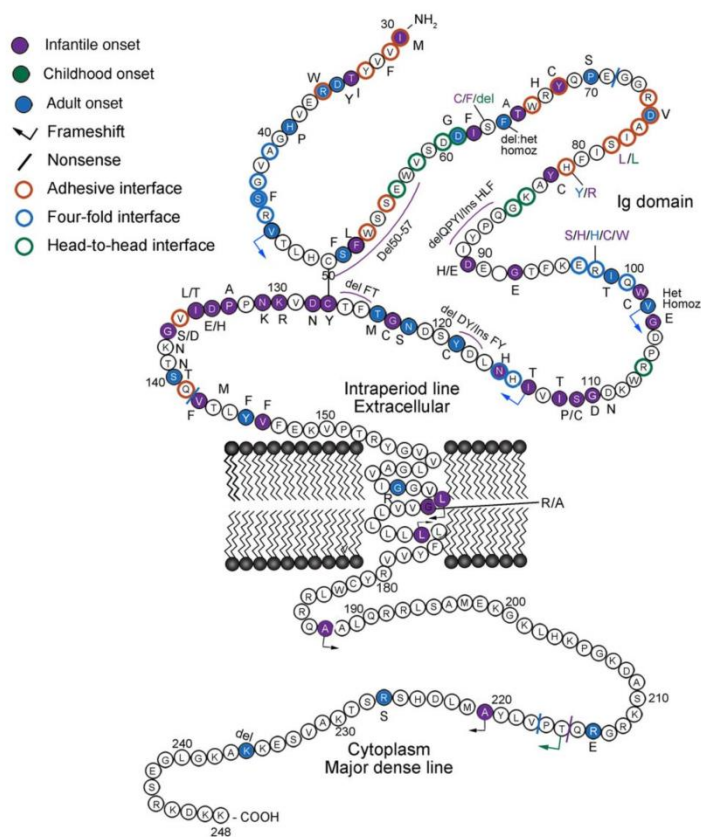
Dentre os 119 pacientes aqui analisados, foram encontradas mutações neste gene em dois pacientes, o que corresponde a 1,7% do total de pacientes.

A Paciente 3 apresentou, na posição 173, uma substituição da base nitrogenada T para A resultando na troca do aminoácido valina, que é um aminoácido hidrofóbico apolar, para ácido aspártico, que é um aminoácido carregado negativamente, hidrossolúvel, na posição 58 (Val58Asp), localizada no domínio Ig extracelular da proteína P0, já descrita por Lee et al. (2005). Através da análise de predição *in silico* mostrou os seguintes resultados *Polyphen2* (0,995/possivelmente patogênica), *SIFT* (0,01/deletéria), *UMD-Predictor* (patogênica grau 93) e *MutationTaster* (causadora de doença). No estudo de conservação entre espécies mostrou tratar-se uma região altamente conservada. Essa variante não foi encontrada no *ExAC* ou *1000G*.

A Paciente 4 apresentou uma substituição das bases nitrogenadas G para T na posição 303 resultando na troca do aminoácido triptofano, que é um aminoácido do grupo aromático, hidrofóbico apolar, para cisteína, que é um aminoácido hidrofílico, na posição 101 (Trp101Cys), localizada no domínio Ig extracelular da proteína P0, já descrita por Latour et al (1995). Através da análise de predição *in silico* mostrou os seguintes resultados *Polyphen2* (0,026/benigna), *SIFT* (0,00/deletéria), *UMD-Predictor* (patogênica grau 90) e *MutationTaster* (causadora de doença). No estudo de conservação entre espécies mostrou ser uma região altamente conservada. Essa variante não foi encontrada no *ExAC* ou *1000G*.

A figura 2, a seguir, representa a estrutura da proteína *MPZ* e mostra algumas das mutações já descritas.

Figura 2 : Representação esquemática da estrutura secundária da proteína P0 com algumas das mutações já descritas.



Fonte: SANMANEECHAI et al. (2015).

As mutações em *MPZ* representaram 28,5% das mutações encontradas neste estudo. Em uma série de pacientes com CMT representou 4,35% dos pacientes estudados (LIU et al., 2013), após exclusão de mutações em *PMP22*, *GJB1* e *MFN2*. A frequência de mutações neste gene varia de 1,1 a 9% em pacientes com CMT (LIU et al., 2013), constituindo-se na segunda causa mais frequente de CMT1, já tendo sido identificadas mais de 200 mutações (TIMMERMAN; STRICKLAND; ZÜCHNER, 2014).

Nenhuma das duas pacientes apresentava história familiar de neuropatia. No estudo de Sanmaneechai et al. (2015) 32% dos pacientes com mutações neste gene foram considerados como casos esporádicos. Alguns pacientes podem ter início dos sintomas em idades mais avançadas e rápida progressão (LIU et al., 2013), além assimetria de sintomas (SOUAYAH; TICK CHONG, 2010) o que pode levar a confusão com neuropatias inflamatórias, inclusive com a presença de sintomas

sensitivos positivos e o achado de células inflamatórias em biópsia de nervo (SCHNEIDER-GOLD et al., 2010; DACCI et al., 2012).

Shy et al. (2004) consideraram que os pacientes que apresentavam mutações em *MPZ* poderiam ser agrupados em dois grandes grupos: (i) aqueles com início precoce, antes da aquisição da marcha, com velocidades de condução nervosa muito baixas e com desmielinização como o principal achado morfológico, e (ii) aqueles com início tardio (adultos) com velocidades de condução nervosa apenas moderadamente reduzidas e apresentando degeneração axonal como o maior achado patológico. Posteriormente esse fenótipo foi ampliado com a inclusão de um terceiro grupo que englobava pacientes com início na infância, entre os seis e 20 anos (em média aos 10 anos), com velocidade de condução baixa (entre 15-35 m/s) e amplitude de CMAP levemente reduzida (SANMANEECHAI et al., 2015). Cerca de 40% dos pacientes pertenceriam ao primeiro grupo, no qual poderiam ser enquadradas as pacientes 3 e 4, cujos sintomas se iniciaram aos 6 meses e 12 meses, respectivamente. Cerca de 50% dos pacientes se enquadram no segundo grupo e em torno de 7% correspondem ao terceiro grupo referido anteriormente (SANMANEECHAI et al., 2015).

Os achados das biópsias das Pacientes 3 e 4, com desmielinização e bulbos de cebola, podem ser encontrados tanto em pacientes com neuropatias inflamatórias adquiridas, quanto em neuropatias do tipo CMT1B (FABRIZI et al., 2018), sendo mais frequentes no grupo de pacientes com início precoce, mas também podendo ser encontradas naqueles com início na infância.

De maneira interessante, a Paciente 4 apresentava líquido com discreto aumento de proteínas, o que pode ter sido um fator de confusão para o diagnóstico diferencial com PIDC. Aumento de proteínas no líquido pode ser encontrado em até ¼ dos pacientes com CMT1 (BOUCHÉ et al., 1983; GABREËLS-FESTEN et al., 1992).

A ENMG mostrou dispersão temporal nas duas pacientes e presença de bloqueio de condução na paciente 4, que são características também encontradas nas neuropatias adquiridas. Essas características não foram observadas nos pacientes referidos nas séries de Shy et al. (2004) e Sanmaneechai et al. (2015). A ENMG nos pacientes com mutações em *MPZ* pode exibir alterações desde velocidade de condução extremamente baixas (≤ 15 m/s) e com CMAP moderadamente baixo a pacientes com VC baixa (44 m/s) e CMAP normal. Murphy et al. (2011) chamam a atenção para o fato de que pacientes com CMT1B podem raramente apresentar ENMG com bloqueio de condução, o que pode causar confusão com neuropatias inflamatórias. Alguns pacientes podem se

apresentar com fenótipo de CMT2, às vezes com progressão rápida dos sintomas (LIU et al., 2013). Tanto as alterações clínicas, quanto neurofisiológicas e neuropatológicas podem apresentar correlação genótipo-fenótipo, sendo interessante o fato de que substituições por cisteína no domínio Ig extracelular poderiam determinar fenótipo mais grave, determinando início precoce dos sintomas (SANMANEECHAI et al., 2015). Essa substituição foi encontrada na Paciente 4.

A resposta transitória ao uso da imunoglobulina pode sugerir a presença de um mecanismo inflamatório determinando piora dos sintomas da Paciente 3, o que não foi observado na Paciente 4. Em nenhum dos dois casos, porém, temos evidências de sobreposição entre PIDC e CMT, tendo o diagnóstico sido mudado para CMT1B nos dois casos. Trabalhos experimentais em camundongos com mutações em *P0* sugerem a participação de células inflamatórias no processo de desmielinização (SCHMID et al, 2000; CARENINI et al, 2001), o que pode ser compatível com a melhora transitória referida pela Paciente 3. De maneira interessante, a presença de células inflamatórias foi identificada predominantemente em nervos e raízes motoras destes modelos experimentais (CARENINI et al, 2001). Esses achados não configuram, por si só, o diagnóstico de sobreposição entre CMT e PIDC.

Watanabe et al. (2002) relataram uma paciente com início assimétrico de sintomas motores aos 29 anos, ENMG com importante redução da VC e LCR com aumento de proteína. Foi feita hipótese de sobreposição entre neuropatia hereditária e adquirida devido aos achados clínicos e biópsia de nervo. Uso de corticosteróides levou a melhora clínica e neurofisiológica. Houve piora dos sintomas com tentativa de desmame da droga, tendo ocorrido nova melhora após reintrodução do medicamento. Os autores encontraram a mutação Arg98His e consideraram que neuropatia hereditária provocaria uma predisposição a neuropatia inflamatória, porém sem mecanismos bem definidos.

Schneider-Gold et al. (2010) descreveram uma família na qual a paciente índice iniciou os sintomas aos 45 anos, tendo apresentado parestesias, sensação dolorosa e leve fraqueza em membros inferiores. Houve progressão dos sintomas ao longo de um ano, com ENMG mostrando alterações predominantemente axonais, porém com desmielinização em alguns nervos e líquido com discreto aumento de proteína, o que levou ao diagnóstico inicial de PIDC. A paciente foi submetida a tratamento imunossupressor. Não houve resposta a corticosteróide, azatioprina e plasmaférese. A melhora clínica e neurofisiológica foi observada com imunoglobulina (ficando

dependente de infusão mensal) e micofenolato de mofetila. Três filhas apresentaram neuropatia com predominância de câimbras, parestesias, dores e sintomas de síndrome de pernas inquietas, sendo feito diagnóstico de CMT2 pela mutação c.700G>T (p.Asp234Tyr) em heterozigose, no domínio citoplasmático de *MPZ*, a qual pode ter apresentação variável, tanto como CMT1 quanto CMT2. Os autores especulam a presença de um fenômeno imunológico secundário levando a uma apresentação PIDC-like, idéia também defendida por Fleury et al. (2004), que descreveram uma paciente de 34 anos que, aos 25 anos de idade apresentou um episódio de ataxia nos quatro membros, hiperproteinorraquia, evolução recorrente e melhora dos sintomas com uso de imunoglobulina endovenosa. Em modelos experimentais (camundongos *knockout* heterozigotos para *MPZ*) pode haver o desenvolvimento de uma neuropatia que se assemelha a neuropatia inflamatória adquirida (SHY et al., 1997). Klein et al. (2015) demonstraram, em um elegante modelo animal de CMT1B, que nos estágios iniciais da desmielinização geneticamente determinada, anticorpos sistêmicos pré-existentes ligam o sistema imune inato e adaptativo durante o processo de desmielinização induzido por macrófagos. Interessante observação pontua a deposição preferencial de anticorpos no quadríceps femoral em oposição ao nervo safeno, sendo o último preservado de inflamação e degeneração de mielina. Estes anticorpos se ligam preferencialmente próximo às regiões nodais e poderiam funcionar mais como um fator de amplificação do que causal para a degeneração da mielina, levando a um ambiente semelhante ao visto durante a degeneração walleriana, embora ativado em condições não lesionais.

Em um interessante estudo, Pham et al. (2007) encontraram positividade de anticorpo contra P0 em 30% dos pacientes com perda auditiva rapidamente progressiva, embora a simples presença do anticorpo não possa ser responsabilizada como fator causal da situação. No entanto, sabe-se que alguns pacientes com mutação em P0 apresentam perda auditiva associada. Estes auto-anticorpos não estavam presentes em pacientes com doença de Menière ou em pacientes com doenças do colágeno.

Pacientes com sintomas sugestivos de sobreposição entre neuropatia hereditária por mutação em *MPZ* e inflamatória, também foram descritos por outros autores. Simpsom e Rajabally (2010) apresentaram o relato de um paciente de 44 anos, previamente assintomático, que desenvolveu um quadro agudo de alteração sensitiva difusa que durou dois meses e remitiu espontaneamente, sendo considerada a possibilidade de uma Síndrome de Guillain-Barré. Posteriormente se identificou a mutação Leu144fs. Donaghy et al. (2000), apresentaram o caso de um paciente que aos

58 anos começou a apresentar fraqueza progressiva nas pernas, associada a sintomas sensitivos positivos, com LCR mostrando aumento de proteínas e cuja ENMG mostrava diminuição difusa da VC, sem dispersão temporal ou bloqueios de condução. Após quatro meses de tratamento com prednisolona 60mg ao dia, houve melhora dos sintomas. Posteriormente ocorreu nova piora sem resposta a outras alternativas de tratamento (IgIV, plasmaférese, azatioprina, ciclosporina). No seguimento, outros familiares foram avaliados com sintomas sugestivos de neuropatia, todos com início após a quarta década de vida, sendo realizado o diagnóstico da mutação Ile99Thr no gene *MPZ*. Burns et al. (2006) apresentaram o caso de um paciente que aos 47 anos iniciou sintomas de parestesias e dores em membros inferiores, com ENMG mostrando discreta redução da velocidade de condução e LCR com aumento de proteínas. Devido a hipótese inicial de PIDC atípico foi utilizado IgIV sem resposta, o que motivou a investigação de outros membros da família. A mãe do paciente admitiu sintomas muito leves (parestesias noturnas). Ambos apresentaram a mutação Arg36Trp configurando um caso de confusão diagnóstica entre neuropatia adquirida e hereditária.

5.4 Alterações encontradas no gene *LITAF*

Não encontramos nenhuma variante patogênica neste gene, nos pacientes estudados.

Foram observadas apenas alterações silenciosas (polimorfismos), que são listados a seguir: c.234G>A (Trp78Trp), c.274A>G (Ile92Val), c.333C>T (Ala111Ala), c.364C>T, c. 488C>T 3'UTR, c.586C>T 3'UTR, c.607C>T 3'UTR, c.630 C>T 3'UTR. Todas essas alterações apresentaram critérios de benignidade nas análises *in silico*. Saifi et al. (2005) demonstraram que as variantes c.585C>T e c.629C>T, regiões próximas às que encontramos alterações, não segregam juntamente com o fenótipo da doença (CMT1C).

Encontramos na literatura apenas um relato sugestivo de sobreposição entre CMT1C e PIDC, realizado por Grimm et al. (2017). Estes autores apresentam um paciente de 53 anos com história de uma neuropatia sensitivo-motora cujos sintomas se iniciaram aos 41 anos de idade e foram progressivos. Tentado uso de corticosteróides com discreta melhora dos déficits sensitivos. A medicação foi suspensa por efeitos colaterais. Nos meses seguintes houve progressão intermitente dos sintomas. A ENMG mostrou características desmielinizantes uniformes e o líquido cefalorraquidiano discreta dissociação

albumino-citológica. De maneira interessante, ultrassom de nervos mostrou aumento assimétrico de nervos, inclusive entre fascículos de um mesmo nervo, sugerindo uma neuropatia inflamatória. Análise do gene *LITAF* mostrou a variante c.380G>A; p.Cys127Tyr. Houve melhora clínica com o uso de IgIV, inclusive com melhora do aspecto sonográfico dos nervos após tratamento. Também encontramos relatos mostrando dificuldade diagnóstica em paciente que recebeu diagnóstico inicial de PIDC (queixas sensitivas associada a exame físico e ENMG com bloqueios de condução) o qual foi posteriormente mudado para CMT1C após observação clínica de lenta progressão da doença e alterações osteo-articulares (pés cavos) e avaliação de outros indivíduos da família (CIOTTI et al., 2014). Eventualmente, os sintomas da neuropatia hereditária podem ser tão leves que não demandam busca de atendimento, podendo a mesma ser diagnosticada em situações que podem levar à confusão diagnóstica com PIDC e à instituição de tratamentos desnecessários (LUIGETTI et al., 2014).

É interessante a observação de Sinkiewicz-Darol et al. (2015). Estes autores demonstraram que em células com o tipo selvagem de *LITAF*, o mesmo se apresentava co-localizado juntamente com o marcador lisossomal CD63, sugerindo que o produto do gene se encontra normalmente nos lisossomos, ao passo que as células que apresentavam a variação Ile92Val tinham parte de *LITAF* localizado no lisossomo e parte na mitocôndria, sugerindo que ocorre alteração da localização da proteína na presença da variante Ile92Val. Isso poderia, na presença de condições subjacentes ainda não totalmente definidas, contribuir para alteração fenotípica de uma determinada afecção, como foi observado por estes autores em relação a pacientes com CMT1A. Essa alteração parece diminuir a capacidade de degradação da proteína PMP22 determinando maior acúmulo desta proteína, levando a início mais precoce da doença no grupo de pacientes com aparecimento dos sintomas acima dos 10 anos de idade. Em 24% dos pacientes com PIDC aqui estudados nos quais foram excluídas mutações nos genes *PMP22*, *GJB1* e *MPZ*, foi observada a variante Ile92Val e sua presença não se correlacionou com alterações fenotípicas nestes pacientes. Em nosso laboratório, estudo prévio de 66 pacientes com CMT1 nos quais havia sido excluída duplicação ou mutação no gene *PMP22*, e mutações nos genes *GJB1* e *MPZ*, mostrou frequência de 24,2% da variante Ile92Val (BUENO, 2011), o que foi semelhante ao que encontramos para os pacientes com PIDC. No Brasil, em indivíduos idosos saudáveis, a frequência desta variante não patogênica foi de 0,153530 (ou seja, 15,35%) no banco de dados ABraOM

(<<http://abraom.ib.usp.br/search.php>>, acessado em 24/12/2018) (NASLAVSKY et al., 2017).

5.5 Considerações finais

As neuropatias, tanto adquiridas quanto hereditárias, reduzem de maneira importante a qualidade de vida dos pacientes. No caso das neuropatias hereditárias, características como a degeneração axonal comprimento-dependente, atrofia muscular, deformidades esqueléticas e disfunção sensitiva desempenham importante papel. As formas mais comuns destas doenças (CMT1A, CMT1B e CMTX1) são determinadas por mutações relacionadas ao gene da proteína periférica associada à mielina (*PMP22*), da proteína zero da mielina (*MPZ*) ou da conexina 32 (*GJB1/Cx32*), respectivamente. Estudos dos modelos animais correspondentes têm identificado componentes do sistema imunológico como possíveis mecanismos fisiopatológicos em parte envolvidos nestas doenças (MARTINI; TOYKA, 2004). Mecanismos semelhantes aos que ocorrem na degeneração walleriana foram observados nestes modelos, abrindo nova luz à compreensão da fisiopatologia da doença e das interações entre os sistemas nervoso e imunológico (MARTINI; KLEIN; GROH, 2013). Assim, as alterações estruturais determinadas por algumas mutações e a modulação fenotípica por fatores como a atividade inflamatória, possivelmente permitem o entendimento da diversidade de apresentação da doença, como a assimetria clínica e eletroneuromiográfica que podem determinar confusão diagnóstica. No entanto, o motivo pelo qual alguns pacientes apresentam uma exacerbação deste componente inflamatório, demonstrado pela resposta persistente ao tratamento imunomodulador, sugerindo a sobreposição entre uma neuropatia hereditária (CMT) e uma neuropatia inflamatória adquirida (como PIDC) é uma questão que ainda permanece em aberto. Pode ser que estes pacientes apresentem características similares às aquelas responsáveis pela determinação de que um paciente apresente uma neuropatia inflamatória aguda enquanto outros apresentam uma incapacidade de debelar o ataque autoimune, desenvolvendo a cronificação da neuropatia imunomediada, constituindo o grupo de pacientes denominado PIDC. A própria existência de predisposição à neuropatia inflamatória em um paciente com neuropatia hereditária é uma questão de controvérsia entre os estudiosos do assunto (GINSBERG et al, 2004; RAJABALLY et al, 2016). O entendimento destes

mecanismos contribuirá para a elucidação da fisiopatologia da doença e para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas em alguns casos.

Latov (2014) considera que pacientes com neuropatias hereditárias podem ter apresentações variadas e como a prevalência de CMT1 é cerca de cinco vezes maior que a prevalência de PIDC (com frequência de mutações *de novo* de aproximadamente 20%), um número significativo de pacientes com diagnóstico recente de PIDC pode, de fato, ter uma neuropatia hereditária, conforme encontrado no presente estudo. Allen, Ney e Lewis (2018) consideram que é de fundamental importância a resposta terapêutica objetiva naqueles pacientes diagnosticados que não satisfazem completamente os critérios ENMG e apresentam outros critérios clínicos ou suportivos para PIDC, conforme o que observamos nos pacientes nos quais foram identificadas mutações, como critério para confirmação da presença de sobreposição.

6 CONCLUSÕES

1. Foram encontradas mutações nos genes *PMP22*, *GJB1 (Cx32)* e *MPZ (P0)* em 5,9% dos pacientes com diagnóstico inicial de PIDC aqui analisados. Observamos apenas polimorfismos no gene *LITAF*, não sendo encontrada nenhuma variante patogênica.
2. Foram encontradas mutações (duplicação) do gene *PMP22* em dois pacientes dentre os 119 analisados (1,68%).
3. Foram encontradas mutações gene *GJB1(Cx32)* em três pacientes dentre os 119 indivíduos avaliados (2,52%).
4. Não foram encontradas variantes patogênicas no gene *LITAF* entre os 119 pacientes analisados.
5. Foram encontradas mutações do gene *MPZ (P0)* em dois pacientes dentre os 119 analisados (1,68%).
6. Dentre os sete pacientes com CMT identificados, quatro apresentaram características clínicas e de evolução após o tratamento que permitem inferir a possibilidade de concomitância entre CMT e PIDC, representando 57% (4/7) dos pacientes com CMT1 identificados e 3,4% (4/119) do total de pacientes avaliados.
7. A taxa de diagnóstico incorreto de PIDC (considerando o diagnóstico diferencial com neuropatias hereditárias aqui abordado) foi de 2,5%, visto que três dos pacientes mutados em relação ao total (119) de pacientes analisados teve o diagnóstico mudado para CMT1 apenas (sendo dois CMT1B e um CMTX1), tendo-se em vista a não resposta ao tratamento imunossupressor.
8. Características como a presença de progressão rápida dos sintomas, a presença de manifestações clínicas assimétricas, a ENMG mostrando condução nervosa não-uniforme, a ocorrência de sintomas sensitivos positivos, o achado de fraqueza não-comprimento dependente e, principalmente, a resposta positiva ao

tratamento foram fatores observados nos pacientes com sobreposição entre neuropatia hereditária e neuropatia inflamatória. A princípio não permitiram o diagnóstico da neuropatia hereditária, porém levaram ao diagnóstico da neuropatia inflamatória e conseqüentemente à decisão terapêutica. A biópsia de nervo periférico não mostrou achados que pudessem diferenciar as duas condições.

9. O principal fator determinante da dificuldade diagnóstica foi a ausência de história familiar. Outras características pouco comuns em pacientes com CMT que podem ter contribuído para a dificuldade diagnóstica foram a condução nervosa não-uniforme e a fraqueza não-comprimento dependente.

REFERÊNCIAS

ADZHUBEI, I.; JORDAN, D. M.; SUNYAEV, S. R. Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. **Curr Protoc Hum Genet.**, Chapter 7, Unit7.20., jan. 2013.

AD HOC SUBCOMMITTEE OF THE AMERICAN ACADEMY OF NEUROLOGY AIDS TASK FORCE. Research criteria for the diagnosis of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). **Neurology**, v. 41, p. 617–618, 1991.

ALGEMIRO, J. B. S. Avaliação clínica e neurofisiológica das possíveis consequências da intolerância à glicose ou do diabetes mellitus em pacientes com neuropatia sensitivo motora hereditária secundária à duplicação do cromossomo 17p11.2. 2015. 132p. Tese (Doutorado em Neurologia) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

ALLEN, J. A.; GORSON, K. C.; GUELINAS, D. Challenges in the diagnosis of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Brain and Behavior**. 2018;e00932. Disponível em <<https://doi.org/10.1002/brb3.932>>. Acesso em 15 de outubro de 2018.

ALLEN, J.A.; LEWIS, R. A. CIDP diagnostic pitfalls and perception of treatment benefit. **Neurology**, v. 85, p. 1–7, 2015.

ALLEN, J. A.; NEY, J.; LEWIS, R. A. Electrodiagnostic errors contribute to chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy misdiagnosis. **Muscle Nerve**, v. 57, n. 4, p. 542-549, Apr. 2018.

AUER-GRUMBACH, M.; WAGNER, K.; PAYER, F.; HARTUNG, H. P. Proximal Charcot-Marie-Tooth Syndrome with duplication on chromosome 17p11.2. **Annals of the New York Academy of Science**, Nova Iorque, v.883, p. 469-471, 1999.

AUER-GRUMBACH, M.; WAGNER, K.; STRASSER-FUCHS, S.; LÖSCHER, W. N.; FAZEKAS, F.; MILLNER, M.; HARTUNG, H. P. Clinical predominance of proximal upper limb weakness in CMT1A Syndrome. **Muscle and Nerve**, Nova Iorque, v. 23, p. 1243-1249, 2000.

AUSTIN, J. H. Recurrent polyneuropathies and their corticosteroid treatment; with five-year observations of a placebo-controlled case treated with corticotrophin, cortisone, and prednisone. **Brain**, v. 81, n. 2, p. 157-92, Jun. 1958.

BADANO, J. L.; INOVE, K.; KATSANIS, N.; LUPSKI, J. R. New polymorphic short tandem repeats for PCR-based Charcot-Marie-Tooth disease type 1A duplication diagnosis. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 47, n. 5, p. 838-43, 2001.

BARRETO, L. C. L. S. Perfil epidemiológico, sociodemográfico e psicossocial da doença de Charcot-Marie-Tooth. 2016. 96f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2016.

BENNETT, C. L.; SHIRK, A.J.; HUYNH, H.M.; STREET, V.A.; NELIS, E.; VAN MALDERGEM, L.; DE JONGHE, P.; JORDANOVA, A.; GUERGUELTCHEVA, V.; TOURNEV, I.; VAN DEN BERGH, P.; SEEMAN, P.; MAZANEC, R.; PROCHAZKA, T.; KREMENSKY, I.; HABERLOVA, J.; WEISS, M. D.; TIMMERMAN, V.; BIRD, T. D.; CHANCE, P. F. SIMPLE mutation in demyelinating neuropathy and distribution in sciatic nerve. **Ann Neurol**, v. 55, n. 5, p. 713-20, May, 2004.

BERCIANO, J.; GALLARDO, E.; GARCÍA, A.; INFANTE, J.; MATEO, I.; COMBARROS, O. Charcot-Marie-Tooth disease type 1A duplication with severe paresis of the proximal lower limb muscles: a long-term follow-up study. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, Londres, v. 77, p. 1169-1176, 2006.

BERCIANO, J.; GARCÍA, A.; GALLARDO, E.; PEETERS, K.; PELAYO-NEGRO, A. L.; ÁLVAREZ-PARADELO, S.; GAZULLA, J.; MARTÍNEZ-TAMES, M.; INFANTE, J.; JORDANOVA, A. Intermediate Charcot-Marie-Tooth disease: an electrophysiological reappraisal and systematic review. **J Neurol**, v. 264, n. 8, p. 1655-1677, Aug, 2017.

BHARUCHA, N. E.; BHARUCHA, A. E.; BHARUCHA, E. P. Prevalence of peripheral neuropathy in the Parsi community of Bombay. **Neurology**, v. 41, p. 1315-1317, 1991.

BIRD, T. D.; KRAFT, G. H.; LIPE, H. P.; KENNEY, K. L.; SUMI, S. M. Clinical and pathological phenotype of the original family with Charcot-Marie-Tooth type 1B: a 20-year study. **Ann Neurol**, v. 41, n. 4, p. 463-469, Apr, 1997.

BISSAR-TADMOURI, N.; PARMAN, Y.; BOUTRAND, L.; DEYMEER, F.; SERDAROGLU, P.; VANDENBERGHE, A.; BATTALOGU, E. Mutational analysis and genotype/phenotype correlation in Turkish Charcot-Marie-Tooth Type 1 and HNPP patients. **Clin Genet**, v. 58, n. 5, p. 396-402, Nov, 2000.

BLAIR, I. P.; KENNERSON, M. L.; NICHOLSON, G. A. Detection of Charcot-Marie-Tooth type 1A duplication by the polymerase chain reaction. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 41, n. 8, sup. 1, p. 1105-1108, 1995.

BONE, L. J.; DAHL, N.; LENSCH, M. W.; CHANCE, P. F.; KELLY, T.; LE GUERN, E.; MAGI, S.; PARRY, G.; SHAPIRO, H.; WANG, S.; et al. New connexin32 mutations associated with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. **Neurology**, v. 45, n. 10, p. 1863-1866, Oct, 1995.

BOUCHÉ, P.; GHERARDI, R.; CATHALA, H. P.; LHERMITE, F.; CASTAIGNE, P. Peroneal muscular atrophy. Part 1. Clinical and electrophysiological study. **Journal of the Neurological Sciences**, Amsterdã, v. 61, p. 389-399, 1983.

BORT, S.; NELIS, E.; TIMMERMAN, V.; SEVILLA, T.; CRUZ-MARTÍNEZ, A.; MARTÍNEZ, F.; MILLÁN, J. M.; ARPA, J.; VÍLCHEZ, J. J.; PRIETO, F.; VAN BROECKHOVEN, C.; PALAU, F. Mutational analysis of the MPZ, PMP22 and Cx32 genes in patients of Spanish ancestry with Charcot-Marie-Tooth disease and hereditary

neuropathy with liability to pressure palsies. **Hum Genet**, v. 99, n. 6, p. 746-754, Jun, 1997.

BRAATHEN, G. J. Genetic epidemiology of Charcot-Marie-Tooth disease. **Acta Neurol Scand**, v. 126, suppl. 193, p. iv-22, 2012.

BRAATHEN, G. J.; SAND, J. C.; LOBATO, A.; HØYER, H.; RUSSELL, M. B. Genetic epidemiology of Charcot-Marie-Tooth in the general population. **Eur J Neurol**, v. 18, n. 1, p. 39-48, Jan, 2011.

BROMBERG, M. B. An approach to the evaluation of peripheral neuropathies. **Semin Neurol**, v. 30, n. 4, p. 350-355, Sep, 2010.

BUENO, K. C. Análise mutacional dos genes LITAF, EGR2 e NEFL em uma população brasileira com a doença de Charcot-Marie-Tooth tipo 1. 2011. 71p. + anexos. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Campus Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, 2011.

BURNS, T. M. Chronic Inflammatory Demyelinating Polyradiculoneuropathy. **Arch Neurol**, v. 61, n. 6, p. 973-975, Jun, 2004.

BURNS, T. M.; PHILLIPS, L. H.; DIMBERG, E. L.; VAUGHT, B. K.; KLEIN, C. J. Novel myelin protein zero mutation (Arg36Trp) in a patient with acute onset painful neuropathy. **Neuromuscul Disord**, v. 16, n. 5, p. 308-310, May, 2006.

BURNS, J.; OUVRIER, R. A.; NICHOLSON, G. A.; RYAN, M. M. Establishment of the Australasian paediatric Charcot-Marie-Tooth disease registry. **Neuromuscul Disord**, v. 17, n. 4, p. 349-350, 2007.

CABASSON, S.; TARDIEU, M.; MEUNIER, A.; ROUANET-LARRIVIERE, M. F.; BOULAY, C.; PEDESPAN, J. M. Childhood CIDP: Study of 31 patients and comparison between slow and rapid-onset groups. **Brain Dev**, v. 37, n. 10, p. 943-951, 2015.

CARENINI, S.; MÄURER, M.; WERNER, A.; BLAZYCA, H.; TOYKA, K. V.; SCHMID, C. D.; RAIVICH, G.; MARTINI, R. The role of macrophages in demyelinating peripheral nervous system of mice heterozygously deficient in P0. **J Cell Biol**, v. 152, n. 2, p. 301-308, Jan, 2001.

CASASNOVAS, C.; BANCHS, I.; CORRAL, J.; MARTÍNEZ-MATOS, J. A.; VOLPINI, V. Clinical and molecular analysis of X-linked Charcot-Marie-Tooth disease type 1 in Spanish population. **Clin Genet**, v. 70, n. 6, p. 516-523, Dec, 2006.

CHIÒ, A.; COCITO, D.; BOTTACCHI, E.; BUFFA, C.; LEONE, M.; PLANO, F.; MUTANI, R.; CALVO, A.; PARCIDP. Idiopathic chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: an epidemiological study in Italy. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 78, n. 12, p. 1349-1353, Dec, 2007.

CHOI, B. O.; LEE, M. S.; SHIN, S. H.; HWANG, J. H.; CHOI, K. G.; KIM, W. K.; SUNWOO, I. N.; KIM, N. K.; CHUNG, K. W. Mutational analysis of PMP22, MPZ,

GJB1, EGR2 and NEFL in Korean Charcot-Marie-Tooth neuropathy patients. **Hum Mutat**, v. 24, n. 2, p. 185-186, Aug, 2004.

CIOTTI, P.; LUIGETTI, M.; GEROLDI, A.; CAPPONI, S.; PEZZINI, I.; GULLI, R.; PAZZAGLIA, C.; PADUA, L.; MASSA, R.; MANDICH, P.; BELLONE, E. A novel LITAF/SIMPLE mutation within a family with a demyelinating form of Charcot-Marie-Tooth disease. **J Neurol Sci**, v. 343, n. 1-2, p. 183-186, Aug, 2014.

CODRON, P.; COUSIN, M.; SUBRA, J. F.; PAUTOT, V.; LETOURNEL, F.; VERNY, C.; CASSEREAU, J. Therapeutic plasma exchange in chronic dysimmune peripheral neuropathies: A 10-year retrospective study. **J Clin Apher**, v. 32, n. 6, p. 413-422, Dec, 2017.

CORNETT, K. M. D.; MENEZES, M. P.; SHY, R. R.; MORONI, I.; PAGLIANO, E.; PAREYSON, D.; ESTILOW, T.; YUM, S. W.; BHANDARI, T.; MUNTONI, F.; LAURA, M.; REILLY, M. M.; FINKEL, R. S.; EICHINGER, K. J.; HERRMANN, D. N.; BRAY, P.; HALAKI, M.; SHY, M. E.; BURNS, J.; CMTPedS Study Group. Natural history of Charcot-Marie-Tooth disease during childhood. **Ann Neurol**, v. 82, n. 3, p. 353-359, 2017.

CUDREY, C.; CHEVILLARD, C.; LE PASLIER, D.; VIGNAL, A.; PASSAGE, E.; FONTES, M. Assignment of microsatellite sequences to the region duplicated in CMT1A (17p12): a useful tool for diagnosis. **Journal of Medical Genetics**, Londres, v. 32, p. 231-233, 1995.

DACCI, P.; TARONI, F.; BELLA, E. D.; MILANI, M.; PAREYSON, D.; MORBIN, M.; LAURIA, G. Myelin protein zero Arg36Gly mutation with very late onset and rapidly progressive painful neuropathy. **J Peripher Nerv Syst**, v. 17, n. 4, p. 422-425, Dec, 2012.

DAS, N.; KANDALAFT, S.; WU, X.; MALHOTRA, A. Cranial nerve involvement in Charcot-Marie-Tooth Disease. **J Clin Neurosci**, v. 37, p. 59-62, Mar, 2017.

DELI, G.; BOSNYAK, E.; PUSCH, G.; KOMOLY, S.; FEHER, G. Diabetic neuropathies: diagnosis and management. **Neuroendocrinology**, v. 98, n. 4, p. 267-280, 2013.

DEN DUNNEN, J. T.; DALGLEISH, R.; MAGLOTT, D. R.; HART, R. K.; GREENBLATT, M. S.; MCGOWAN-JORDAN, J.; ROUX, A. F.; SMITH, T.; ANTONARAKIS, S. E.; TASCHNER, P. E. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. **Hum Mutat**, v. 37, n. 6, p. 564-569, Jun, 2016.

DIEDERICH, J. M.; STAUDT, M.; MEISEL, C.; HAHN, K.; MEINL, E.; MEISEL, A.; KLEHMET, J. Neurofascin and Compact Myelin Antigen-Specific T Cell Response Pattern in Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy Subtypes. **Front Neurol**, 2018 Mar 19;9:171. doi: 10.3389/fneur.2018.00171. eCollection 2018.

DIONNE, A.; NICOLLE, M. W.; HAHN, A. F. Clinical and electrophysiological parameters distinguishing acute-onset chronic inflammatory demyelinating

polyneuropathy from acute inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Muscle Nerve**, v. 41, n. 2, p. 202-207, Feb, 2010.

DIVINCENZO, C.; ELZINGA, C. D.; MEDEIROS, A. C.; KARBASSI, I.; JONES, J. R.; EVANS, M. C.; BRAASTAD, C. D.; BISHOP, C. M.; JAREMKO, M.; WANG, Z.; LIAQUAT, K.; HOFFMAN, C. A.; YORK, M. D.; BATISH, S. D.; LUPSKI, J. R.; HIGGINS, J. J. The allelic spectrum of Charcot-Marie-Tooth disease in over 17,000 individuals with neuropathy. **Mol Genet Genomic Med**, v. 2, n. 6, p. 522-529, Nov, 2014.

DONAGHY, M.; SISODIYA, S. M.; KENNETT, R.; MCDONALD, B.; HAITES, N.; BELL, C. Steroid responsive polyneuropathy in a family with a novel myelin protein zero mutation. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 69, p. 799–805, 2000.

DONEDDU, P. E.; COCITO, D.; MANGANELLI, F.; FAZIO, R.; BRIANI, C.; FILOSTO, M.; BENEDETTI, L.; MAZZEO, A.; MARFIA, G. A.; CORTESE, A.; FIERRO, B.; JANN, S.; BEGHI, E.; CLERICI, A. M.; CARPO, M.; SCHENONE, A.; LUIGETTI, M.; LAURIA, G.; ANTONINI, G.; ROSSO, T.; SICILIANO, G.; CAVALETTI, G.; LIBERATORE, G.; SANTORO, L.; PECI, E.; TRONCI, S.; RUIZ, M.; COTTI PICCINELLI, S.; TOSCANO, A.; MATALUNI, G.; PICCOLO, L.; COSENTINO, G.; SABATELLI, M.; NOBILE-ORAZIO, E.; ITALIAN CIDP DATABASE STUDY GROUP. Atypical CIDP: diagnostic criteria, progression and treatment response. Data from the Italian CIDP Database. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, 2018 Oct 8. pii: jnnp-2018-318714. doi: 10.1136/jnnp-2018-318714. [Epub ahead of print] PMID: 30297520

DRAC, H.; KABZIŃSKA, D.; MOSZYŃSKA, I.; STRUGALSKA-CYNOWSKA, H.; HAUSMANOWA-PETRUSEWICZ, I.; KOCHAŃSKI, A. Dysmyelinating and demyelinating Charcot-Marie-Tooth disease associated with two myelin protein zero gene mutations. **J Appl Genet**, v. 52, n. 2, p. 177-183, May, 2011.

DUBOURG, O.; TARDIEU, S.; BIROUK, N.; GOUIDER, R.; LÉGER, J. M.; MAISONOBE, T.; BRICE, A.; BOUCHE, P.; LEGUERN, E. Clinical, electrophysiological and molecular genetic characteristics of 93 patients with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. **Brain**, v. 124, n. 10, p. 1958-1967, Oct, 2001.

DYCK, P. J. Peripheral Neuropathy. **Postgrad Med**, v. 41, n. 3, p. 279-288, 1967.

DYCK, P. J.; LAIS, A. C.; OHTA, M.; BASTRON, J. A.; OKAZAKI, H.; GROOVER, R. V. Chronic inflammatory polyradiculoneuropathy. **Mayo Clin Proc**, v. 50, n. 11, p. 621-637, Nov, 1975.

DYCK, P. J.; O'BRIEN, P. C.; OVIATT, K. F.; DINAPOLI, R. P.; DAUBE, J. R.; BARTLESON, J. D.; MOKRI, B.; SWIFT, T.; LOW, P. A.; WINDEBANK, A. J. Prednisone improves chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy more than no treatment. **Ann Neurol**, v. 11, n. 2, p. 136-141, Feb, 1982.

DYCK, P. J.; NORELL, J. E.; DYCK, P. J. Non-diabetic lumbosacral radiculoplexus neuropathy: natural history, outcome and comparison with the diabetic variety. **Brain**, v. 124, n. 6, p. 1197-1207, Jun, 2001.

DYCK, P. J.; TRACY, J. A. History, Diagnosis, and Management of Chronic Inflammatory Demyelinating Polyradiculoneuropathy. **Mayo Clin Proc**, v. 93, n. 6, p. 777-793, Jun, 2018.

D'YDEWALLE, C.; KRISHNAN, J.; CHIHEB, D. M.; VAN DAMME, P.; IROBI, J.; KOZIKOWSKI, A. P.; VANDEN BERGHE, P.; TIMMERMAN, V.; ROBBERECHT, W.; VAN DEN BOSCH, L. HDAC6 inhibitors reverse axonal loss in a mouse model of mutant HSPB1-induced Charcot-Marie-Tooth disease. **Nat Med**, v. 17, n. 8, p. 968-974, Jul, 2011.

ENGLAND, J. D.; GRONSETH, G. S.; FRANKLIN, G.; CARTER, G. T.; KINSELLA, L. J.; COHEN, J. A.; ASBURY, A. K.; SZIGETI, K.; LUPSKI, J. R.; LATOV, N.; LEWIS, R. A.; LOW, P. A.; FISHER, M. A.; HERRMANN, D. N.; HOWARD, J. F.; LAURIA, G.; MILLER, R. G.; POLYDEFKIS, M.; SUMNER, A. J. Practice Parameter: The Evaluation of Distal Symmetric Polyneuropathy: The Role of Laboratory and Genetic Testing (An Evidence-Based Review) Report of the American Academy of Neurology, the American Association of Neuromuscular and Electrodiagnostic Medicine, and the American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. **Physical Medicine and Rehabilitation Journal**, v. 1, p. 5-13, 2009.

ENGLAND, J. D.; ASBURY, A. K. Peripheral neuropathy. **Lancet**, v. 363, p. 2151–2161, 2004.

FABRIZI, G. M.; TAMBURIN, S.; CAVALLARO, T.; CABRINI, I.; FERRARINI, M.; TAIOLI, F.; MAGRINELLI, F.; ZANETTE, G. The spectrum of Charcot-Marie-Tooth disease due to myelin protein zero: An electrodiagnostic, nerve ultrasound and histological study. **Clin Neurophysiol**, v. 129, n. 1, p. 21-32, Jan, 2018.

EXOME VARIANT SERVER, NHLBI GO Exome Sequencing Project (ESP), Seattle, WA. Disponível em: <<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>>. Acesso em 21 de outubro de 2018.

FELIX, E. P. V.; OLIVEIRA, A. S. B. Guidelines for the diagnosis of neuropathies in a Reference Center for Neuromuscular diseases. **Rev Neurocienc**, v. 18, n. 1, p. 74-80, 2010.

FLEURY, M.; ANHEIM, M.; TRANCHANT, C.; WARTER, J. M. Acute relapse in Charcot-Marie-Tooth 1B neuropathy: can protein P0 behave like an autoantigen? **Rev Neurol (Paris)**, v. 160, n. 8-9, p. 839-842, Sep, 2004.

FREITAS, M. R. G.; NASCIMENTO, O. J. M.; CHIMELLI, L.; MARQUES, H. J. A. Polineuropatias: estudo de 407 casos atendidos no Hospital Universitario Antonio Pedro de 1978 a 1989 **Rev. Bras. Neurol**, v. 6, n. 26, p. 165-169, nov./dez., 1990.

FREITAS, M. R.; NASCIMENTO, O. J.; CHIMELLI, L.; DE FREITAS, G. R. Charcot-Marie-Tooth disease. Study of sural nerve biopsy in 41 patients. **Arq Neuropsiquiatr**, v. 53, n. 3-B, p. 560-569, Sep, 1995.

FUJITA, A.; OGATA, H.; YAMASAKI, R.; MATSUSHITA, T.; KIRA, J. I. Parallel fluctuation of anti-neurofascin 155 antibody levels with clinico-electrophysiological findings in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. **J Neurol Sci**, v. 384, p. 107-112, Jan, 2018.

GABREËLS-FESTEN, A. A. W. M.; JOOSTEN, E. M. G.; GABREELS, F. J. M.; JENNEKENS, F. G. I.; JANSEEN-VAN KEMPEN, T. W. Early morphological features in dominantly inherited demyelinating motor and sensory neuropathy (HMSN type I). **Journal of the Neurological Sciences**, Amsterdã, v. 107, p. 145-154, 1992.

GABREËLS-FESTEN, A. A.; GABREËLS, F. J.; HOOGENDIJK, J. E.; BOLHUIS, P. A.; JONGEN, P. J.; VINGERHOETS, H. M. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy or hereditary motor and sensory neuropathy? Diagnostic value of morphological criteria. **Acta Neuropathol**, v. 86, n. 6, p. 630-635, 1993.

GABRIEL, C. M.; HUGHES, R. A.; MOORE, S. E.; SMITH, K. J.; WALSH, F. S. Induction of experimental autoimmune neuritis with peripheral myelin protein-22. **Brain**, v. 121, n. 10, p. 1895-1902, Oct, 1998.

GABRIEL, C. M.; GREGSON, N. A.; WOOD, N. W.; HUGHES, R. A. C. Immunological study of hereditary motor end sensory neuropathy type 1a (HMSN1a). **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, Londres, v. 72, p. 230-235, 2002.

GARCIA, C. A. A Clinical Review of Charcot-Marie-Tooth. **Ann N Y Acad Sci**, v. 883, n. 1, p. 69-76, Oct, 1999.

GAZULLA, J.; ALMÁRCEGUI, C.; BERCIANO, J. Reversible inflammatory neuropathy superimposed on Charcot-Marie-Tooth type 1A disease. **Neurol Sci**, v. 39, n. 4, p. 793-794, Apr, 2018.

GERDING, W. M.; KOETTING, J.; EPPLEN, J. T.; NEUSCH, C. Hereditary motor and sensory neuropathy caused by a novel mutation in LITAF. **Neuromuscul Disord**, v. 19, p. 701-703, 2009.

GESS, B.; BAETS, J.; DE JONGHE, P.; REILLY, M. M.; PAREYSON, D.; YOUNG, P. Ascorbic acid for the treatment of Charcot-Marie-Tooth disease. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 12, CD011952, Dec, 2015.

GINSBERG, L.; MALIK, O.; KENTON, A. R.; SHARP, D.; MUDDLE, J. R.; DAVIS, M. B.; WINER, J. B.; ORRELL, R. W.; KING, R. H. Coexistent hereditary and inflammatory neuropathy. **Brain**, v. 127, n. 1, p. 193-202, Jan, 2004.

GOUVEA, S. P. S.; BORGHETTI, V. H.; BUENO, K. C.; GENARI, A. B.; LOURENÇO, C. M.; SOBREIRA, C.; BARREIRA, A. A.; MARQUES, W. Compound Charcot-Marie-Tooth disease may determine unusual and milder phenotypes. **Neurogenetics**, v. 11, n. 1, p. 135-138, Feb, 2010.

GRIMM, A.; WINTER, N.; WOLKING, S.; VITTORE, D.; BISKUP, S.; AXER, H. Nerve enlargement in an unusual case of inflammatory neuropathy and new gene mutation-morphology is the key. **Neurol Sci**, v. 38, n. 8, p. 1525-1527, Aug, 2017.

GUIMARÃES-COSTA, R.; IANCU FERFOGLIA, R.; LEONARD-LOUIS, S.; ZIEGLER, F.; MAGY, L.; FOURNIER, E.; DUBOURG, O.; BOUCHE, P.; MAISONOBE, T.; LACOUR, A.; MOERMAN, A.; LATOUR, P.; STOJKOVIC, T. Phenotypic spectrum of Charcot-Marie-Tooth disease due to LITAF/SIMPLE mutations: a study of 18 patients. **Eur J Neurol**, v. 24, n. 3, p. 530-538, Mar, 2017.

HAFSTEINSDOTTIR, B.; OLAFSSON, E. Incidence and Natural History of Idiopathic Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy: A Population-Based Study in Iceland. **Eur Neurol**, v. 75, n. 5-6, p. 263-268, 2016.

HAITES, N. E.; NELIS, E.; VAN BROECKHOVEN, C. 3rd workshop of the European CMT consortium: 54th ENMC International Workshop on genotype/phenotype correlations in Charcot-Marie-Tooth type 1 and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies 28-30 November 1997, Naarden, The Netherlands. **Neuromuscul Disord**, v. 8, n. 8, p. 591-603, Dec, 1998.

HALILOĞLU, G.; YÜKSEL, D.; TEMOÇIN, C. M.; TOPALOĞLU, H. Challenges in pediatric chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Neuromuscul Disord**, v. 26, n. 12, p. 817-824, 2016.

HARDING, A. E. The DNA laboratory and neurological practice. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 56, n. 3, p. 229-233, Mar, 1993.

HARDING, A. E.; THOMAS, P. K. The clinical features of hereditary motor and sensory neuropathy types I and II. **Brain**, v. 103, n. 2, p. 259-280, Jun, 1980.

HAYASAKA, K.; HIMORO, M.; WANG, Y.; TAKATA, M.; MINOSHIMA, S.; SHIMIZU, N.; MIURA, M.; UYEMURA, K.; TAKADA, G. Structure and chromosomal localization of the gene encoding the human myelin protein zero (MPZ). **Genomics**, v. 17, n. 3, p. 755-758, Sep, 1993.

HUEHNE, K.; BENES, V.; THIEL, C.; KRAUS, C.; KRESS, W.; HOELTZENBEIN, M.; PLONER, C. J.; KOTZIAN, J.; REIS, A.; ROTT, H. D.; RAUTENSTRAUSS, B. W. Novel mutations in the Charcot-Marie-Tooth disease genes PMP22, MPZ, and GJB1. **Hum Mutat**, v. 21, n. 1, p. 100, Jan, 2003.

HU, W.; XIN, Y.; HE, Z.; ZHAO, Y. Association of neurofascin IgG4 and atypical chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: A systematic review and meta-analysis. **Brain Behav**. 2018 Oct;8(10):e01115. doi: 10.1002/brb3.1115. Epub 2018 Sep 21. PMID: 30240176

IBARRA-RAMIREZ, C. T.; IBARRA, C. T.; ROCHA, J. J.; HERNÁNDEZ, R. O.; NIEVES, R. E.; LEYVA, R. J. Prevalencia de neuropatía periférica em diabéticos tipo 2 en el primer nivel de atención. **Rev Med Chile**, v. 140, p. 1126-1131, 2012.

IJIMA, M.; KOIKE, H.; HATTORI, N.; TAMAKOSHI, A.; KATSUNO, M.; TANAKA, F.; YAMAMOTO, M.; ARIMURA, K.; SOBUE, G. Refractory Peripheral Neuropathy Study Group of Japan. Prevalence and incidence rates of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy in the Japanese population. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 79, n. 9, p. 1040-1043, Sep, 2008.

JANI-ACSADI, A.; OUNPUU, S.; PIERZ, K.; ACSADI, G. Pediatric Charcot-Marie-Tooth disease. **Pediatr Clin North Am**, v.62, n. 3, p. 767-786, 2015.

KANDIL, M. R.; DARWISH, E. S.; KHEDR, E. M.; SABRY, M. M.; ABDULAH, M. A. A community-based epidemiological study of peripheral neuropathies in Assiut, Egypt. **Neurol Res**, v. 34, n. 10, p. 960-966, Dec, 2012.

KARADIMA, G.; FLOROSKUFI, P.; KOUTSIS, G.; VASSILOPOULOS, D.; PANAS, M. Mutational analysis of PMP22, GJB1 and MPZ in Greek Charcot-Marie-Tooth type 1 neuropathy patients. **Clin Genet**, v. 80, n. 5, p. 497-499, Nov, 2011.

KARADIMA, G.; KOUTSIS, G.; KARLETIDI, K. M.; PANAS, M. Reevaluation of the CMT1A duplication frequency in Greek Charcot-Marie-Tooth type 1 patients. **Clin Genet**, v. 86, n. 6, p. 603, Dec, 2014.

KENT, W. J.; SUGNET, C. W.; FUREY, T. S.; ROSKIN, K. M.; PRINGLE, T. H.; ZAHLER, A. M.; HAUSSLER, D. The Human Genome Browser at UCSC. **Genome Research**, v. 12, n. 6, p. 996–1006, 2002.

KHAJAVI, M.; SHIGA, K.; WISZNIEWSKI, W.; HE, F.; SHAW, C. A.; YAN, J.; WENSEL, T. G.; SNIPES, G. J.; LUPSKI, J. R. Oral curcumin mitigates the clinical and neuropathologic phenotype of the Trembler-J mouse: a potential therapy for inherited neuropathy. **Am J Hum Genet**, v.81, n. 3, p. 438-453, Sep, 2007.

KLEIN, D.; GROH, J.; WEISHAUPT, A.; MARTINI, R. Endogenous antibodies contribute to macrophage-mediated demyelination in a mouse model for CMT1B. **J Neuroinflammation**, v. 12, p. 49, Mar, 2015.

KRARUP, C. An update on electrophysiological studies in neuropathy. **Curr Opin Neurol**, v. 16, n. 5, p. 603-612, Oct, 2003.

KUMAR, P.; HENIKOFF, S.; NG, P. C. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. **Nature protocols**, v. 4, n. 7, p. 1073–1081, 2009.

KURIHARA, S.; ADACHI, Y.; IMAI, C.; ARAKI, H.; HATTORI, N.; NUMAKURA, C.; LIN, Y.; HAYASAKA, K.; SOBUE, G.; NAKASHIMA, K. Charcot-Marie-Tooth families in Japan with MPZ Thr124Met mutation. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 75, n. 10, p. 1492-1494, Oct, 2004.

KUSUMI, M.; NAKASHIMA, K.; NAKAYAMA, H.; TAKAHASHI, K. Epidemiology of inflammatory neurological and inflammatory neuromuscular diseases in Tottori Prefecture, Japan. **Psychiatry Clin Neurosci**, v. 49, n. 3, p.169-174, Jun, 1995.

KWA, M. S.; VAN SCHAIK, I. N.; BRAND, A.; BAAS, F.; VERMEULEN, M. Investigation of serum response to PMP22, connexin 32 and P(0) in inflammatory neuropathies. **J Neuroimmunol**, v. 116, n. 2, p. 220-225, Jun, 2001.

LAGUENY, A.; LATOUR, P.; VITAL, A.; LE MASSON, G.; ROUANET, M.; FERRER, X.; VITAL, C.; VANDENBERGHE, A. Mild recurrent neuropathy in CMT1B with a novel nonsense mutation in the extracellular domain of the MPZ gene. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 70, n. 2, p. 232-235, Feb, 2001.

LAURÀ, M.; MILANI, M.; MORBIN, M.; MOGGIO, M.; RIPOLONE, M.; JANN, S.; SCAIOLI, V.; TARONI, F.; PAREYSON, D. Rapid progression of late onset axonal Charcot-Marie-Tooth disease associated with a novel MPZ mutation in the extracellular domain. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 78, n. 11, p. 1263-1266, Nov, 2007.

LATOUR, P.; BLANQUET, F.; NELIS, E.; BONNEBOUCHE, C.; CHAPON, F.; DIRAISON, P.; OLLAGNON, E.; DAUTIGNY, A.; PHAM-DINH, D.; CHAZOT, G.; et al. Mutations in the myelin protein zero gene associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 1B. **Hum Mutat**, v. 6, n. 1, p. 50-54, 1995.

LATOUR, P.; GONNAUD, P. M.; OLLAGNON, E.; CHAN, V.; PERELMAN, S.; STOJKOVIC, T.; STOLL, C.; VIAL, C.; ZIEGLER, F.; VANDENBERGHE, A.; MAIRE, I. SIMPLE mutation analysis in dominant demyelinating Charcot-Marie-Tooth disease: three novel mutations. **Journal of the Peripheral Nervous System**, v. 11, p. 148-155, 2006.

LATOV, N. Diagnosis and treatment of chronic acquired demyelinating polyneuropathies. **Nat Rev Neurol**, v. 10, n. 8, p. 435-446, Aug, 2014.

LAUGHLIN, R. S.; DYCK, P. J.; MELTON, L. J. III; LEIBSON, C.; RANSOM, J.; DYCK, P. J. Incidence and prevalence of CIDP and the association of diabetes mellitus. **Neurology**, v. 73, n. 1, p. 39-45, 2009.

LEAL, R. C. C. Influência da gravidez sobre a neuropatia de pacientes com a doença de Charcot-Marie-Tooth tipo 1A. 2016. 250p. Tese (Doutorado em Neurologia) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

LEE, M. J.; NELSON, I.; HOULDEN, H.; SWEENEY, M. G.; HILTON-JONES, D.; BLAKE, J.; WOOD, N. W.; REILLY, M. M. Six novel connexin32 (GJB1) mutations in X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 73, n. 3, p. 304-306, Sep, 2002.

LEE, Y. C.; SOONG, B. W.; LIN, K. P.; LEE, H. Y.; WU, Z. A.; KAO, K. P. Myelin protein zero gene mutations in Taiwanese patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 1. **J Neurol Sci**, v. 219, n. 1-2, p. 95-100, Apr, 2004.

LEE, Y. C.; SOONG, B. W.; LIU, Y. T.; LIN, K. P.; KAO, K. P.; WU, Z. A. Median nerve motor conduction velocity is concordant with myelin protein zero gene mutation. **J Neurol**, v. 252, n. 2, p. 151-155, Feb, 2005.

- LEE, S.S.; LEE, H.J.; PARK, J.M.; HONG, Y.B.; PARK, K.D.; YOO, J.H.; KOO, H.; JUNG, S.C.; PARK, H.S.; LEE, J.H.; LEE, M.G.; HYUN, Y.S.; NAKHRO, K.; CHUNG, K.W.; CHUNG, K.W.; CHOI, B.O. Proximal dominant hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominance and association with mutation in the TRK-fused gene. **JAMA Neurology**, v. 70, n. 5, p. 607-615, 2013.
- LEK, M. et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. **Nature**, v. 536, p. 285–291, 2016.
- LEMKE, G. Unwrapping the genes of myelin. **Neuron**, v. 1, n. 7, p. 535-543, Sep, 1988.
- LEWIS, R. A.; SUMNER, A. J. The electrodiagnostic distinctions between chronic familial and acquired demyelinating neuropathies. **Neurology**, v.32, n. 6, p. 592-596, Jun, 1982.
- LEWIS, R. A.; SUMNER, A. J.; SHY, M. E. Electrophysiological features of inherited demyelinating neuropathies: A reappraisal in the era of molecular diagnosis. **Muscle Nerve**, v.23, n. 10, p. 1472-1487, Oct, 2000.
- LI, L. X.; DONG, H. L.; XIAO, B. G.; WU, Z. Y. A Novel Missense Mutation in Peripheral Myelin Protein-22 Causes Charcot-Marie-Tooth Disease. **Chin Med J (Engl)**, v. 130, n. 15, p. 1779-1784, Aug, 2017.
- LIU, L.; LI, X.; ZI, X.; HUANG, S.; ZHAN, Y.; JIANG, M.; GUO, J.; XIA, K.; TANG, B.; ZHANG, R. Two novel MPZ mutations in Chinese CMT patients. **J Peripher Nerv Syst**, v. 18, n. 3, p. 256-260, Sep, 2013.
- LLEWELYN, J. G. The diabetic neuropathies: types, diagnosis and management. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 74, suppl 2, p. ii15-ii19, Jun, 2003.
- LOREFICE, L.; MURRU, M. R.; COGHE, G.; FENU, G.; CORONGIU, D.; FRAU, J.; TRANQUILLI, S.; TACCONI, P.; VANNELLI, A.; MARROSU, G.; MAMUSA, E.; COCCO, E.; MARROSU, M. G. Charcot-Marie-Tooth disease: genetic subtypes in the Sardinian population. **Neurol Sci**, v. 38, n. 6, p. 1019-1025, Jun, 2017.
- LUIGETTI, M.; FABRIZI, G. M.; TAIOLI, F.; DEL GRANDE, A.; LO MONACO, M. A novel LITAF/SIMPLE variant within a family with minimal demyelinating Charcot-Marie-Tooth disease. **Neurol Sci**, v. 35, n. 12, p. 2005-2057, Dec, 2014.
- LUNN, M. P.; MANJI, H.; CHOUDHARY, P. P.; HUGHES, R. A.; THOMAS, P. K. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: a prevalence study in south east England. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 66, n. 5, p. 677-680, May, 1999.
- LUPSKI, J. R.; GARCIA, C. A. Molecular genetics and neuropathology of Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. **Brain Pathology**, v. 2, p. 337-349, 1992.

MAEDA, Y.; KATAOKA, Y.; SUGAYA, A.; KARIYA, S.; KOBAYASHI, K.; NISHIZAKI, K. Steroid-dependent sensorineural hearing loss in a patient with Charcot-Marie-Tooth disease showing auditory neuropathy. **Auris Nasus Larynx**, v. 42, n. 3, p. 249-253, Jun, 2015.

MAGY, L.; MATHIS, S.; LE MASSON, G.; GOIZET, C.; TAZIR, M.; VALLAT, J. M. Updating the classification of inherited neuropathies: Results of an international survey. **Neurology**, v. 90, n. 10, p. e870-e876, Mar, 2018.

MAHDI-ROGERS, M.; BRASSINGTON, R.; GUNN, A. A.; VAN DOORN, P. A.; HUGHES, R. A. Immunomodulatory treatment other than corticosteroids, immunoglobulin and plasma exchange for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. **Cochrane Database Syst Rev**. 2017 May 8;5:CD003280. doi: 10.1002/14651858.CD003280.pub5. Review. PMID: 28481421

MARQUES JUNIOR, W.; HERRERA, R. F.; TRADE, E. S.; BARREIRA, A. A. Diagnóstico das neuropatias periféricas: diagnósticos sindrômicos, topográficos e etiológicos. **Arq Neuro-Psiquiatr**, São Paulo, v. 50, n. 4, p. 448-457, Dec, 1992 .

MARQUES, W.; FREITAS, M. R.; NASCIMENTO, O. J.; OLIVEIRA, A. B.; CALIA, L.; MELO, A.; LUCENA, R.; ROCHA, V.; BARREIRA, A. A. 17p duplicated Charcot-Marie-Tooth 1A: characteristics of a new population. **J Neurol**, v. 252, n. 8, p. 972-979, Aug, 2005.

MARQUES, W.; FUNAYAMA, C. A.; SECCHIN, J. B.; LOURENÇO, C. M.; GOUVÊA, S. P.; MARQUES, V. D.; BASTOS, P. G.; BARREIRA, A. A. Coexistence of two chronic neuropathies in a young child: Charcot-Marie-Tooth disease type 1A and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Muscle Nerve**, v. 42, n. 4, p. 598-600, Oct, 2010.

MARROSU, M. G.; VACCARGIU, S.; MARROSU, G.; VANNELLI, A.; CIANCHETTI, C.; MUNTONI, F. Charcot-Marie-Tooth disease type 2 associated with mutation of the myelin protein zero gene. **Neurology**, v. 50, n. 5, p. 1397-1401, May, 1998.

MARTINI, R.; KLEIN, D.; GROH, J. Similarities between inherited demyelinating neuropathies and Wallerian degeneration: an old repair program may cause myelin and axon perturbation under nonlesion conditions. **Am J Pathol**, v. 183, n. 3, p. 655-660, Sep, 2013.

MARTINI, R.; TOYKA, K. V. Immune-mediated components of hereditary demyelinating neuropathies: lessons from animal models and patients. **Lancet Neurol**, v. 3, n. 8, p. 457-465, Aug, 2004.

MARTTILA, M.; KYTÖVUORI, L.; HELISALMI, S.; KALLIO, M.; LAITINEN, M.; HILTUNEN, M.; KÄRPPÄ, M.; MAJAMAA, K. Molecular Epidemiology of Charcot-Marie-Tooth Disease in Northern Ostrobothnia, Finland: A Population-Based Study. **Neuroepidemiology**, v. 49, n. 1-2, p. 34-39, 2017.

MARTYN, C. N.; HUGHES, R. A. Epidemiology of peripheral neuropathy. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 62, n. 4, p. 310-318, Apr, 1997.

MATHIS, S.; GOIZET, C.; TAZIR, M.; MAGDELAINE, C.; LIA, A. S.; MAGY, L.; VALLAT, J. M. Charcot-Marie-Tooth diseases: an update and some new proposals for the classification. **J Med Genet**, v. 52, n. 10, p. 681-690, Oct, 2015.

MCCORQUODALE, D.; PUCILLO, E. M.; JOHNSON, N. E. Management of Charcot-Marie-Tooth disease: improving long-term care with a multidisciplinary approach. **J Multidiscip Healthc**, v. 9, p. 7-19, Jan, 2016.

MCLEOD, J. G. Investigation of peripheral neuropathy. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 58, n. 3, p. 274-283, Mar, 1995.

MCLEOD, J. G.; POLLARD, J. D.; MACASKILL, P.; MOHAMED, A.; SPRING, P.; KHURANA, V. Prevalence of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy in New South Wales, Australia. **Ann Neurol**, v. 46, n. 6, p. 910-913, Dec, 1999.

MCMILLAN, H. J.; KANG, P. B.; JONES, H. R.; DARRAS, B. T. Childhood chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: combined analysis of a large cohort and eleven published series. **Neuromuscul Disord**, v. 23, n. 2, p. 103-111, Feb, 2013.

MEGGOUH, F.; DE VISSER, M.; ARTS, W. F.; DE COO, R. I.; VAN SCHAIK, I. N.; BAAS, F. Early onset neuropathy in a compound form of Charcot-Marie-Tooth disease. **Ann Neurol**, v. 57, n. 4, p. 589-591, Apr, 2005.

MERSIYANOVA, I. V.; ISMAILOV, S. M.; POLYAKOV, A. V.; DADALI, E. L.; FEDOTOV, V. P.; NELIS, E.; LÖFGREN, A.; TIMMERMAN, V.; VAN BROECKHOVEN, C.; EVGRAFOV, O. V. Screening for mutations in the peripheral myelin genes PMP22, MPZ and Cx32 (GJB1) in Russian Charcot-Marie-Tooth neuropathy patients. **Hum Mutat**, v. 15, n. 4, p. 340-347, 2000.

MEYER ZU HORSTE, G.; PRUKOP, T.; LIEBETANZ, D.; MOBIUS, W.; NAVE, K. A.; SEREDA, M. W. Antiprogestosterone therapy uncouples axonal loss from demyelination in a transgenic rat model of CMT1A neuropathy. **Ann Neurol**, v. 61, n. 1, p. 61-72, Jan, 2007.

MICHELL, A. W.; LAURA, M.; BLAKE, J.; LUNN, M. P.; COX, A.; GIBBONS, V. S.; DAVIS, M. B.; WOOD, N. W.; MANJI, H.; HOULDEN, H.; MURRAY, N. M.; REILLY, M. M. GJB1 gene mutations in suspected inflammatory demyelinating neuropathies not responding to treatment. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 80, n. 6, p. 699-700, Jun, 2009.

MIKI, Y.; TOMIYAMA, M.; HAGA, R.; NISHIJIMA, H.; SUZUKI, C.; KURIHARA, A.; SUGIMOTO, K.; HASHIGUCHI, A.; TAKASHIMA, H.; BABA, M. A family with IVIg-responsive Charcot-Marie-Tooth disease. **J Neurol**, v. 260, n. 4, p. 1147-1151, Apr, 2013.

MILLEY, G. M.; VARGA, E. T.; GROSZ, Z.; NEMES, C.; ARÁNYI, Z.; BOCZÁN, J.; DIÓSZEGHY, P.; MOLNÁR, M. J.; GÁL, A. Genotypic and phenotypic spectrum of the most common causative genes of Charcot-Marie-Tooth disease in Hungarian patients. **Neuromuscul Disord**, v. 28, n. 1, p. 38-43, Jan, 2018.

MILNER, P.; LOVELIDGE, C. A.; TAYLOR, W. A.; HUGHES, R. A. P0 myelin protein produces experimental allergic neuritis in Lewis rats. **J Neurol Sci**, v. 79, n. 3, p. 275-285, Jul, 1987.

MITTENDORF, K. F.; MARINKO, J. T.; HAMPTON, C. M.; KE, Z.; HADZISELIMOVIC, A.; SCHLEBACH, J. P.; LAW, C. L.; LI, J.; WRIGHT, E. R.; SANDERS, C. R.; OHI, M. D. Peripheral myelin protein 22 alters membrane architecture. **Sci Adv**. 2017 Jul 5;3(7):e1700220. doi:10.1126/sciadv.1700220. eCollection 2017 Jul.

MIURA, Y.; DEVAUX, J. J.; FUKAMI, Y.; MANSO, C.; BELGHAZI, M.; WONG, A. H.; YUKI, N.; CNTN1-CIDP STUDY GROUP. Contactin 1 IgG4 associates to chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with sensory ataxia. **Brain**, v. 138, n. 6, p. 1484-1491, Jun, 2015.

MOLENAAR, D. S.; VERMEULEN, M.; DE HAAN, R. Diagnostic value of sural nerve biopsy in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 64, n. 1, p. 84-89, Jan, 1998.

MURPHY, S. M.; LAURÁ, M.; BLAKE, J.; POLKE, J.; BREMNER, F.; REILLY, M. M. Conduction block and tonic pupils in Charcot-Marie-Tooth disease caused by a myelin protein zero p.Ile112Thr mutation. **Neuromuscul Disord**, v. 21, n. 3, p. 223-226, Mar, 2011.

MYGLAND, A.; MONSTAD, P. Chronic polyneuropathy in Vest-Agder, Norway. **Eur J Neurol**, v. 8, p. 157-165, 2001.

NAKAI, Y.; OKUMUA, A.; TAKADA, H.; NEGORO, T.; WATANABE, K.; HATTORI, N.; SOBUE, G. Inflammatory pathological changes in a 2-year-old boy with Charcot-Marie-Tooth disease. **Brain and Development**, Tóquio, v. 23, p. 258-260, 2001.

NASLAVSKY, M. S.; YAMAMOTO, G. L.; DE ALMEIDA, T. F.; EZQUINA, S. A. M.; SUNAGA, D. Y.; PHO, N.; BOZOKLIAN, D.; SANDBERG, T. O. M.; BRITO, L. A.; LAZAR, M.; BERNARDO, D. V.; AMARO, E.; DUARTE, Y. A. O.; LEBRÃO, M. L.; PASSOS-BUENO, M. R.; ZATZ, M. Exomic variants of an elderly cohort of Brazilians in the ABraOM database. **Hum Mutat**, v. 38, n. 7, p. 751-763, Jul, 2017.

NELIS, E.; TIMMERMAN, V.; DE JONGHE, P.; MUYLLE, L.; MARTIN, J. J.; VAN BROECKHOVEN, C. Linkage and mutation analysis in an extended family with Charcot-Marie-Tooth disease type 1B. **J Med Genet**, v. 31, n. 10, p. 811-815, Oct, 1994.

NELIS, E.; TIMMERMAN, V.; DE JONGHE, P.; VANDENBERGHE, A.; PHAM-DINH, D.; DAUTIGNY, A.; MARTIN, J. J.; VAN BROECKHOVEN, C. Rapid

screening of myelin genes in CMT1 patients by SSCP analysis: identification of new mutations and polymorphisms in the P0 gene. **Hum Genet**, v. 94, n. 6, p. 653-657, Dec, 1994a.

NELIS, E.; SIMOKOVIC, S.; TIMMERMAN, V.; LÖFGREN, A.; BACKHOVENS, H.; DE JONGHE, P.; MARTIN, J. J.; VAN BROECKHOVEN, C. Mutation analysis of the connexin 32 (Cx32) gene in Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 1: identification of five new mutations. **Hum Mutat**, v. 9, n. 1, p. 47-52, 1997.

NEVO, Y.; TOPALOGLU, H. 88th ENMC international workshop: childhood chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (including revised diagnostic criteria), Naarden, The Netherlands, December 8-10, 2000. **Neuromuscul Disord**, v. 12, n. 2, p. 195-200, 2002.

NICHOLSON, G.; NASH, J. Intermediate nerve conduction velocities define X-linked Charcot-Marie-Tooth neuropathy families. **Neurology**, v. 43, n. 12, p. 2558-2564, Dec, 1993.

NOBILE-ORAZIO, E.; GALLIA, F.; TERENGHI, F.; BIANCO, M. Comparing treatment options for chronic inflammatory neuropathies and choosing the right treatment plan. **Expert Rev Neurother**, v. 17, n. 8, p. 755-765, Aug, 2017.

O'CONNOR, G.; MCNAMARA, P.; BRADLEY, D.; CONNOLLY, S.; LANGAN, Y.; REDMOND, J. Late-onset CMT phenotype caused by a novel mutation in the MPZ gene. **Eur J Neurol**, v. 19, n. 7, p. e65-e66, Jul, 2012.

OUVRIER, R. A.; NICHOLSON, G. A. Advances in the genetics of hereditary hypertrophic neuropathy in childhood. **Brain Dev**, v. 17, supp. 1, p. 31-38, 1995.

PÁL, Z.; KISS, E.; GÁL, A.; CSÉPÁNY, T.; LENGYEL, A.; MOLNAR, M. J. Genetically determined neuropathy (CMT 1A) accompanied by immune dysfunction: a case report. **Inflamm Res**, v. 58, p. 359-361, 2009.

PANAS, M.; KARADIMAS, C.; AVRAMOPOULOS, D.; VASSILOPOULOS, D. Central nervous system involvement in four patients with Charcot-Marie-Tooth disease with connexin 32 extracellular mutations. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 65, n. 6, p. 947-948, Dec, 1998.

PANAS, M.; KARADIMA, G.; KALFAKIS, N.; VASSILOPOULOS, D. Hereditary neuropathy unmasked by levofloxacin. **Ann Pharmacother**, v. 45, n. 10, p. 1312-1313, Oct, 2011.

PANOSYAN, F. B.; LAURA, M.; ROSSOR, A. M.; PISCIOTTA, C.; PISCOSQUITO, G.; BURNS, J.; LI, J.; YUM, S. W.; LEWIS, R. A.; DAY, J.; HORVATH, R.; HERRMANN, D. N.; SHY, M. E.; PAREYSON, D.; REILLY, M. M.; SCHERER, S. S.; INHERITED NEUROPATHIES CONSORTIUM - RARE DISEASES CLINICAL RESEARCH NETWORK (INC-RDCRN). Cross-sectional analysis of a large cohort with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease (CMTX1). **Neurology**, v. 89, n. 9, p. 927-935, Aug, 2017.

PAREYSON, D.; MARCHESI, C. Diagnosis, natural history, and management of Charcot-Marie-Tooth disease. **Lancet Neurol**, v. 8, p. 654-667, 2009.

PAREYSON, D.; REILLY, M. M.; SCHENONE, A.; FABRIZI, G. M.; CAVALLARO, T.; SANTORO, L.; VITA, G.; QUATTRONE, A.; PADUA, L.; GEMIGNANI, F.; VISIOLI, F.; LAURÀ, M.; RADICE, D.; CALABRESE, D.; HUGHES, R. A.; SOLARI, A.; CMT-TRIAAL; CMT-TRAUK GROUPS. Ascorbic acid in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A (CMT-TRIAAL and CMT-TRAUK): a double-blind randomised trial. **Lancet Neurol**, v. 10, n. 4, p. 320-328, Apr, 2011.

PASNOOR, M.; NASCIMENTO, O. J.; TRIVEDI, J.; WOLFE, G. I.; NATIONS, S.; HERBELIN, L.; DE FREITAS, M. G.; QUINTANILHA, G.; KHAN, S.; DIMACHKIE, M.; BAROHN, R. North America and South America (NA-SA) neuropathy project. **Int J Neurosci**, v. 123, n. 8, p. 563-567, Aug, 2013.

PATZKÓ, A.; BAI, Y.; SAPORTA, M. A.; KATONA, I.; WU, X.; VIZZUSO, D.; FELTRI, M. L.; WANG, S.; DILLON, L. M.; KAMHOLZ, J.; KIRSCHNER, D.; SARKAR, F. H.; WRABETZ, L.; SHY, M. E. Curcumin derivatives promote Schwann cell differentiation and improve neuropathy in R98C CMT1B mice. **Brain**, v.135, n. 12, p. 3551-3566, Dec, 2012.

PHAM, B. N.; RUDIC, M.; BOUCCARA, D.; STERKERS, O.; BELMATOUG, N.; BÉBÉAR, J. P.; COULOIGNER, V.; FRAYSSE, B.; GENTINE, A.; IONESCU, E.; ROBIER, A.; SAUVAGE, J. P.; TRUY, E.; VAN DEN ABEELE, T.; FERRARY, E. Antibodies to myelin protein zero (P0) protein as markers of auto-immune inner ear diseases. **Autoimmunity**, v. 40, n. 3, p. 202-207, May, 2007.

QIN, W.; WUNDERLEY, L.; BARRET, A. L.; HIGH, S.; WOODMAN, P. The Charcot Marie Tooth disease protein LITAF is a zinc-binding monotopic membrane protein. **Biochemical Journal**, v. 473, p. 3965-3978, 2016.

QU, Y.; CARPENTER, N. J.; WHETSELL, L.; SMITH, S. P.; SAY, B. Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: a family study with microsatellites. **Journal of Oklahoma State Medical Association**, Oklahoma, v. 89, n. 11, p. 395-9, 1996.

RAJABALLY, Y.; VITAL, A.; FERRER, X.; VITAL, C.; JULIEN, J.; LATOUR, P.; VANDENBERGHE, A.; LAGUENY, A. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy caused by HIV infection in a patient with asymptomatic CMT 1A. **J Peripher Nerv Syst**, v. 5, n. 3, p. 158-162, Sep, 2000.

RAJABALLY, Y. A.; NICOLAS, G.; PIÉRET, F.; BOUCHE, P.; VAN DEN BERGH, P. Y. Validity of diagnostic criteria for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: a multicentre European study. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 80, n. 12, p. 1364-1368, Dec, 2009.

RAJABALLY, Y. A.; ADAMS, D.; LATOUR, P.; ATTARIAN, S. Hereditary and inflammatory neuropathies: a review of reported associations, mimics and misdiagnoses. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 87, n. 10, p. 1051-1060, Oct, 2016.

RAMCHANDREN, S. Charcot-Marie-Tooth Disease and Other Genetic Polyneuropathies. **Continuum (Minneapolis)**, v. 23, n. 5, p. 1360–1377, 2017.

REHM, H. L.; BALE, S. J.; BAYRAK-TOYDEMIR, P.; BERG, J. S.; BROWN, K. K.; DEIGNAN, J. L.; FRIEZ, M. J.; FUNKE, B. H.; HEGDE, M. R.; LYON, E.; WORKING GROUP OF THE AMERICAN COLLEGE OF MEDICAL GENETICS AND GENOMICS LABORATORY QUALITY ASSURANCE COMMITTEE. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. **Genet Med**, v. 15, n. 9, p. 733-747, Sep, 2013.

RICHARDS, S.; AZIZ, N.; BALE, S.; BICK, D.; DAS, S.; GASTIER-FOSTER, J.; GRODY, W. W.; HEGDE, M.; LYON, E.; SPECTOR, E.; VOELKERDING, K.; REHM, H. L.; ACMG LABORATORY QUALITY ASSURANCE COMMITTEE. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genet Med**, v. 17, n. 5, p. 405-424, May, 2015.

ROA, B. B.; LUPSKI, J. R. Molecular basis of Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: gene dosage as a novel mechanism for a common autosomal dominant condition. **Am J Med Sci**, v. 306, n. 3, p. 177-184, Sep, 1993.

ROA, B. B.; WARNER, L. E.; GARCIA, C. A.; RUSSO, D.; LOVELACE, R.; CHANCE, P. F.; LUPSKI, J. R. Myelin protein zero (MPZ) gene mutations in nonduplication type 1 Charcot-Marie-Tooth disease. **Hum Mutat**, v. 7, n. 1, p. 36-45, 1996.

ROGGENBUCK, J. J.; BOUCRAUT, J.; DELMONT, E.; CONRAD, K.; ROGGENBUCK, D. Diagnostic insights into chronic-inflammatory demyelinating polyneuropathies. **Ann Transl Med**, v. 6, n. 17, p. 337, Sep, 2018.

ROSSIGNOL, E.; D'ANJOU, G.; LAPOINTE, N.; HADDAD, E.; VANASSE, M. Evolution and treatment of childhood chronic inflammatory polyneuropathy. **Pediatr Neurol**, v. 36, n. 2, p. 88-94, 2007.

RYAN, M. M.; JONES, H. R. CMTX mimicking childhood chronic inflammatory demyelinating neuropathy with tremor. **Muscle and Nerve**, v. 31, n. 4, p. 528-530, Apr, 2005.

SAHENK Z, NAGARAJA HN, MCCRACKEN BS, KING WM, FREIMER ML, CEDARBAUM JM, MENDELL JR. NT-3 promotes nerve regeneration and sensory improvement in CMT1A mouse models and in patients. **Neurology**, v. 65, n. 5, p. 681-689, Sep, 2005.

SAIFI, G. M.; SZIGETI, K.; WISZNIEWSKI, W.; SHY, M. E.; KRAJEWSKI, K.; HAUSMANOWA-PETRUSEWICZ, I.; KOCHANSKI, A.; REESER, S.; MANCIAS, P.; BUTLER, I.; LUPSKI, J. R. SIMPLE mutations in Charcot-Marie-Tooth disease and the potential role of its protein product in protein degradation. **Hum Mutat**, v. 25, n. 4, p. 372-383, Apr, 2005.

SANMANEECHAI, O.; FEELY, S.; SCHERER, S. S.; HERRMANN, D. N.; BURNS, J.; MUNTONI, F.; LI, J.; SISKIND, C. E.; DAY, J. W.; LAURA, M.; SUMNER, C. J.; LLOYD, T. E.; RAMCHANDREN, S.; SHY, R. R.; GRIDER, T.; BACON, C.; FINKEL, R. S.; YUM, S. W.; MORONI, I.; PISCOSQUITO, G.; PAREYSON, D.; REILLY, M. M.; SHY, M. E.; INHERITED NEUROPATHIES CONSORTIUM - RARE DISEASE CLINICAL RESEARCH CONSORTIUM (INC-RDCRC). Genotype-phenotype characteristics and baseline natural history of heritable neuropathies caused by mutations in the MPZ gene. **Brain**, v. 138, n. 11, p. 3180-3192, Nov, 2015.

SAN-JUAN, O. D.; CASTRO-MACÍAS, J. I. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. 10 years' experience in a Mexican centre. **Rev Neurol**, v. 46, n. 11, p. 656-659, Jun, 2008.

SCELSA, S. N. Familial, demyelinating sensory and motor polyneuropathy with conduction block. **Muscle and Nerve**, v. 41, n. 4, p. 558-562, Apr, 2010.

SCHERER, S. S.; KLEOPA, K. A. X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. **J Peripher Nerv Syst**, v. 17, suppl 3, p. 9-13, Dec, 2012.

SCHMID, C. D.; STIENEKEMEIER, M.; OEHEN, S.; BOOTZ, F.; ZIELASEK, J.; GOLD, R.; TOYKA, K. V.; SCHACHNER, M.; MARTINI, R. Immune deficiency in mouse models for inherited peripheral neuropathies leads to improved myelin maintenance. **J Neurosci**, v. 20, n. 2, p. 729-735, Jan, 2000.

SCHNEIDER-GOLD, C.; KÖTTING, J.; EPPLER, J. T.; GOLD, R.; GERDING, W. M. Unusual Charcot-Marie-Tooth phenotype due to a mutation within the intracellular domain of myelin protein zero. **Muscle and Nerve**, v. 41, n. 4, p. 550-554, Apr, 2010.

SCHWARZ, J. M.; RÖDELSPERGER, C.; SCHUELKE, M.; SEELOW, D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. **Nat Methods**, v. 7, n. 8, p. 575-576, Aug, 2010.

SEEMAN, P.; MALÍKOVÁ, M.; RASKOVÁ, D.; BENDO VÁ, O.; GROH, D.; KUBÁLKOVÁ, M.; SAKMARYOVÁ, I.; SEEMANOVÁ, E.; KABELKA, Z. Spectrum and frequencies of mutations in the GJB2 (Cx26) gene among 156 Czech patients with pre-lingual deafness. **Clin Genet**, v. 66, n. 2, p. 152-157, Aug, 2004.

SHABO, G.; PASMÁN, J. W.; VAN ALFEN, N.; WILLEMSSEN, M. A. The spectrum of polyneuropathies in childhood detected with electromyography. **Pediatr Neurol**, v. 36, n. 6, p. 393-396, 2007.

SHIMIZU, K.; HANAJIMA, R.; SHIMIZU, T.; USUI, R.; YANAGIDA, A.; AKUTSU, T.; IIZUKA, T.; NISHIYAMA, K. Coexistence of Charcot-Marie-Tooth disease type 1A and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy with conduction blocks. **Neurology and Clinical Neuroscience**, v. 4, p. 192-194, 2016.

SHY, M. E.; ARROYO, E.; SLADKY, J.; et al.. Heterozygous P0 knockout mice develop a peripheral neuropathy that resembles chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). **J Neuropathol Exp Neurol**, v. 56. P. 811-821, p. 1997.

SHY, M. E.; JÁNI, A.; KRAJEWSKI, K.; GRANDIS, M.; LEWIS, R. A.; LI, J.; SHY, R. R.; BALSAMO, J.; LILIEN, J.; GARBERN, J. Y.; KAMHOLZ, J. Phenotypic clustering in MPZ mutations. **Brain**, v. 127, n. 2, p. 371-384, Feb, 2004.

SHY, M. E. Peripheral neuropathies caused by mutations in the myelin protein zero. **J Neurol Sci**, v. 242, n. 1-2, p. 55-66, Mar, 2006.

SILVA, A. E. Avaliação genotípica de pacientes com polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica: estudo da duplicação/deleção do gene PMP22. 2014. 105p. Dissertação (Mestrado em Neurologia) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

SILWAL, A.; PITT, M.; PHADKE, R.; MANKAD, K.; DAVISON, J. E.; ROSSOR, A.; DEVILE, C.; REILLY, M. M.; MANZUR, A. Y.; MUNTONI, F.; MUNOT, P. Clinical spectrum, treatment and outcome of children with suspected diagnosis of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. **Neuromuscul Disord**, v. 28, n. 9, p. 757-765, 2018.

SIMPSON, J. A. Peripheral Neuropathy. **Proc. Roy. Soc. Med**, v. 64, p. 291-293, 1971.

SIMPSON, B. S.; RAJABALLY, Y. A. Charcot-Marie-Tooth disease due to novel myelin protein zero mutation presenting as late-onset remitting sensory neuropathy. **J Clin Neuromuscul Dis**, v. 11, p. 187-190, 2010.

SINKIEWICZ-DAROL, E.; LACERDA, A. F.; KOSTERA-PRUSZCZYK, A.; POTULSKA-CHROMIK, A.; SOKOŁOWSKA, B.; KABZIŃSKA, D.; BRUNETTI, C. R.; HAUSMANOWA-PETRUSEWICZ, I.; KOCHAŃSKI, A. The LITAF/SIMPLE I92V sequence variant results in an earlier age of onset of CMT1A/HNPP diseases. **Neurogenetics**, v. 16, n. 1, p. 27-32, 2015.

SKRE, H. Genetic and clinical aspects of Charcot-Marie-Tooth's disease. **Clin Genet**, v. 6, n. 2, p. 98-118, 1974.

SLATER, H.; BRUNO, D.; REN, H.; LA, P.; BURGESS, T.; HILLS, L.; NOURI, S.; SCHOUTEN, J.; CHOO, K.H. Improved testing for CMT1A and HNPP using multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA) with rapid DNA preparations: comparison with the interphase FISH method. **Human Mutation**, Nova Iorque, v. 24, n. 2, p. 164-171, 2004.

SOMMER, C.; GEBER, C.; YOUNG, P.; FORST, R.; BIRKLEIN, F.; SCHOSER, B. Polyneuropathies. **Dtsch Arztebl Int**, v. 115, n. 6, p. 83-90, Feb, 2018.

SOUAYAH, N.; TICK CHONG, P. S. Asymmetric phenotype associated with rare myelin protein zero mutation. **J Clin Neuromuscul Dis**, v. 11, n. 3, p. 110-113, Mar, 2010.

STREET, V. A.; MEEKINS, G.; LIPE, H. P.; SELTZER, W. K.; CARTER, G. T.; KRAFT, G. H.; BIRD, T. D. Charcot-Marie-Tooth neuropathy: clinical phenotypes of four novel mutations in the MPZ and Cx 32 genes. **Neuromuscul Disord**, v. 12, n. 7-8, p. 643-650, Oct, 2002.

STREET, V. A.; BENNETT, C. L.; GOLDY, J. D.; SHIRK, A. J.; KLEOPA, K. A.; TEMPEL, B. L.; LIPE, H. P.; SCHERER, S. S.; BIRD, T. D.; CHANCE, P. F. Mutation of a putative protein degradation gene LITAF/SIMPLE in Charcot-Marie-Tooth disease 1C. **Neurology**, v. 60, n. 1, p. 22-26, Jan, 2003.

SU, Y.; BROOKS, D. G.; LI, L.; LEPERCQ, J.; TROFATTER, J. A.; RAVETCH, J. V.; LEBO, R. V. Myelin protein zero gene mutated in Charcot-Marie-tooth type 1B patients. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 90, n. 22, p. 10856-10860, Nov, 1993.

SZABO, A.; ZÜCHNER, S.; SISKI, E.; MECHLER, F.; MOLNAR, M. J. Marked phenotypic variation in a family with a new myelin protein zero mutation. **Neuromuscul Disord**, v. 15, n. 11, p. 760-763, Nov, 2005.

TAKASHIMA, H.; BOERKOEL, C. F.; LUPSKI, J. R. Screening for mutations in a genetically heterogeneous disorder: DHPLC versus DNA sequence for mutation detection in multiple genes causing Charcot-Marie-Tooth neuropathy. **Genet Med**, v. 3, n. 5, p. 335-342, Sep-Oct, 2001.

THOMAS, P. K. Peripheral Neuropathy. **British Med J**, v. 1, p. 349-351, 1970.

THOMAS, P. K.; CALNE, D. B. Motor nerve conduction velocity in peroneal muscular atrophy: evidence for genetic heterogeneity. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 37, n. 1, p. 68-75, Jan, 1974.

THOMAS, P.K.; MARQUES JUNIOR, W., DAVIS, M.B.; SWEENEY, M.G.; KING, R.H.M.; BRADLEY, J.L.; MUDDLE, J.R.; TYSON, J.; MALCOLM, S.; HARDING, A.E. The phenotypic manifestations of chromosome 17p11.2 duplication. **Brain**, Oxford, v. 120, p. 465-478, 1997.

TIMMERMAN, V.; STRICKLAND, A. V.; ZÜCHNER, S. Genetics of Charcot-Marie-Tooth (CMT) Disease within the Frame of the Human Genome Project Success. **Genes (Basel)**, v. 5, n. 1, p. 13-32, Jan, 2014.

TOMASELLI, P. J.; ROSSOR, A. M.; HORGA, A.; JAUNMUKTANE, Z.; CARR, A.; SAVERI, P.; PISCOSQUITO, G.; PAREYSON, D.; LAURA, M.; BLAKE, J. C.; POH, R.; POLKE, J.; HOULDEN, H.; REILLY, M. M. Mutations in noncoding regions of GJB1 are a major cause of X-linked CMT. **Neurology**, v. 88, n. 15, p. 1445-1453, Apr, 2017.

TRIVEDI, S.; PANDIT, A.; GANGULY, G.; DAS, S. K. Epidemiology of Peripheral Neuropathy: An Indian Perspective. **Ann India Acad Neurol**, v. 20, n. 3, p. 173-184, 2017.

TSAI, P. C.; YANG, D. M.; LIAO, Y. C.; CHIU, T. Y.; KUO, H. C.; SU, Y. P.; GUO, Y. C.; SOONG, B. W.; LIN, K. P.; LIU, Y. T.; LEE, Y. C. Clinical and biophysical characterization of 19 GJB1 mutations. **Ann Clin Transl Neurol**, v. 3, n. 11, p. 854-865, Sep, 2016.

TAZIR, M.; HAMADOUCHE, T.; NOUIOUA, S.; MATHIS, S.; VALLAT, J. M. Hereditary motor and sensory neuropathies or Charcot-Marie-Tooth diseases: an update. **J Neurol Sci**, v. 347, n 1-2, p. 14-22, Dec, 2014.

URSINO, G.; ALBERTI, M. A.; GRANDIS, M.; RENI, L.; PAREYSON, D.; BELLONE, E.; GEMELLI, C.; SABATELLI, M.; PISCIOTTA, C.; LUIGETTI, M.; SANTORO, L.; MASSOLLO, L.; SCHENONE, A. Influence of comorbidities on the phenotype of patients affected by Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 1A. **Neuromuscul Disord**, v. 23, n. 11, p. 902-906, Nov, 2013.

VAETH, S.; VAETH, M.; ANDERSEN, H.; CHRISTENSEN, R.; JENSEN, U. B. Charcot-Marie-Tooth disease in Denmark: a nationwide register-based study of mortality, prevalence and incidence. **BMJ Open** . 2017 Nov 3;7(11):e018048. doi: 10.1136/bmjopen-2017-018048.

VALLAT, J. M.; MATHIS, S.; FUNALOT, B. The various Charcot-Marie-Tooth diseases. **Curr Opin Neurol**, v. 26, n. 5, p. 473-480, Oct, 2013.

VALLAT, J. M.; SOMMER, C.; MAGY, L. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: diagnostic and therapeutic challenges for a treatable condition. **Lancet Neurol**, v. 9, p. 402–412, 2010.

VAN DEN BERGH, P. Y.; HADDEN, R. D.; BOUCHE, P.; CORNBLATH, D. R.; HAHN, A.; ILLA, I.; KOSKI, C. L.; LÉGER, J. M.; NOBILE-ORAZIO, E.; POLLARD, J.; SOMMER, C.; VAN DOORN, P. A.; VAN SCHAIK, I. N.; EUROPEAN FEDERATION OF NEUROLOGICAL SOCIETIES; PERIPHERAL NERVE SOCIETY. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society — First Revision. **European Journal of Neurology**, v. 17, p. 356–363, 2010.

VITAL, A.; VITAL, C.; JULIEN, J.; FONTAN, D. Occurrence of active demyelinating lesions in children with hereditary motor and sensory neuropathy (HMSN) type I. **Acta Neuropathol**, v. 84, n. 4, p. 433-436, 1992.

VITAL, A.; VITAL, C.; LAGUENY, A.; FERRER, X.; RIBIÈRE-BACHELIER, C.; LATOUR, P.; PETRY, K. G. Inflammatory demyelination in a patient with CMT1A. **Muscle and Nerve**, v. 28, n. 3, p. 373-376, Sep, 2003.

WANG, Y.; YIN, F. A Review of X-linked Charcot-Marie-Tooth Disease. **J Child Neurol**, v. 31, n. 6, p. 761-772, May, 2016.

WARE, T. L.; KORNBERG, A. J.; RODRIGUEZ-CASERO, M. V.; RYAN, M. M. Childhood chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: an overview of 10 cases in the modern era. **J Child Neurol**, v. 29, n. 1, p. 43-48, Jan, 2014.

WARNER, L. E.; HILZ, M. J.; APPEL, S. H.; KILLIAN, J. M.; KOLODRY, E. H.; KARPATI, G.; CARPENTER, S.; WATTERS, G. V.; WHEELER, C.; WITT, D.; BODELL, A.; NELIS, E.; VAN BROECKHOVEN, C.; LUPSKI, J. R. Clinical

phenotypes of different MPZ (P0) mutations may include Charcot-Marie-Tooth type 1B, Dejerine-Sottas, and congenital hypomyelination. **Neuron**, v. 17, n. 3, p. 451-460, Sep, 1996.

WATANABE, M.; YAMAMOTO, N.; OHKOSHI, N.; NAGATA, H.; KOHNO, Y.; HAYASHI, A.; TAMAOKA, A.; SHOJI, S. Corticosteroid- responsive asymmetric neuropathy with a myelin protein zero gene mutation. **Neurology**, v. 59, n. 5, p. 767-769, Sep, 2002.

WEISHAAPT, J. H.; GANSER, C.; BÄHR, M. Inflammatory demyelinating CNS disorder in a case of X-linked Charcot-Marie-Tooth disease: positive response to natalizumab. **J Neurol**, v. 259, n. 9, p. 1967-1969, Sep, 2012.

WILDEMAN, M. et al. Improving Sequence Variant Descriptions in Mutation Databases and Literature Using the Mutalyzer Sequence Variation Nomenclature Checker. **Human Mutation**, v. 29, p. 6–13, 2008.

WILMSHURST, J. M.; POLLARD, J. D.; NICHOLSON, G.; ANTONY, J.; OUVRIER, R. Peripheral neuropathies of infancy. **Dev Med Child Neurol**, v.45, n. 6, p. 408-414, 2003.

WISE, C. A.; GARCIA, C. A.; DAVIS, S. N.; HEJU, Z.; PENTAO, L.; PATEL, P. I.; LUPSKI, J. R. Molecular analyses of unrelated Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease patients suggest a high frequency of the CMT1A duplication. **Am J Hum Genet**, v. 53, n. 4, p. 853-863, Oct, 1993.

YATES, A. et al. Ensembl 2016. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. D1, p. 710–716, 2016.

YOSHIHARA, T.; YAMAMOTO, M.; DOYU, M.; MIS, K. I.; HATTORI, N.; HASEGAWA, Y.; MOKUNO, K.; MITSUMA, T.; SOBUE, G. Mutations in the peripheral myelin protein zero and connexin32 genes detected by non-isotopic RNase cleavage assay and their phenotypes in Japanese patients with Charcot-Marie-Tooth disease. **Hum Mutat**, v. 16, n. 2, p. 177-178, Aug, 2000.

YOSHIMURA, A.; YUAN, J. H.; HASHIGUCHI, A.; ANDO, M.; HIGUCHI, Y.; NAKAMURA, T.; OKAMOTO, Y.; NAKAGAWA, M.; TAKASHIMA, H. Genetic profile and onset features of 1005 patients with Charcot-Marie-Tooth disease in Japan. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**. 2018 Sep 26. pii: jnnp-2018-318839. doi: 10.1136/jnnp-2018-318839. [Epub ahead of print]

ZHAO, H. T.; DAMLE, S.; IKEDA-LEE, K.; KUNTZ, S.; LI, J.; MOHAN, A.; KIM, A.; HUNG, G.; SCHEIDELER, M. A.; SCHERER, S. S.; SVAREN, J.; SWAYZE, E. E.; KORDASIEWICZ, H. B. PMP22 antisense oligonucleotides reverse Charcot-Marie-Tooth disease type 1A features in rodent models. **J Clin Invest**, v. 128, n. 1, p. 359-368, Jan, 2018.

ANEXO A

PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS A SER RETIRADO DO PRONTUÁRIO DO PACIENTE

“INVESTIGAÇÃO DE MUTAÇÕES E POLIMORFISMOS NOS GENES PMP22, MPZ, CONEXINA-32, EGR2 E LITAF EM PACIENTES COM O DIAGNÓSTICO DE NEUROPATIA INFLAMATÓRIA DESMIELINIZANTE CRÔNICA.”

Aluno: Alex Eduardo da Silva

Orientador e mentor do projeto: Prof. Dr. Wilson Marques Junior

1. IDENTIFICAÇÃO

Paciente: _____

Registro hospitalar: _____

Contato: _____

Data da avaliação: ___/___/___ Idade: _____ Data nascimento: ___/___/___

Cor da pele: (1)Branco (2)Negro (3)Pardo (4)Amarelo

Gênero: (1) masculino (2) feminino Estado civil: (1)solteiro (2)casado
(3)separado

Escolaridade: (1)analfabeto (2) 1º grau incompleto (3)1º grau completo
(4)2º grau incompleto (5)2º grau completo (6)3º grau

2. DADOS CLÍNICOS

Idade de início dos sintomas:

Primeira manifestação:.....

Evento antecedente:.....

Tinha alguma limitação prévia ao quadro atual?.....

.....

Tinha conhecimento de ter neuropatia?

Se sim, houve piora rápida? (1) sim (2) não

História familiar de neuropatia periférica? (1)sim (2)não(espórádico)
(3)desconhece

Se a resposta é sim, a herança é (1) AD (2) AR (3) Ligada X (4) mitocondrial

Duração dos sintomas até piora máxima: (1)< 4 semanas (2) 4 a 8 semanas (3)> 8 semanas

Progressão sintomas: (1)progressivo (2)flutuante (3)remitente (4) episódio único

MANIFESTAÇÕES MOTORAS:

a) segmentos comprometidos: (1)MMSS proximal (2) MMSS distal
(3)MMII proximal (4) MMII distal (3)
ausentes

b) quanto à simetria: (1) simétrica (2) assimétrica (3) focal (4)
ausentes

c) sintomas motores_nervos cranianos: (1)acometidos (2)não acometidos

Descrever o acometimento:

.....

d) Atrofia muscular: (1)presente (2)ausentes

Topografia:.....

.....

MANIFESTAÇÕES SENSITIVAS

a) sintomas sensitivas: (1)presentes (2)ausentes

b) distribuição: (1)bota (2)luva (3)bota e luva (4) ausentes

c) quanto à simetria: (1)simétrica (2)assimétrica (4)ausentes

d) dor: (1) presente (2) ausente. Caracterizar quanto à topografia e características

.....

.....

e) parestesias: (1) presente (2) ausente. Caracterizar quanto à topografia e características

.....

f) disestesias: (1) presente (2) ausente. Caracterizar quanto à topografia e características

.....

g) alodinia: (1) presente (2) ausente. Caracterizar quanto à topografia e características

.....

h) perda da sensibilidade à dor: (1) presente (2) ausente. Caracterizar quanto à topografia

.....

h) perda da sensibilidade tátil (1) presente (2) ausente. Caracterizar quanto à topografia.....

.....

h) perda da sensibilidade vibratória (1) presente (2) ausente. Caracterizar quanto à topografia.....

.....

h) perda da sensibilidade cinético-postural (1) presente (2) ausente. Caracterizar quanto à topografia.....

.....

REFLEXOS PROFUNDOS:

bicipital (1)normais (2)hiporreflexia (3)abolidos

tricipital (1)normais (2)hiporreflexia (3)abolidos

estiloradial (1)normais (2)hiporreflexia (3)abolidos

patelar (1)normais (2)hiporreflexia (3)abolidos

aquileo (1)normais (2)hiporreflexia (3)abolidos

MANIFESTAÇÕES OSTEO-ARTICULARES QUANDO DO INICIO DA DOENÇA

a) Dedos em martelo: (1) presente (2) ausente

b) Pés cavos: (1) presentes (2) ausente

c) Mão em garra: (1) presentes (2) ausente

d) escoliose/cifo-escoliose: (1) presente (2) ausente

OUTROS DADOS

a) Hipertrofia neural: (1) presentes (2) ausente

3. EXAMES COMPLEMENTARES

Liquor: células:_____ proteínas:_____

Estudo da condução:

- desmielinizante: uniforme não uniforme
 (< 35 m/s) Bloqueio de condução em nervos
 Dispersão temporal em nervos
 intermediário uniforme não uniforme
 (entre 35 a 45 m/s) Bloqueio de condução em nervos
 Dispersão temporal em nervos
 axonal
 Critério NF de PIDC: sim não

Biópsia de nervo:

- Infiltrado inflamatório: (1)ausente (2)leve (3)moderado (4)intenso
 Células inflamatórias: (1) ausentes (2) macrófagos (3) linfócitos (4)Linf+Macrof
 Mielina: (1)normal (2)desmielinização (3)bulbos de cebola
 Edema endoneural/subneural: (1)presente (2)ausente
 Degeneração axonal: (1)presente (2)ausente

4. DOENÇAS ASSOCIADAS

- (1)Diabetes mellitus
 (2)Gamopatia monoclonal IgG ou IgA de significado indeterminado
 (3)Gamopatia monoclonal IgM sem anticorpos contra a glicoproteína associada a mielina
 (4)HIV
 (5)Hepatite crônica ativa
 (6)Lupus eritematoso sistêmico ou outra doença do tecido conectivo
 (7)sarcoidose
 (8)tireoidopatia
 (9)doença intestinal inflamatória
 (10)Glomerulopatia membranosa
 (11)transplante de medula óssea ou órgão sólido
 (12)nenhuma

5. DIAGNÓSTICO SINDROMICO E TOPOGRÁFICO FINAL:

5.1. (1) polineuropatia (2) mononeuropatia múltipla (3) poliorradiculoneuropatia

5.2. (1) desmielinizante (1.a) *uniforme* (1.b) *não uniforme* (2) axonal (3) intermediária

6. CRITÉRIOS QUE SUGEREM COEXISTÊNCIA ENTRE PIDC E CMT:

- a) Progressão rápida dos sintomas () (1- sim; 2- não)
 - b) Manifestações assimétricas ()
 - c) Condução nervosa não-uniforme ()
 - d) Infiltrado inflamatório na biópsia de nervo ()
 - e) Sintomas sensitivos positivos ()
 - f) Resposta positiva ao tratamento ()
 - g) Fraqueza não-dependente de comprimento de fibras ()
- (a-f: Ginsberg et al, 2004; g: Marques et al, 2010)

7. TRATAMENTO

Tratamento: (1)pulso corticóide endovenoso (2)imunoglobulina
(3)plasmaférese

(4)imunossupressores (5)combinada (6)nenhum

Evolução sintomas: (1)melhora (2)piora (3)estabilizado

5. ANÁLISE MOLECULAR

17p11.2: (1)duplicação (2) deleção (3)normal

PMP22_mutação de ponto: (1)ausente (2)presente:_____

P0_mutação: (1)ausente (2)presente:_____

Conexina 32_mutação: (1)ausente (2)presente:_____

LITAF_mutação: (1)ausente (2)presente:_____

ANEXO B

Termo de Consentimento Livre e Informado

O aluno de pós-graduação, o médico neurologista Alex Eduardo da Silva, convida o (a) o Sr (a): _____, RG: _____, nascido em ___/___/___ e domiciliado à _____, município de _____ a participar como voluntário do Projeto “**Investigação de mutações e polimorfismos nos genes PMP22, MPZ, Conexina-32, EGR2 e LITAF em pacientes com o diagnóstico de neuropatia inflamatória desmielinizante crônica.**”, sob orientação do Prof. Dr. Wilson Marques Junior.

Informações ao participante da pesquisa:

- 1) A doença pela qual o Sr (Sra.) está sendo (ou foi) tratado (a), chama-se polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica (PIDC). É uma doença que causa inflamação nos nervos, que então param de funcionar, causando fraqueza muscular e alteração da sensibilidade.
- 2) Esta doença é tratada com medicamentos que controlam o sistema imunológico da pessoa, tentando fazer com que ele pare de atacar os nervos acometidos.
- 3) Algumas vezes outras doenças, tais como o diabetes mellitus e doenças da tireoide, facilitam o aparecimento da PIDC. Recentemente, foi demonstrado que neuropatias hereditárias também podem estar associadas, quer facilitando o desenvolvimento da PIDC, quer sendo confundida com PIDC.
- 4) Neuropatias hereditárias são aquelas que existem dentro de uma mesma família, passando dos pais para os filhos. No entanto, algumas pessoas com neuropatia hereditária podem ser clinicamente normais ou podem ter uma neuropatia muito leve, que não as prejudica e, portanto, não são diagnosticadas.
- 5) As neuropatias hereditárias têm um tratamento diferente da PIDC e, portanto, devem ser identificadas e tratadas corretamente.
- 6) O objetivo deste estudo é pesquisar defeitos genéticos (hereditários) que porventura estejam causando sua neuropatia ou facilitando o seu aparecimento. Isto tem importância prática pois pode mudar o tipo de tratamento a que está sendo submetido.
- 7) A sua participação neste estudo é voluntária e isenta de qualquer gasto adicional de sua parte. A continuidade de seu tratamento no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do HC-FMRP também não será de maneira alguma afetada ou condicionada pela sua decisão. Serão mantidas suas consultas regulares no ambulatório, independentemente de sua participação neste estudo.
- 8) Caso aceite participar deste estudo, solicitaremos apenas a permissão para coleta de esfregaço de sua mucosa oral (bochecha) para extração de DNA para identificar a neuropatia hereditária. Coletaremos também dados clínicos de seu

prontuário. Todos os seus dados pessoais serão mantidos em sigilo e em nenhum momento você será identificado.

- 9) Não há nenhum gasto relacionado em sua participação neste estudo e não está presente nenhum risco. Em relação aos benefícios, além do tratamento mais adequado de sua doença, já mencionado acima, as informações obtidas poderão ser importantes para o tratamento de outras pessoas, inclusive de sua própria família. Caso aceite participar deste estudo, você terá liberdade para deixá-lo a qualquer momento, sem nenhum prejuízo em relação ao seu seguimento. Neste hospital.
- 10) Os resultados deste estudo poderão ser compartilhados com a comunidade científica através de defesa de tese e publicação em revistas científicas.

Quaisquer informações adicionais, dúvidas ou problemas que porventura surjam poderão ser discutidas com os responsáveis por este estudo: Dr. Alex e Prof. Dr. Wilson Marques Jr, que podem ser encontrados nos telefones (16) 36022391 ou (16) 36022616 ou no Setor de Neurofisiologia Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

Dr. Alex Eduardo da Silva.....

Prof. Dr. Wilson Marques Jr.....

Li as informações acima e entendi o propósito deste estudo, assim como os benefícios e os riscos de participar dele. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, através deste termo, dou livremente meu consentimento para participar deste estudo.

_____ / / _____
Assinatura do participante ou do responsável legal Data

ANEXO C



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.usp.br



Ribeirão Preto, 11 de fevereiro de 2011

Ofício nº 493/2011
CEP/MGV

Prezados Senhores,

O trabalho intitulado **“INVESTIGAÇÃO DE MUTAÇÕES E POLIMORFISMOS NOS GENES PMP22, MPZ, CONEXINA-32, LITAF E EGR2 EM PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE NEUROPATIA INFLAMATÓRIA DESMIELINIZANTE CRÔNICA”** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 317ª Reunião Ordinária realizada em 07/02/2011 e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 14568/2010.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores

ALEX EDUARDO DA SILVA

PROF. DR. WILSON MARQUES JUNIOR (Orientador)

Depto. de Neurociências e Ciências do Comportamento

Comitê de Ética em Pesquisa HCRP e FMRP-USP - Campus Universitário
FWA - 0000 2733; IRB - 0000 2186 e Registro SISNEP/CONEP nº 4
Fone (16) 3602-2228 - E-mail : cep@hcrp.usp.br
Monte Alegre 14048-900 Ribeirão Preto SP