FRANCISCO PEREIRA DA SILVA JUNIOR

Caracterização clínica e genética de pacientes com distonia de etiologia desconhecida, isolada ou combinada

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

Área de concentração: Neurologia
Orientador: Prof. Dr. Egberto Reis Barbosa

São Paulo

2021

FRANCISCO PEREIRA DA SILVA JUNIOR

**Caracterização clínica e genética de pacientes com distonia de etiologia
desconhecida, isolada ou combinada**

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

Área de concentração: Neurologia

Orientador: Prof. Dr. Egberto Reis Barbosa

São Paulo

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Silva Junior, Francisco Pereira da
Caracterização clínica e genética de pacientes com
distonia de etiologia desconhecida, isolada ou
combinada / Francisco Pereira da Silva Junior. --
São Paulo, 2021.
Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Neurologia.
Orientador: Egberto Reis Barbosa.

Descritores: 1.Distonia 2.Sinais e sintomas
3.Dor 4.Genética 5.Variação genética
6.Sequenciamento de nucleotídeos em larga escala

USP/FM/DBD-010/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Dedicatória

À minha mãe, Dona Luzia, que tornou possível as conquistas que obtive.

Agradecimentos

Agradecimentos

À minha família, pelo apoio e incentivo.

A Andrea Ortoleva, pelo companheirismo e pela ajuda com a tese.

Ao Dr. Egberto Reis Barbosa, pelo exemplo como profissional.

À Dra. Patrícia Maria de Carvalho Aguiar e à Dra. Camila Oliveira dos Santos Alves, pela idealização do projeto da Rede Brasileira para o Estudo das Distonias, pela execução dos testes moleculares e pela disponibilidade de sempre.

A todos os colaboradores que tornaram possível os resultados obtidos pela Rede Brasileira para o Estudo das Distonias.

Aos colegas da pós-graduação, pelo compartilhamento de informações.

A todos os professores que tive ao longo da minha formação.

Aos pacientes, por aceitarem participar desse projeto.

Epígrafe

“Essa condição pertence a um dos grupos previamente conhecidos? Eu já apontei critérios que levantam suspeita de histeria, e eu não excludo que haja casos selecionados de escoliose histérica entre as histórias dos casos disponíveis. É, contudo, óbvio que a condição não tem nada a ver com histeria. Nós estamos lidando com uma condição crônico-progressiva que começa leve e assume um curso insidiosamente progressivo. Nós temos, de fato, uma sintomatologia impressionante com aparências estereotipadas que são independentes de fatores emocionais e que não são sujeitas à influência de sugestão ou são apenas na extensão que nós observamos com muitas doenças orgânicas ... eu, portanto, acredito que a condição com a qual estamos lidando hoje não é uma neurose, mas, ao invés disso, se origina de alterações sutis no sistema nervoso central, em especial de áreas que controlam ou influenciam o tônus muscular, e que será possível, cedo ou tarde, descobrir a causa patológico-anatômica.”

Hermann Oppenheim, 1911

Normalização

Normalização

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journal Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Sumário

Lista de Tabelas

Lista de Figuras

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Símbolos

Resumo

Abstract

1. Introdução	1
1.1 História e evolução do conceito de distonia	1
1.2 Fenomenologia e classificação de distonia – o consenso de 2013.....	7
1.2.1 Características clínicas	8
1.2.2 Etiologia	9
1.3 Genética das distonias	10
1.3.1 Distonia DYT1	10
1.3.2 Distonia DYT2.....	10
1.3.3 Distonia DYT3.....	11
1.3.4 Distonia DYT4.....	11
1.3.5 Distonia DYT5.....	12
1.3.6 Distonia DYT6.....	13
1.3.7 Distonia DYT7.....	13
1.3.8 Distonias paroxísticas	13
1.3.9 Distonia DYT11	14
1.3.10 Distonia DYT12.....	15
1.3.11 Distonia DYT13.....	15
1.3.12 Distonia DYT15.....	16
1.3.13 Distonia DYT16.....	16
1.3.14 Distonia DYT17	16
1.3.15 Distonia DYT21	17
1.3.16 Distonia DYT22.....	17
1.3.17 Distonia DYT23.....	17
1.3.18 Distonia DYT24.....	17
1.3.19 Distonia DYT25.....	18
1.3.20 Distonia DYT26.....	18

1.3.21 Distonia DYT27	19
1.4 A nova nomenclatura para distúrbios do movimento genéticos	19
1.5 As distonias complexas.....	21
1.6 Sequenciamento de nova geração.....	21
1.7 Fisiopatologia	23
1.8 Epidemiologia e relevância clínica	25
2. Objetivos	28
3. Métodos.....	30
3.1 Rede Brasileira para o Estudo das Distonias	30
3.1.1 Critérios de inclusão e exclusão	30
3.1.2 Recrutamento dos pacientes	31
3.1.3 Avaliação clínica	31
3.1.4 Análise genética.....	32
3.2 Dados utilizados no presente estudo	34
3.3. Análise estatística	34
3.4 Aspectos éticos	34
4. Resultados	36
4.1 Características clínicas	36
4.1.1 Idade de início	36
4.1.2 Distribuição corpórea	37
4.1.3 Padrão temporal	39
4.1.4 Manifestações motoras associadas à distonia.....	39
4.1.5 Outras manifestações neurológicas ou sistêmicas	40
4.2 Achados genéticos.....	42
4.2.1 DYT-TOR1A	44
4.2.2 DYT-TUBB4A	45
4.2.3 DYT-GCH1	45
4.2.4 DYT-THAP1.....	46
4.2.5 DYT-SGCE	47
4.2.6 DYT-PRKRA	47

Sumário

4.2.7 Outras variantes.....	48
5. Discussão.....	50
6. Conclusão	60
Anexo 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	62
Anexo 2 - Avaliação epidemiológica de pacientes/familiares e voluntários não relacionados.....	69
Anexo 3 - Heredograma	74
Anexo 4 - Sintomas motores	75
Anexo 5 - Sintomas não motores	79
Anexo 6 - The Fahn-Marsden Score	82
Referências Bibliográficas	85

Listas

Lista de Tabelas

Tabela 1: Comparação entre os esquemas classificatórios para distonia de 1974, 1988/1998 e 2013.....	8
Tabela 2: Regiões corpóreas acometidas por distonia em 87 pacientes. Pacientes com distonia generalizada apresentavam acometimento do tronco e de ao menos duas outras regiões.....	38
Tabela 3: Manifestações motoras associadas à distonia em 87 pacientes.....	39
Tabela 4: Sintomas não motores em 87 pacientes com distonia.....	42
Tabela 5: Variantes nos genes <i>TOR1A</i> , <i>TUBB4A</i> , <i>GCH1</i> , <i>THAP1</i> , <i>SGCE</i> e <i>PRKRA</i> em 29 pacientes com distonia. Variantes novas são indicadas em negrito.	43
Tabela 6: Comparação entre pacientes com e sem variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas.....	44
Tabela 7: Características clínicas de 11 pacientes com distonia dopa-responsiva, 9 com variantes no gene <i>GCH1</i>	46
Tabela 8: Características clínicas de 11 pacientes com variantes no gene <i>THAP1</i>	47
Tabela 9: Características clínicas de 3 pacientes com variantes no gene <i>PRKRA</i>	48

Lista de Figuras

Figura 1: Possíveis representações artísticas de distonia. A - Estátua de Alexandre, o Grande. B – Escultura da antiga civilização Moche. C – Imagens na tumba de São Pedro de Osma, catedral de Burgo de Osma (Espanha). D – <i>The Yawning Man</i> , por Peter Brueghel, o Velho. E – <i>Suffering</i> , por Constantin Brancusi. F – <i>Jeanne Hébuterne au grand chapeau</i> , por Amedeo Modigliani.....	2
Figura 2: Fotografias de um dos pacientes examinados por Oppenheim, retratado em sua publicação de 1911.....	3
Figura 3: Via de comunicação de curta latência entre cerebelo e núcleos da base (via cerebelo-tálamo-estriatal).....	24
Figura 4: Diferentes vias moleculares relacionadas a distonia.....	25
Figura 5: Idade de início da distonia em 87 pacientes	37
Figura 6: Distribuição corpórea em 87 pacientes com distonia.	37
Figura 7: Número de sintomas não motores relatados por 87 pacientes com distonia.....	40
Figura 8: Intensidade de dor relatada por 45 pacientes com distonia.....	41

Lista de Abreviaturas e Siglas

ABraOM	Arquivo Brasileiro Online de Mutações
ATP	Adenosina trifosfato
BIPMed	Iniciativa Brasileira em Medicina de Precisão
c.	Cromossomo
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CADD	<i>Combined Annotation-Dependent Depletion</i>
CAPOS	Ataxia cerebelar, arreflexia, pés cavos, atrofia óptica e surdez neurossensorial
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
IC	Intervalo de confiança
CL	Núcleo centrolateral
CN	Núcleos cerebelares profundos
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
d.C.	Depois de Cristo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
F	Feminino
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FMS	Escala de Fahn-Marsden
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
gnomAD	<i>Genome Aggregation Database</i>
GTP	Guanosina trifosfato
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HUGO	<i>Human Genome Organisation</i>
IEP-HIAE	Instituto de Ensino e Pesquisa do Hospital Israelita Albert Einstein
M	Masculino
MID	Membro inferior direito
MIE	Membro inferior esquerdo

Listas

MMII	Membros inferiores
MSD	Membro superior direito
MSE	Membro superior esquerdo
OR	<i>Odds Ratio</i>
p.	Proteína
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PolyPhen-2	<i>Polymorphism Phenotyping version 2</i>
PROVEAN	<i>Protein Variation Effect Analyzer</i>
r_s	Coefficiente de correlação de Spearman
SIFT	<i>Sorting Intolerant From Tolerant</i>
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
St	Estriado
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Lista de Símbolos

=	Igual
$\pm$	Mais ou menos
%	Percentual
>	Maior que
$\geq$	Maior ou igual que
<	Menor que
$\leq$	Menor ou igual que
*	Asterisco
ml	Mililitro

Resumo

Silva Junior, FP. Caracterização clínica e genética de pacientes com distonia de etiologia desconhecida, isolada ou combinada [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

INTRODUÇÃO: Do início do século XX até a década de 70, quando a distonia foi amplamente aceita como distúrbio orgânico, intenso debate sobre sua etiologia a fez ocupar uma área cinzenta entre neurologia e psiquiatria. Desde então, avanços significativos no conhecimento relacionado à sua fisiopatologia foram alcançados, em decorrência principalmente de descobertas no campo da genética. No entanto, existem escassos estudos genéticos entre pacientes brasileiros com distonia. **OBJETIVO:** O principal objetivo deste estudo foi descrever as manifestações clínicas e os achados genéticos em pacientes com distonia de etiologia desconhecida, isolada ou combinada a parkinsonismo ou mioclonia. **MÉTODOS:** Trata-se de um estudo retrospectivo no qual foi analisada a base de dados criada pela Rede Brasileira para o Estudo das Distonias, que incluiu pacientes com distonia idiopática, isolada ou combinada a parkinsonismo ou mioclonia, com ou sem história familiar, sem evidência de etiologia degenerativa ou secundária. Essa base de dados contém informação epidemiológica, clínica (exame neurológico, questionário de sintomas motores e não motores e escore de gravidade dos sintomas motores de acordo com a escala de avaliação de distonia de Fahn-Marsden) e genética de pacientes recrutados no ambulatório de distúrbios do movimento de quatro hospitais do Estado de São Paulo. Em uma primeira fase, foram pesquisadas variantes nos genes *TOR1A*, *GCH1*, *THAP1*, *SGCE* e *ATP1A3* por sequenciamento direto. Para pacientes com resultado negativo, assim como para novos participantes incluídos na segunda fase do estudo, foram realizadas análises por sequenciamento de nova geração, utilizando um painel de 12 genes envolvidos na distonia, incluindo *TOR1A*, *TUBB4A*, *GCH1*, *TH*, *THAP1*, *SGCE*, *ATP1A3*, *PRKRA*, *CIZ1*, *ANO3*, *GNAL* e *KCTD17*. Somente dados de paciente recrutados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo foram utilizados na presente tese. **RESULTADOS:** Foram incluídos 87 pacientes (53 do gênero feminino), a maioria com início dos sintomas até 20 anos de idade (63,2%) e 44,8% com distonia generalizada. Três pacientes apresentavam parkinsonismo e dois mioclonia. Sintomas não motores foram relatados por 89,6% dos pacientes, sendo dor a queixa mais comum (51,7%). Variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas foram identificadas em 29 pacientes, sendo mais frequentes em *THAP1* (11 pacientes) e *GCH1* (9), seguidos por *TOR1A* (4), *PRKRA* (3), *SGCE* (1) e *TUBB4A* (1). Sete variantes não haviam sido previamente relatadas na literatura: uma em *TUBB4A* (c.883G>A), duas em *GCH1* (c.del41_44G e c.439C>T), três em *THAP1* (c.62C>T, c.107_110insG e c.348delT) e uma em *PRKRA* (c.795C>A). Início precoce da distonia e história familiar foram preditores independentes da presença de variante patogênica ou provavelmente patogênica. **CONCLUSÃO:** Diferentes formas genéticas de distonia foram observadas em pacientes brasileiros e novas variantes foram identificadas, o que pode contribuir para melhorar o conhecimento atual da fisiopatologia dessa condição. O desenvolvimento de tratamentos clínicos e cirúrgicos baseados no diagnóstico etiológico pode trazer significativo benefício para os nossos pacientes.

Resumo

Descritores: Distonia; Sinais e sintomas; Dor; Genética; Variação genética; Sequenciamento de nucleotídeos em larga escala.

Abstract

Silva Junior FP. Clinical and genetic characterization of patients with dystonia of unknown etiology, isolated or combined [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2021.

BACKGROUND: From the beginning of the 20th century until the seventies, when dystonia was broadly accepted as an organic disorder, intense debate about its etiology has placed it into a grey zone between neurology and psychiatry. Since then, important advances in the knowledge related to its pathophysiology were achieved, mostly due to discoveries in the genetics field. However, there are scarce genetic studies among Brazilian patients with dystonia. **OBJECTIVE:** The main objective of this study was to describe the clinical manifestations and genetic findings in patients with dystonia of unknown etiology, isolated or combined with parkinsonism or myoclonus. **METHODS:** This is a retrospective study in which we analyzed the database created by the Brazilian Network for the Study of Dystonia, including patients with idiopathic dystonia, isolated or combined with parkinsonism or myoclonus, with or without family history, without evidence of degenerative or secondary etiology. This database includes epidemiological, clinical (neurological examination, motor and non-motor symptoms questionnaires and score of motor severity according to the Fahn-Marsden Dystonia Rating Scale) and genetic information of patients recruited from the movement disorders outpatient units of four hospitals in São Paulo. In a first phase, variants in the genes *TOR1A*, *GCH1*, *THAP1*, *SGCE* e *ATP1A3* were searched for by direct sequencing. For patients with negative results, as well as for those enrolled in the second phase of the study, analyses through next-generation sequencing were performed, using a panel of 12 genes involved in dystonia, including *TOR1A*, *TUBB4A*, *GCH1*, *TH*, *THAP1*, *SGCE*, *ATP1A3*, *PRKRA*, *CIZ1*, *ANO3*, *GNAL* e *KCTD17*. Only patients recruited in the Clinical Hospital of the University of São Paulo Medical School were included in the present thesis. **RESULTS:** Eighty-seven patients (53 women) were included, the majority of them with disease onset until 20 years (63.2%) and 44.8% with generalized dystonia. Three patients had parkinsonism and two had myoclonus. Non-motor symptoms were reported by 89.6% of patients, with pain being the most common complaint (51.7%). Pathogenic or likely pathogenic variants were identified in 29 patients, being more frequent in *THAP1* (11 patients) and *GCH1* (9), followed by *TOR1A* (4), *PRKRA* (3), *SGCE* (1) and *TUBB4A* (1). Seven variants had not been previously described in the literature: one in *TUBB4A* (c.883G>A), two in *GCH1* (c.del41_44G e c.439C>T), three in *THAP1* (c.62C>T, c.107_110insG e c.348delT) and one in *PRKRA* (c.795C>A). Early-onset dystonia and family history were independent predictors of the presence of pathogenic or likely pathogenic variants. **CONCLUSION:** Different genetic forms of dystonia were observed among Brazilian patients and new variants were identified, which may contribute to improving the current knowledge of the pathophysiology of this condition. The development of clinical and surgical treatments based on etiological diagnosis can bring relevant benefit to our patients.

Descriptors: Dystonia; Signs and symptoms; Pain; Genetics; Genetic variation; High throughput nucleotide sequencing.

Introdução

1. Introdução

1.1 História e evolução do conceito de distonia

Referências ao que hoje se conhece por distonia podem ser identificadas em obras antigas, como em textos nos quais Hipócrates se refere a um “pescoço rígido e doloroso”; em algumas esculturas de Alexandre, o Grande, nas quais o antigo rei da Macedônia é representado com o pescoço discretamente girado para esquerda; em esculturas de cerâmica da civilização peruana Moche (100-700 d.C.), nas quais indivíduos são representados com olhos fechados e fazendo caretas, como em uma tentativa de abrir os olhos; e em imagens esculpidas no século XIII na tumba de São Pedro de Osma, na catedral de Burgo de Osma (Espanha), mostrando camponeses com a cabeça inclinada para a direita ou para a esquerda e expressões faciais dolorosas. Ainda na idade média, evidência de distonia afetando a escrita, com deterioração progressiva, pode ser observada em documentos escritos pelo escrivão francês Bernard Blancard¹.

Considerando a produção artística e literária do pós-renascimento, o neurologista inglês David Marsden hipotetizou que a pintura *The Yawning Man*, por Peter Brueghel, o Velho, representa a associação de blefarospasmo com distonia oromandibular² e possíveis representações de indivíduos com distonia podem ser observadas na escultura denominada *Suffering* do romeno Constantin Brancusi, em personagens da obra *David Copperfield* do romancista inglês Charles Dickens e em pinturas do italiano Amedeo Modigliani (Figura 1). No entanto, é importante salientar que as posturas anormais representadas nessas obras podem ser simplesmente uma expressão artística e sua relação com distonia é apenas uma hipótese³, sobretudo levando-se em conta que, na época em que a maioria desses trabalhos foi produzida, não havia nomenclatura para essa condição, o que só passou a existir na segunda década do século XX, graças às observações de Hermann Oppenheim.

FONTE: Baseada em Newby et al, 2017¹ e Garcia-Ruiz et al, 2015³

Figura 1: Possíveis representações artísticas de distonia. A - Estátua de Alexandre, o Grande. B – Escultura da antiga civilização Moche. C – Imagens na tumba de São Pedro de Osma, catedral de Burgo de Osma (Espanha). D – *The Yawning Man*, por Peter Brueghel, o Velho. E – *Suffering*, por Constantin Brancusi. F – *Jeanne Hébuterne au grand chapeau*, por Amedeo Modigliani.

No clássico artigo que Oppenheim publicou em 1911, descrevendo quatro crianças judias originárias da Galícia e da Rússia, sem qualquer relação de parentesco, com uma condição nunca antes vista por ele, o então mais famoso neurologista da Alemanha enfatizava a ausência de alterações psiquiátricas^{4,5}. “A *psyche* não parece mostrar algo especial”, “não há distúrbios psiquiátricos” e “a *psyche* não é afetada” foram argumentos utilizados por ele para se contrapor ao que Markus Walter Schwalbe chamou de “doença de tiques e câimbras tônicas com sintomas histéricos” e ao que Ziehen, professor de Schwalbe,

denominou “neurose de torção”. Ambos haviam avaliado as mesmas três crianças, irmãos e judeus da Lituânia, com quadro semelhante ao daquelas vistas por Oppenheim^{6,7}.

A análise minuciosa das crianças impressionou Oppenheim também pela fenomenologia do quadro clínico por elas apresentado (Figura 2). A condição afetava membros e tronco e resultava em posturas retorcidas, particularmente lordose e escoliose quando na posição ortostática; piorava com a deambulação; os movimentos podiam ser rápidos e rítmicos; os sintomas progrediam, levando finalmente a deformidades posturais fixas; hipotonia alternava-se com espasmos musculares tônicos, comumente desencadeados por movimentos voluntários; e não havia fraqueza, atrofia, perda sensitiva, alteração da percepção, distúrbios esfinterianos ou alteração da excitabilidade elétrica^{4,5}.

FONTE: Klein & Fahn, 2013⁴

Figura 2: Fotografias de um dos pacientes examinados por Oppenheim, retratado em sua publicação de 1911.

Tomadas em conjunto, essas observações levaram-no a concluir que aquelas crianças não apresentavam histeria, nem atetose, termo inicialmente usado por Hammond em 1871 e equivocadamente empregado por Barraquer-Roviralta para descrever, em 1897, um paciente com movimentos involuntários em torção, exacerbados pela ação⁸⁻¹⁰. Para Oppenheim, os termos *dysbasia lordotica progressiva* (anormalidade da marcha, lordose e natureza progressiva) ou *dystonia musculorum deformans* (alteração do tônus muscular com alternância entre hipotonia e hipertonia, dependendo da atividade do paciente)

eram mais apropriados, e ele preferia o segundo termo. E, após a publicação dessas observações, neurologistas ao redor do mundo passaram a reconhecer o quadro clínico descrito por ele em seus pacientes e começaram a utilizar o termo *dystonia musculorum deformans* ou simplesmente distonia^{4,11-13}.

No entanto, isso não significou que, a partir de então, a distonia passaria a ser reconhecida como uma condição neurológica distinta. De fato, distonia como entidade nosológica foi questionada na décima Reunião Neurológica Internacional Anual que ocorreu em Paris, em 1929, onde houve um consenso de que não se tratava de uma doença do sistema nervoso¹⁴. Isso reduziu o interesse de pesquisadores em neurologia pelo estudo da distonia, ao mesmo tempo em que, sob forte influência das teorias psicanalíticas que floresciam na época, psiquiatras faziam hipóteses freudianas para explicar as posturas contorcidas dos pacientes¹⁰.

Assim, a distonia, por muitos anos, ocupou uma zona cinzenta entre as áreas de neurologia e psiquiatria. O fato de algumas distonias serem tarefa-específicas, assim como serem aliviadas por manobras voluntárias, era considerado incompatível com origem orgânica. A associação com estresse emocional ou social, com descrição de casos de distonia cervical após grande perda financeira e de surtos de câimbra do escrevão em telegrafistas e datilógrafos, além da falta de lesões cerebrais anatômicas em pacientes com distonia, reforçavam a origem psiquiátrica. Popularizaram-se, então, as interpretações simbólicas da fenomenologia distônica: a rotação do pescoço na distonia cervical seria um desvio na direção contrária a situações estressantes e, de forma similar, o fechamento forçado dos olhos no blefarospasmo representaria o desejo de fechar os olhos para o mundo^{1,10,14}.

Por outro lado, ao longo dos anos, somaram-se também evidências que desafiavam esse modelo psicogênico. Em 1910, Meige, após observação de casos de distonia crânio-cervical em pacientes que haviam sobrevivido a encefalite de Von Economo, sugeriu que a associação de blefarospasmo com distonia oromandibular poderia ter como causa um foco irritativo na ponte ou no mesencéfalo^{1,15}. Isso representou uma mudança importante nas suas impressões, já que, alguns anos antes, descrevendo casos semelhantes, ele enfatizou a atitude melancólica, o temperamento introspectivo, a falta de

equilíbrio físico e as melhoras e pioras seguindo o fluxo do estresse emocional dos pacientes¹. Em 1944, através da análise de filmes de pacientes com distonia generalizada, Herz concluiu que as posturas e movimentos anormais se difundiam de uma parte do corpo para regiões contíguas e, então, generalizavam-se¹⁶. Em 1959, a natureza hereditária da distonia foi demonstrada por Zeman e colaboradores¹⁷, e resultados favoráveis em alguns pacientes tratados com talamotomia e palidotomia foram relatados por Cooper em 1969¹⁸, mesmo ano em que Eldridge e colaboradores mostraram a eficácia limitada da psicoterapia¹⁹.

Mas foi somente na década de 70 que a natureza orgânica da distonia começou a se estabelecer e a ser mais amplamente aceita^{1,20,21}. Em 1974, a cidade de Nova Iorque sediou o primeiro Simpósio Internacional de Distonias, evento no qual Marsden propôs agrupar blefarospasmo, distonia oromandibular, câimbra do escritor e distonia cervical (até então consideradas entidades nosológicas distintas), e no qual Fahn propôs o primeiro esquema de classificação para diferentes formas de distonia, categorizando-as em distonia primária (com ou sem padrão hereditário), secundária (aquelas com outras condições neurológicas hereditárias ou devidas a causa ambiental conhecida) e forma psicológica de distonia²²⁻²⁵.

A primeira definição consensual de distonia foi desenvolvida em 1984, por um comitê *ad hoc* da *Dystonia Medical Research Foundation*. Distonia foi definida como uma “síndrome que consiste em contrações musculares sustentadas, frequentemente causando movimentos em torção e repetitivos ou posturas anormais”. E, em 1988, Fahn e colaboradores propuseram um novo esquema de classificação, baseado em três eixos: idade de início, distribuição e etiologia, com esse último eixo subdividido nas categorias idiopática (familiar ou esporádica) e sintomática^{26,27}.

Um refinamento do eixo etiologia foi proposto por Fahn e colaboradores em 1998, já que formas de distonia anteriormente incluídas entre as idiopáticas seriam mais corretamente agrupadas em uma categoria distinta, por incluírem outros sintomas além da distonia, como parkinsonismo e mioclonia. Para eles, o principal fator a ser considerado para categorizar uma forma de distonia como primária seria a expressão fenotípica exclusiva de distonia (com exceção do

tremor, que poderia ser parte do fenótipo da distonia primária) e a exclusão de causas conhecidas²⁸.

Dessa forma, baseando-se na mesma abordagem utilizada na época para classificar as diferentes formas de parkinsonismo, eles recomendaram as categorias etiológicas **primária** (ao invés de idiopática, para as síndromes nas quais a distonia é a única manifestação fenotípica, podendo o tremor estar presente), **distonia-plus** (síndromes distônicas nas quais a distonia está associada a parkinsonismo ou mioclonia), **secundária** (quando a causa da distonia é uma condição ambiental levando a injúria cerebral) e **heredodegenerativa** (quando neurodegeneração produz distonia como sintoma proeminente). Distonia psicogênica foi incluída entre as distonias secundárias. E, para completar a classificação revisada, incluíram distúrbios que mimetizavam distonia, mas não consistiam em distonia verdadeira, na categoria pseudodistonia.

Assim, por uma década e meia, as diferentes formas de distonia foram classificadas de acordo com os eixos propostos em 1988 e aperfeiçoados em 1998, a saber: **idade de início** (infância – 0 a 12 anos, adolescência – 12 a 20 anos e idade adulta – mais de 20 anos), **distribuição** (focal, segmentar, multifocal, generalizada e hemidistonia) e **etiologia** (primária, distonia-plus, secundária e heredodegenerativa).

Ainda em 1998, um sistema de nomenclatura genética das distonias foi proposto por Muller e colaboradores²⁹ e pela *Human Genome Organization* (HUGO). Naquela época, formas genéticas de distonia já eram conhecidas, alguns *loci* haviam sido descritos e até variantes causadoras de distonia haviam sido identificadas (uma em um gene codificador de uma proteína que se liga ao ATP e outra no gene da GTP ciclohidrolase 1). Aqueles autores propuseram classificar essas formas genéticas em distonias 1 a 12 (DYT1 a DYT12), baseando-se na identificação de famílias com fenótipos distintos, mesmo que, para algumas formas, o *locus* ainda fosse desconhecido.

Com o passar do tempo, as limitações desses esquemas classificatórios clínico e genético tornaram-se evidentes e uma nova proposta para definição e classificação da distonia foi publicada em 2013.

1.2 Fenomenologia e classificação de distonia – o consenso de 2013

A necessidade de um esquema de classificação que organizasse os conhecimentos mais recentes relacionados aos mecanismos biológicos das diferentes formas de distonia e que, ao mesmo tempo, fosse clinicamente útil, utilizado como guia ao diagnóstico clínico e laboratorial e ao tratamento, motivou a formação de um comitê internacional de investigadores com anos de experiência e resultou em uma proposta consensual para definição e classificação da distonia³⁰.

Enquanto os itens **idade de início** e **distribuição corpórea** permaneceram na nova classificação, com leves alterações, já que são considerados clinicamente úteis, modificações significativas foram feitas no item **etiologia** (Tabela 1). Os termos “primária”, “distonia-plus”, “secundária” e “heredodegenerativa” foram excluídos da nova classificação. Primário, em geral, significa condição sem causa conhecida, mas esse não era o caso quando aplicado às distonias, se referindo, então, a distonia pura, sem outros sinais neurológicos. Secundário é um termo geralmente utilizado para se contrapor a primário. No entanto, na classificação clínica anterior, uma forma de distonia que não era primária poderia ser secundária, distonia-plus ou, ainda, heredodegenerativa. Algumas formas de distonia enquadradas como heredodegenerativas não são hereditárias ou degenerativas.

O comitê propôs a definição de distonia como “um distúrbio do movimento caracterizado por contrações musculares sustentadas ou intermitentes, causando movimentos e/ou posturas anormais, frequentemente repetitivos. Os movimentos distônicos são tipicamente padronizados, em torção, e podem ser tremulantes. Distonia é frequentemente iniciada ou piorada pela ação voluntária e associada a ativação de grupos musculares anatomicamente distintos daqueles primariamente afetados”.

Tabela 1: Comparação entre os esquemas classificatórios para distonia de 1974, 1988/1998 e 2013.

1974	1988/1998	2013
Distonia primária	Idade de início	Eixo I - características clínicas
• Hereditária	Distribuição	Idade de início
• Não hereditária	Etiologia	Distribuição corpórea
Distonia secundária	• Primária	Padrão temporal
Distonia psicológica	• Distonia-plus	Manifestações associadas
	• Secundária	• Isolada
	• Heredodegenerativa	• Combinada
		• Outras manifestações
		Eixo II – etiologia
		Alteração anatômica
		Padrão de herança
		• Herdada
		• Adquirida
		• Idiopática

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

Em relação à classificação, foram propostos dois eixos distintos: características clínicas e etiologia.

1.2.1 Características clínicas

Quatro descritores foram utilizados para especificar as características clínicas da distonia:

- **Idade de início:** lactente (até 2 anos); infância (3 a 12 anos); adolescência (13 a 20 anos); idade adulta precoce (21 a 40 anos) e idade adulta tardia (mais de 40 anos);
- **Distribuição corpórea:** focal (apenas uma região é afetada, incluindo blefarospasmo e distonias oromandibular, cervical e laríngea, além de distonia focal da mão, como câimbra do escritor); segmentar (duas ou mais regiões corpóreas contíguas

afetadas, como distonia bi-braquial ou blefarospasmo associado a distonia oromandibular); multifocal (duas ou mais regiões não contíguas acometidas); generalizada (envolvimento do tronco e de pelo menos dois outros locais, devendo-se especificar se há envolvimento dos membros inferiores) e hemidistonia;

- **Padrão temporal:** curso (estática ou progressiva) e variabilidade (persistente, flutuante, específica de uma ação e paroxística);
- **Manifestações associadas à distonia:** forma isolada (distonia como único aspecto motor, podendo haver tremor) ou combinada (distonia associada, por exemplo, a mioclonia e parkinsonismo), além de ocorrência de outras manifestações neurológicas ou sistêmicas.

A análise fenomenológica realizada a partir dos itens desse primeiro eixo permite a identificação de algumas síndromes de distonia: distonia isolada generalizada de início precoce, distonia isolada focal ou segmentar de início no adulto, distonia-parkinsonismo e mioclonia-distonia.

1.2.2 Etiologia

Duas características complementares foram consideradas úteis para a classificação etiológica: a presença de alterações anatômicas (no exame de imagem ou anatomopatológico) e o padrão de herança. Evidência de neurodegeneração (macroscópica, microscópica ou no nível molecular) ou de lesão estática permite a classificação das distonias em formas degenerativas ou não degenerativas. E, levando-se em consideração o padrão de herança, as distonias podem ser subgrupadas em formas **herdadas** (com causa genética conhecida, incluindo formas autossômicas dominantes ou recessivas, recessivas ligadas ao cromossomo X e mitocondriais), **adquiridas** (incluindo a distonia psicogênica) ou **idiopáticas** (causa desconhecida).

De acordo com o consenso, a designação das formas hereditárias como DYT (DYT1, DYT2, DYT3, ...) não deve ser vista como um sistema de classificação etiológica.

1.3 Genética das distonias

Desde que foi proposta em 1998, a nomenclatura genética (DYT) tem sido amplamente utilizada, ao mesmo tempo em que muitos dos *loci* foram confirmados e alguns genes causadores de distonia foram identificados. O símbolo DYT passou a ser empregado para designar tanto a variante genética causadora da distonia quanto o fenótipo clínico resultante, embora essa dupla utilização não seja recomendada pelo comitê de nomenclatura da HUGO³¹.

1.3.1 Distonia DYT1

Essa forma autossômica dominante de distonia se inicia quase sempre na infância ou adolescência, em um membro (sobretudo nos membros inferiores), e usualmente se torna generalizada dentro de alguns anos, poupando a musculatura craniana e a laringe na maioria dos acometidos³². Em quase 100% dos casos, é causada por uma deleção GAG no gene *TOR1A*, no cromossomo 9q34, que leva a perda de uma molécula de ácido glutâmico na região C-terminal da proteína torsinA³³. A penetrância é estimada em 30 a 40%, sendo a deleção cinco vezes mais comum entre judeus Ashkenazi³⁴. Variantes diferentes da deleção GAG têm sido raramente descritas, possivelmente causando fenótipo mais leve, mas uma clara correlação genótipo-fenótipo ainda não pode ser estabelecida³⁵. A proteína torsina é um membro da superfamília de ATPase AAA+, que funciona como chaperona e é associada a uma variedade de funções celulares críticas, incluindo corretos enovelamento e degradação de proteínas, transporte de membranas, fusão de vesículas, biogênese e movimento de organelas e dinâmica do citoesqueleto^{34,36}.

1.3.2 Distonia DYT2

Uma forma de distonia isolada, autossômica recessiva, de início precoce, foi descrita em quatro famílias ciganas na Espanha em 1988, sendo caracterizada por início em um membro, seguido por generalização (fenótipo semelhante ao do DYT1) ou por distonia segmentar braquial, com proeminente

acometimento crânio-cervical³⁷. Uma família iraniana de judeus sefarditas com distonia autossômica recessiva de início nos membros inferiores e progressão para distonia generalizada, com envolvimento crânio-cervical, foi descrita em 2003³⁸. Consanguinidade estava presente na maioria das famílias relatadas. Em 2015, foi identificada como causadora da distonia na família iraniana uma variante no gene *HPCA*, no cromossomo 1, que codifica a hipocalcina, uma proteína altamente expressa no cérebro, especialmente no estriado, reguladora de canais de cálcio voltagem-dependentes³⁹.

1.3.3 Distonia DYT3

É uma doença neurodegenerativa, recessiva ligada ao cromossomo X, caracterizada por distonia-parkinsonismo, causada por uma variante no gene *TAF1*, que codifica a proteína TAF1, reguladora da transcrição de um grande número de genes relacionados à divisão e à proliferação celular⁴⁰. Acomete indivíduos do sexo masculino (99% dos casos), com ancestralidade materna das ilhas Panay, Filipinas, e se inicia na maioria das vezes na terceira ou quarta décadas de vida, como distonia focal que se dissemina para múltiplas regiões corpóreas e se combina ou é substituída por parkinsonismo⁴¹.

1.3.4 Distonia DYT4

A distonia DYT4 foi inicialmente descrita em 1985, em uma família originária do Reino Unido que migrou para a Austrália, e é caracterizada por disfonia espasmódica e distonia de predomínio crânio-cervical, às vezes generalizada, com padrão de herança autossômico dominante^{42,43}. Até mesmo o *locus* dessa forma de distonia era desconhecido até 2013, quando dois grupos independentes de pesquisadores, estudando aquela família, identificaram uma variante no gene *TUBB4A*, localizado no cromossomo 19p13.3, que codifica a β -tubulina 4A, importante proteína constituinte dos microtúbulos do citoesqueleto^{44,45}. Nenhum familiar saudável dos indivíduos com distonia apresentava a variante, sugerindo penetrância completa, o que, aparentemente, diferencia a distonia DYT4 de outras formas de distonia. O mesmo gene está

também associado a uma forma rara de leucoencefalopatia caracterizada por hipomielinização e atrofia dos núcleos da base e do cerebelo, cujo quadro clínico inclui atraso no desenvolvimento psicomotor, distúrbios do movimento (distonia, coreoatetose, rigidez, opistótono e crises oculógiras), tetraplegia espástica progressiva, ataxia e, mais raramente, crises epiléticas⁴⁶.

1.3.5 Distonia DYT5

Essa forma de distonia se apresenta mais comumente com distúrbio da marcha na primeira década de vida, com posterior envolvimento de outras regiões corpóreas, sendo frequentemente associada a tremor distônico, flutuação diurna da gravidade dos sintomas, parkinsonismo e reflexos tendinosos exacerbados, com excelente resposta a levodopa e, em alguns casos, resposta satisfatória a anticolinérgicos⁴⁷. Sintomas psiquiátricos e neuropsicológicos, assim como distúrbios do sono, são relatados⁴⁸.

O primeiro gene relacionado a distonia dopa-responsiva foi identificado em 1994⁴⁹. Localizado no cromossomo 14q, o gene *GCH1* codifica a enzima GTP-ciclohidrolase 1, que catalisa a reação inicial na síntese de tetrahidrobiopterina que, por sua vez, atua como cofator essencial das enzimas tirosina hidroxilase, fenilalanina hidroxilase e triptofano hidroxilase, que catalisam a síntese de dopamina, tirosina e serotonina⁵⁰. O padrão de herança é autossômico dominante, com penetrância de cerca de 87% em mulheres e 38% em homens⁵¹. Variantes pontuais e grandes deleções no gene *GCH1* são responsáveis por cerca de 2/3 dos casos de distonia dopa-responsiva⁵².

Em 2002, Grötzsch e colaboradores⁵³ descreveram uma família suíça com distonia dopa-responsiva na qual teriam identificado um novo *locus*, denominado DYT14, adjacente ao do DYT5. Seis anos mais tarde, uma deleção no gene *GCH1* foi identificada em membros dessa família, indicando que o *locus* DYT14 não existe⁵⁴.

Variantes no gene *TH*, no cromossomo 11p, que codifica a proteína tirosina hidroxilase, enzima envolvida na síntese de dopamina, é uma causa mais rara de distonia dopa-responsiva, com herança autossômica recessiva e fenótipo que

pode variar de encefalopatia precoce no lactente até distonia dopa-responsiva de início na primeira década de vida^{55,56}.

1.3.6 Distonia DYT6

Essa forma de distonia isolada, autossômica dominante, teve seu gene causal identificado em 2009. Trata-se do gene *THAP1*, no cromossomo 8, que codifica a proteína THAP1, um fator de transcrição que regula a expressão de outros genes-alvo, incluindo genes envolvidos na apoptose⁵⁷. A penetrância é de cerca de 60% e a distonia se inicia mais comumente na infância ou na adolescência, em um membro (sobretudo nos membros superiores), e pode permanecer focal ou, mais frequentemente, se disseminar para outras regiões, assumindo uma distribuição segmentar, multifocal ou generalizada, havendo envolvimento da musculatura craniana e disfonia na maioria dos acometidos⁵⁸.

1.3.7 Distonia DYT7

Distonia cervical predominantemente herdada de início na vida adulta foi associada ao cromossomo 18p em uma família alemã⁵⁹. Essa mesma família foi reavaliada e nenhuma variante no 18p foi identificada por sequenciamento de exoma, levando a dúvidas sobre a existência desse *locus*, sobretudo na ausência de novos casos a ele relacionados⁶⁰.

1.3.8 Distonias paroxísticas

Três grupos de distonias paroxísticas foram inicialmente descritas, com início mais frequentemente na infância ou adolescência e padrão de herança autossômico dominante^{50,61,62}:

- **Distonia/discinesia paroxística não-cinesiogênica** (DYT8 e DYT20, ambas com *locus* mapeado no cromossomo 2q): ataques de distonia, coreia, atetose e balismo, em repouso, com duração de segundos a horas, precipitados por álcool ou cafeína e, menos frequentemente, por nicotina, cansaço físico e estresse

emocional. Em 2004, variantes no gene regulador da miofibrillogênese *MR1*, posteriormente denominado *PNKD*, foram identificadas em pacientes com distonia DYT8⁶³, mas não foram encontradas em uma família canadense com fenótipo semelhante, levando à designação DYT20 e indicando heterogeneidade genotípica⁶⁴. A proteína PNKD interage com proteínas sinápticas e modula a liberação de neurotransmissores;

- **Distonia/discinesia paroxística induzida por exercício** (DYT9 e DYT18, cromossomo 1p): ataques de coreia e distonia, com duração de minutos, precipitados por exercício físico, além de álcool, fadiga e estresse emocional. Alguns pacientes apresentam também ataxia episódica, paraplegia espástica e epilepsia. DYT9 e DYT18 são ambas causadas por variantes no gene *SLC2A1*, que codifica o transportador de glicose da barreira hematoencefálica GLUT1⁶⁵;
- **Distonia/discinesia paroxística cinesiogênica** (DYT10 e 19, cromossomo 16): ataques de coreia e distonia desencadeados por movimentos súbitos, que duram segundos a poucos minutos e podem ocorrer muitas vezes ao dia. É o distúrbio do movimento paroxístico mais comum, sendo causado, em 40 a 90% dos casos, por variantes no gene *PRRT2*, cujo produto é uma proteína transmembrana rica em prolina, que interage com a proteína sináptica SNAP25, que participa na regulação da liberação de neurotransmissores⁶⁶.

1.3.9 Distonia DYT11

Essa forma de mioclonia-distonia autossômica dominante é causada por variantes no gene *SGCE* (cromossomo 7q) e é caracterizada por abalos mioclônicos bilaterais, responsivos a álcool, nos músculos axiais e dos membros superiores, comumente associados a distonia, usualmente distonia cervical ou câimbra do escrivão⁶⁷. Distúrbios psiquiátricos são comuns, incluindo transtorno obsessivo-compulsivo, transtorno de ansiedade generalizada e abuso de

álcool⁶⁸. A penetrância é incompleta, sendo que a quase totalidade dos pacientes herdaram o alelo mutado do pai, já que o alelo materno sofre inativação (*imprinting* materno)⁶⁹. O gene *SGCE* faz parte de uma família que codifica componentes transmembrana do complexo distrofina-glicoproteínas, que liga o citoesqueleto à matriz extracelular⁷⁰. Mioclonia-distonia é uma síndrome geneticamente heterogênea e variantes em *SGCE* são responsáveis por cerca de um quinto dos casos, mas essa proporção pode chegar a 80%, dependendo dos critérios adotados para inclusão de pacientes⁷¹⁻⁷³. Assim como ocorre com o gene *GCH1* na distonia dopa-responsiva, grandes deleções não detectadas no sequenciamento direto de *SGCE* podem ser responsáveis por casos falso-negativos⁷⁴.

1.3.10 Distonia DYT12

É causada por variantes no gene *ATP1A3*, no cromossomo 19q, que codifica a subunidade $\alpha 3$ da bomba de Na^+/K^+ -ATPase⁷⁵, e apresenta padrão de herança autossômico dominante. O início ocorre mais frequentemente na adolescência ou nos primeiros anos da vida adulta e é abrupto (em minutos a dias), em um membro e na musculatura que controla a fala e a deglutição, sendo comumente precedido por um evento estressor físico ou emocional. A distonia é associada a bradicinesia e instabilidade postural e apresenta um evidente gradiente crânio-caudal, com sintomas bulbares mais proeminentes que a distonia nos membros superiores que, por sua vez, é mais pronunciada que nos membros inferiores⁷⁶. O mesmo gene está relacionado à hemiplegia alternante da infância e à síndrome CAPOS (ataxia cerebelar, arreflexia, pés cavos, atrofia óptica e surdez neurossensorial), duas condições que compartilham com a distonia DYT12 o início abrupto e a presença de fatores desencadeantes⁷⁷.

1.3.11 Distonia DYT13

A distonia DYT13 foi descrita em 1997 em uma família italiana com oito membros acometidos por distonia de início precoce (média de idade nos primeiros sinais da doença de 15,6 anos), com herança autossômica dominante

e penetrância incompleta, acometendo inicialmente a região crânio-cervical (em seis pacientes) ou os membros superiores (incluindo um caso que começou como câimbra do escrivão), evoluindo para distribuição segmentar em todos, exceto em dois, nos quais a distonia se tornou generalizada, embora ainda leve⁷⁸. O *locus* dessa forma de distonia foi identificado por análise de ligação no cromossomo 1p⁷⁹, mas o gene causal permanece desconhecido.

1.3.12 Distonia DYT15

Um ano após a descoberta de que variantes no gene *SGCE* causam mioclonia-distonia, um novo *locus* para essa síndrome foi identificado no cromossomo 18p, em uma família canadense com 13 indivíduos acometidos⁸⁰. As características clínicas se assemelham às da DYT11, assim como o padrão de herança.

1.3.13 Distonia DYT16

Camargos e colaboradores⁸¹ descreveram três famílias brasileiras com distonia generalizada de herança autossômica recessiva e sintomas iniciais na primeira ou segunda décadas de vida. Início nos membros inferiores e parkinsonismo ocorreram na maioria dos pacientes, sendo também observados acometimento da musculatura facial (com caretamento), distonia oromandibular e de língua, disartria, disfonia, latero ou retrocolo e postura em opistótono. Os mesmos autores identificaram uma variante no gene *PRKRA*, no cromossomo 2q, como causa dessa condição. A proteína PRKRA ativa, em resposta a estresse extracelular, a proteína quinase PKR, mediador-chave da atividade antiviral dos interferons e envolvida também na regulação da proliferação celular e da apoptose e na transdução de sinal⁸².

1.3.14 Distonia DYT17

Essa forma de distonia isolada com padrão de herança autossômico recessivo e *locus* mapeado no cromossomo 20p foi descrita em uma única

família libanesa com três irmãs acometidas por distonia de início na segunda década de vida, na região cervical, com progressão para forma segmentar (em dois casos) ou generalizada, e desenvolvimento de disfonia e disartria nos três casos⁸³.

1.3.15 Distonia DYT21

Distonia isolada autossômica dominante com penetrância incompleta (75 a 90%) e fenótipo misto (focal, segmentar, multifocal ou generalizada), com *locus* mapeado no cromossomo 2q, foi descrita em uma família sueca por Norgren e colaboradores⁸⁴. A idade de início variou de 13 a 50 anos e os sintomas de apresentação ocorreram na parte superior do corpo (pálpebras, laringe, pescoço ou mãos).

1.3.16 Distonia DYT22

O símbolo DYT22 foi reservado, mas nenhuma forma de distonia foi publicada sob essa designação.

1.3.17 Distonia DYT23

Em uma família americana de origem alemã com membros afetados por distonia cervical autossômica dominante de início entre 18 e 49 anos, foram identificadas variantes no gene *CIZ1* (cromossomo 9q34), que codifica a proteína CIZ1, envolvida na síntese de DNA e no controle do ciclo celular⁸⁵.

1.3.18 Distonia DYT24

Variantes no gene *ANO3*, que codifica a proteína anoctamina-3, foram identificadas em membros de uma família do Reino Unido com distonia crânio-cervical de início entre 19 e 39 anos, associada a tremor distônico de membros superiores e disfonia. Na maioria dos indivíduos, o início ocorreu nos últimos anos da quarta década de vida⁸⁶. No mesmo estudo, variantes em *ANO3* foram

também encontradas em outros cinco indivíduos não relacionados àquela família, mas com fenótipo semelhante, sendo dois casos familiares. Tremor pode ser a única manifestação clínica inicial, levando a diagnóstico de tremor essencial, e mioclonia pode estar presente⁸⁷. O padrão de herança é autossômico dominante. O gene *ANO3*, no cromossomo 11, é altamente expresso no estriado e pertence a uma família de codificadores de proteínas que funcionam como canais iônicos, mais precisamente canais de cloreto ativados por cálcio, conhecidos moduladores da excitabilidade neuronal^{86,88}.

1.3.19 Distonia DYT25

Oito variantes no gene *GNAL*, no cromossomo 18p, foram descritas por Fuchs e colaboradores em 2013 em 28 indivíduos de 8 famílias europeias com distonia autossômica dominante de início variando de 7 a 54 anos⁸⁹. Em 82% dos casos, o sítio inicial da distonia foi a região cervical, e a condição permaneceu focal ou segmentar em 89% dos acometidos. O gene *GNAL* codifica a subunidade α de uma proteína G (*G α olf*), que é a subunidade estimulatória predominante nos neurônios espinhosos médios estriatais, onde se acopla a receptores dopaminérgicos (D1R) e adenosinérgicos (A2AR)^{89,90}.

1.3.20 Distonia DYT26

Essa forma autossômica dominante de mioclonia-distonia não responsiva a álcool foi descrita em sete membros de uma família inglesa. A idade no início variou de 5 a 20 anos e os movimentos involuntários foram mais proeminentes nos membros superiores e na região cervical, tendo sido observado predomínio de distonia. Uma variante no gene *KCTD17* (cromossomo 22q), que codifica a proteína KCTD17, envolvida na degradação de substratos através do sistema da ubiquitina-proteassomo, foi identificada nesses pacientes⁹¹.

Outros genes relacionados a diferentes formas de mioclonia-distonia, com mesmo padrão de herança, incluem o *CACNA1B* e o *RELN*. O primeiro codifica a subunidade alfa-1B de um canal de cálcio voltagem-dependente e foi identificado como causa de distonia em cinco membros de três gerações de uma

família⁹². Os pacientes apresentavam distonia cervical e axial em repouso, câimbra do escrivão e distonia nos pés induzida por ação, além de mioclonia em braços e pernas, com melhora após ingestão de álcool. Três dos cinco acometidos apresentavam arritmia cardíaca e ataques de câimbras em membros superiores e inferiores. Variantes em *RELN*, que codifica a reelina, causam mioclonia e leve distonia da região cervical e dos membros superiores, agravadas por estresse e, em cerca de metade dos pacientes, aliviadas por álcool⁹³. A reelina é uma glicoproteína que tem papel essencial na citoarquitetura de estruturas cerebrais laminadas, controlando a migração e o posicionamento de neurônios corticais e a folheação do cerebelo, além de atuar na modulação da transmissão sináptica e da plasticidade neuronal⁹³.

1.3.21 Distonia DYT27

Em 2015, variantes no gene *COL6A3*, no cromossomo 2q37, que codifica a subunidade $\alpha 3$ do colágeno tipo VI, uma proteína da matriz extracelular capaz de gerar redes microfibrilares, foram descritas como causa de distonia autossômica recessiva em três famílias de origem alemã. Nesses indivíduos, a distonia iniciou-se antes dos 25 anos, no pescoço ou na mão (na forma de câimbra do escrivão), com progressão para uma forma segmentar ou generalizada, de predomínio crânio-cervical^{94,95}.

1.4 A nova nomenclatura para distúrbios do movimento genéticos

Com o avanço das descobertas genéticas, mostrou-se difícil manter esse sistema cronológico de numeração e seus problemas tornaram-se cada vez mais explícitos³¹. Marras e colaboradores⁹⁶ apontam os seguintes inconvenientes no sistema de símbolos para a classificação genética de distonias e de diferentes formas de parkinsonismo (DYT e PARK):

- Estudos de associação (*genome-wide association studies*) têm levado à descoberta de variantes genéticas que representam um fator de risco, ao invés de causa de um distúrbio;

- A fenomenologia de algumas DYT não inclui distonia como distúrbio do movimento principal e ela pode até mesmo estar ausente, como no caso da distonia DYT11;
- Algumas condições que apresentam distonia como distúrbio do movimento proeminente não foram designadas com um símbolo DYT (casos, por exemplo, da doença de Wilson e da distonia causada por variantes no gene da sepiapterina redutase);
- Alguns *loci* descritos em uma única família não foram posteriormente associados a nenhum gene específico, nem descritos em outras famílias, levando a incertezas em relação a seu papel na gênese da distonia, como nas formas DYT7, DYT13 e DYT17;
- Houve erros de designação, como no caso da distonia DYT14;
- Algumas formas de distonia receberam uma designação DYT tendo por base a descrição de famílias com um fenótipo particular, mas sem a identificação de uma região cromossômica relacionada, ou seja, sem que nenhum *locus* tivesse sido a elas associado, o que só veio a ocorrer muitos anos depois, casos do DYT2 e DYT4;
- O trabalho em paralelo de grupos de cientistas levou à duplicação de *loci* identificados e, por consequência, de símbolos DYT, o que ficou claro no caso das distonias paroxísticas.

Devido a esses problemas, uma força tarefa da *International Parkinson and Movement Disorder Society* publicou algumas recomendações para a nomenclatura de distúrbios do movimento geneticamente determinados, incluindo formas genéticas de distonia⁹⁷. Essas recomendações incluíram a designação de um símbolo apenas quando o gene causal for conhecido e puder ser testado (reforçando a importância da pesquisa genética no âmbito dos distúrbios do movimento), a utilização de um prefixo adequado à fenomenologia mais proeminente da doença (como PARK no caso de predominar parkinsonismo ou DYT se o distúrbio do movimento principal for distonia), a substituição do número que antes designava a forma do distúrbio pelo gene causador (DYT-*TOR1A* e DYT-*THAP1* ao invés de DYT1 e DYT6), a separação

de genes causadores de distúrbios do movimento daqueles que atuam como fatores de risco e, finalmente, a necessidade de uma relação genótipo-fenótipo bem estabelecida como requisito para inclusão na lista de distúrbios do movimento geneticamente determinados.

1.5 As distonias complexas

Nos últimos anos, técnicas de sequenciamento de nova geração têm permitido a identificação de muitos novos genes implicados na etiologia das distonias, a uma velocidade surpreendente, tais como os genes *ADCY5* (codifica a enzima adenilato ciclase 5), *GNB1* (subunidade $\beta 1$ de proteína G), *KMT2B* (metiltransferase 2B lisina-específica), *TBCD* (chaperona D tubulina-específica) e muitos outros³¹. Esses genes recém-descobertos estão relacionados sobretudo a formas de distonia com fenótipos mais complexos, associadas a outros distúrbios do movimento (além de parkinsonismo e mioclonia) e a outras manifestações neurológicas e sistêmicas, incluindo atraso no desenvolvimento psicomotor, hipotonia, prejuízo intelectual, epilepsia, dismorfismo, microcefalia, lesões de pele, dentre outras⁹⁸. Esse grupo de distonias tem sido chamado de “distonias complexas”, correspondendo às antigas formas secundárias e heredodegenerativas, mas essa categoria não está prevista na nova classificação⁹⁹.

1.6 Sequenciamento de nova geração

As técnicas de sequenciamento de nova geração (sequenciamento de todo o genoma, de todo o exoma ou de um conjunto de genes previamente selecionados) têm levado a uma transformação na forma como causas genéticas de diversas condições têm sido elucidadas, expandindo o entendimento de suas bases fisiopatológicas. Entretanto, ao contrário do que ocorria antes, quando famílias com quantidade considerável de indivíduos acometidos eram submetidas a rigoroso mapeamento genético por análise de ligação, identificando genes possivelmente relacionados à condição sob investigação, a pesquisa genética pode agora ser realizada até mesmo em casos esporádicos e

sem uma hipótese prévia, sem um *screening* de genes candidatos. Assim, é preciso levar em conta que a relevância da informação adquirida com essas novas técnicas depende da confirmação da patogenicidade das variantes genéticas identificadas^{100,101}.

As características biológicas diferentes entre indivíduos normais são em grande parte devidas à ampla variação genética entre eles. Um genoma humano típico contém 5 a 10 milhões de polimorfismos de nucleotídeo único (variantes com uma frequência na população maior que 1%) e entre 25.000 a 50.000 variantes mais raras, encontradas em menos de 0,5% da população¹⁰².

Um consenso do Colégio Americano de Genética e Genômica Médicas, da Associação para Patologia Molecular e do Colégio de Patologistas Americanos foi desenvolvido para guiar a interpretação de variantes genéticas, que foram classificadas em cinco categorias: “patogênicas”, “provavelmente patogênicas”, “benignas”, “provavelmente benignas” ou “de significado indeterminado”¹⁰³. Essa classificação é baseada em um conjunto de critérios que incluem características das variantes, segregação com a doença em múltiplos membros afetados de uma família, frequência em controles etnicamente pareados e em bases de dados populacionais, resultados em algoritmos computacionais preditivos de patogenicidade (análise *in silico*) e estudos funcionais (análise do efeito da variante sobre a função da proteína).

O fato de uma variante ser do tipo sem sentido (também conhecida como *nonsense*, levando à substituição de um códon normal para um aminoácido por um dos três códons de parada ou término da transcrição - TAA, TAG ou TGA) é, em geral, evidência muito forte de patogenicidade. O mesmo princípio é válido para variantes de mudança de matriz de leitura (*frameshit*, como uma deleção ou inserção de um ou mais nucleotídeos que leva a alteração da matriz de leitura do DNA e a um códon de parada precoce). Mas a patogenicidade de substituições de nucleotídeo que provocam apenas a troca de códons para aminoácidos diferentes (variantes *missense*, de sentido trocado ou não-sinônimas) precisa ser suportada por uma somatória dos critérios acima descritos.^{102,103}

1.7 Fisiopatologia

Apesar de os núcleos da base serem tradicionalmente implicados na patogênese da distonia, o que é corroborado por evidências neuropatológicas, estudos de neuroimagem e modelos animais, um volume crescente de observações tem mostrado que as anormalidades não são limitadas a essas estruturas¹⁰⁴. De fato, as bases anatômicas da distonia são mais complexas e anormalidades envolvem outras regiões, incluindo o córtex cerebral, o cerebelo, o tálamo, o tronco cerebral e a medula espinhal, suportando o conceito de um modelo em rede, com distonia sendo o resultado da disfunção em um ou múltiplos nodos ou ainda da comunicação aberrante entre eles¹⁰⁵.

Papel de destaque nesse modelo em rede tem sido dado ao cerebelo, já que técnicas de neuroimagem funcional em humanos demonstram que disfunção cerebelar é uma característica comum das distonias focais e generalizadas e modelos animais têm reforçado a evidência de que cerebelo e núcleos da base interagem para produzir distonia, sendo que a extensão do dano cerebelar pode determinar a progressão ou não do distúrbio do movimento^{106,107}. Além disso, perda de inibição, defeitos na integração sensitivo-motora e neuroplasticidade aberrante, tidos como substratos fisiológicos da distonia, têm como correlatos neuroanatômicos os núcleos da base, o cerebelo e o córtex sensitivo e motor¹⁰⁸.

Contribuição significativa para o entendimento dos mecanismos através dos quais disfunção cerebelar leva a distonia foi fornecida pelos trabalhos de Chen e colaboradores¹⁰⁹. Eles identificaram, em camundongos, uma comunicação rápida, de curta latência, entre cerebelo e núcleos da base, mediada pelos núcleos intralaminares do tálamo, a via cerebelo-tálamo-estriatal (Figura 3). Eles também provaram que, através dela, o cerebelo modula a plasticidade córtico-estriatal e atua no aprendizado motor, demonstrando que estimulação córtico-estriatal de alta frequência, que em geral leva a depressão de longa duração, é revertida para potenciação de longa duração, se há estimulação cerebelar concomitante. Nesse mesmo estudo, eles promoveram rápido alívio da distonia em um modelo animal através da interrupção da ligação entre cerebelo e núcleos da base. Eles concluíram que, sob condições

fisiológicas, essa via permite uma rápida correção dos movimentos e otimização da atividade muscular e, sob condições patológicas, causa distúrbios do movimento, como distonia. Essas descobertas tornam plausíveis abordagens terapêuticas envolvendo o tálamo e o cerebelo.

Tão complexos quanto o espectro clínico e as bases anatômicas e fisiológicas da distonia são seus mecanismos moleculares. As descobertas no campo da genética têm revelado que alterações em vias moleculares diversas são relacionadas a distonia, incluindo síntese de dopamina, componentes do citoesqueleto, fatores de transcrição e de regulação da expressão de genes-alvo, regulação do ciclo celular, canais iônicos, produção e degradação de proteínas, metabolismo energético, interação com proteínas sinápticas, modulação da liberação de neurotransmissores e apoptose (Figura 4)¹¹⁰.

A Pathway for short latency communication between the cerebellum and basal ganglia

FONTE: Tewari et al, 2017¹⁰⁶

CN: núcleos cerebelares profundos; CL: núcleo centrolateral em roedores, que corresponde aos núcleos intralaminares em humanos; St: estriado.

Figura 3: Via de comunicação de curta latência entre cerebelo e núcleos da base (via cerebelo-tálamo-estriatal).

FONTE: Lohmann & Klein, 2013¹¹⁰

Figura 4: Diferentes vias moleculares relacionadas a distonia.

Um estudo recente mostrou que esses diferentes mecanismos se interconectam, apontando para a existência de uma convergência no nível molecular de diferentes síndromes distônicas. Em um modelo de camundongo com *knock out* do gene *THAP1* em células neuronais e gliais, com expressão de menos de 5% do RNA mensageiro produzido pelo gene no córtex cerebral, estriado e cerebelo, Frederick e colaboradores¹¹¹ encontraram expressão anormal de 230 genes no estriado e de 1189 no cerebelo, envolvidos na regulação do citoesqueleto, desenvolvimento do sistema nervoso, gliogênese, sinalização sináptica dopaminérgica, transmissão sináptica e homeostase de íons. Entre eles estavam genes associados a distonia em humanos, incluindo *TUBB4A*, *GCH1*, *TH*, *PNKD*, *SLC2A1*, *PRRT2*, *SGCE*, *DRD2* (receptor de dopamina subtipo D2), *RELN*, *ATP1A3*, *CIZ1*, *ANO3*, *GNAL*, *KCTD17*, *CACNA1B*, *COL6A3* e *KMT2B*.

1.8 Epidemiologia e relevância clínica

Há uma ampla variação nas estimativas de prevalência para distonia primária entre os estudos, sendo de 2 a 50 casos por 1.000.000 de indivíduos para as distonias de início precoce e de 30 a 7.320 casos por milhão para

aquelas de início tardio, e essa discrepância ocorre por diferenças no desenho dos estudos, na população estudada e nos critérios diagnósticos adotados, comprometendo a validade e influenciando a comparabilidade dos resultados¹¹². Uma meta-análise incluindo 15 estudos, sendo 3 deles populacionais e 12 baseados em dados coletados em serviços de saúde, calculou uma prevalência de 16,43 casos por 100.000 para todas as distonias e de 15,36 para distonias focais e segmentares¹¹³. Os autores reconheceram que esses números devem estar subestimados e que determinar uma estimativa precisa da prevalência de distonias é um desafio, devido a questões metodológicas e ao subdiagnóstico.

É desafiador, mas fundamental para o desenvolvimento de políticas de saúde e estratégias de tratamento, não somente conhecer a epidemiologia clínica, mas também aprofundar o entendimento das bases fisiopatológicas e genéticas das distonias, dado o impacto negativo que essa condição exerce sobre a vida dos pacientes. De fato, distonia é associada a comprometimento da qualidade de vida e resulta em prejuízo da capacidade para o trabalho e baixa produtividade¹¹⁴⁻¹¹⁶, devidos não somente à manifestação motora, mas também à ocorrência de sintomas não motores, cuja relevância tem sido cada vez mais reconhecida nos últimos anos¹¹⁷⁻¹¹⁹.

Objetivos

2. Objetivos

O objetivo primário deste estudo é descrever as manifestações clínicas e os achados genéticos em pacientes com distonia de etiologia desconhecida, isolada ou combinada a parkinsonismo ou mioclonia, sem evidência clínica de neurodegeneração.

Como objetivo secundário, foram analisadas a associação de algumas variáveis clínicas com a positividade nos testes genéticos realizados e a correlação entre número de sintomas não motores e a gravidade dos sintomas motores.

Métodos

3. Métodos

Trata-se de um estudo retrospectivo e predominantemente descritivo, no qual foram analisados os resultados da base de dados criada pela Rede Brasileira para o Estudos das Distonias.

3.1 Rede Brasileira para o Estudo das Distonias

A Rede Brasileira para o Estudo das Distonias (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética - CAAE: 46186715.1.2001.0065) é um projeto multicêntrico idealizado pela pesquisadora Dra. Patrícia Maria de Carvalho Aguiar e financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), tendo por objetivo principal caracterizar o perfil clínico e molecular de pacientes brasileiros com distonia idiopática, isolada ou combinada.

3.1.1 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos pacientes com distonia idiopática, com ou sem história familiar, isolada ou combinada a parkinsonismo ou mioclonia, de todas as faixas etárias, sem restrições quanto à idade de início e distribuição corpórea. Dessa forma, foram selecionados indivíduos com as quatro síndromes delimitadas pelo eixo *características clínicas* da classificação mais recente (distonia isolada generalizada de início precoce, distonia isolada focal ou segmentar de início no adulto, distonia-parkinsonismo e mioclonia-distonia), desde que a etiologia fosse desconhecida.

Foram adotados os seguintes critérios de exclusão:

- História e/ou exame clínico sugestivos de etiologia degenerativa;
- História e/ou exame clínico sugestivos de etiologia adquirida, secundária a lesão focal ou dano cerebral difuso, incluindo distúrbios metabólicos, uso de medicamentos, intoxicação ou traumatismo craniano grave;
- Distonia paroxística;

- Presença de outros movimentos involuntários além de distonia, tremor, mioclonia e parkinsonismo;
- Alteração nos exames de neuroimagem.

3.1.2 Recrutamento dos pacientes

O recrutamento dos pacientes foi realizado de forma consecutiva e aleatória em quatro centros neurológicos que possuem grupos especializados em distúrbios do movimento no Estado de São Paulo: Hospital São Paulo (Universidade Federal de São Paulo), Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), Hospital do Servidor Público Estadual e Hospital Santa Marcelina. Nesses quatro centros, os pacientes que preenchiam os critérios de inclusão foram convidados a integrar a pesquisa, após explicação de seus objetivos e métodos. Aqueles que aceitaram participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - anexo 1) e foram submetidos a entrevista clínica, exame neurológico e punção venosa para coleta de 15 ml de sangue periférico.

No caso de paciente com idade menor que 18 anos, o TCLE foi assinado por um responsável legal. Ressonância de encéfalo foi solicitada para pacientes com distonia generalizada, caso o paciente ainda não tivesse realizado esse exame, assim como para pacientes com outros padrões de distribuição corpórea, de acordo com a avaliação clínica. Coleta de amostras de sangue de familiares foi considerada sempre que pudesse ser importante para estabelecer patogenicidade de variantes genéticas.

3.1.3 Avaliação clínica

Os seguintes instrumentos foram utilizados na avaliação clínica:

- Questionário epidemiológico e clínico, incluindo dados como idade, gênero, profissão, escolaridade, origem étnica, história familiar de distonia, antecedentes patológicos e familiares, além de tratamento (anexo 2);
- Heredograma (anexo 3);

- Questionário de sintomas motores, incluindo idade e local de início da distonia, distribuição no momento da entrevista, presença de tremor, gesto antagonista, flutuação diurna dos sintomas e resposta a levodopa (definida como melhora robusta e sustentada com baixas doses da medicação), além de caracterização do parkinsonismo e da mioclonia, quando presentes (anexo 4);
- Questionário de sintomas não motores, uma lista com 29 sintomas diferentes, sendo o paciente orientado a responder SIM quando o sintoma havia estado presente ao menos 3 vezes no mês anterior à entrevista (anexo 5);
- Escala de Fahn-Marsden (FMS)¹²⁰, subescala motora. Essa escala (anexo 6) avalia, através do exame clínico, o grau de distonia em 9 diferentes setores corpóreos, separadamente (olhos, boca, fala/deglutição, pescoço, membros superiores direito e esquerdo, membros inferiores direito e esquerdo e tronco). Escores individuais são obtidos para cada setor (variando de 0 a 8 para olhos, boca e pescoço e de 0 a 16 para as demais partes corpóreas) e somados, podendo o resultado total variar de 0 (ausência de distonia) a 120 (gravidade máxima). A escala de Fahn-Marsden possui também a subescala de incapacidade, que mede a percepção do paciente em relação à sua capacidade de execução de atividades de vida diária, sendo constituída pelos itens fala, escrita, alimentação, deglutição, higiene, ato de vestir-se e deambulação. Essa subescala não foi utilizada no estudo, já que o propósito era obter uma medida objetiva da gravidade dos sintomas motores.

3.1.4 Análise genética

A análise molecular foi realizada no laboratório de pesquisa experimental do Instituto de Ensino e Pesquisa do Hospital Israelita Albert Einstein (IEP-HIAE), sob supervisão da Dra. Patrícia Maria de Carvalho Aguiar.

Em uma primeira etapa, realizada entre os anos de 2012 e 2014, os pacientes foram testados para variantes nos genes *TOR1A*, *GCH1*, *THAP1*, *SGCE* e *ATP1A3*. Aqueles com resposta clínica sustentada a levodopa foram inicialmente testados para variantes no gene *GCH1*. Técnicas básicas de biologia molecular, incluindo PCR (*polymerase chain reaction*), enzimas de restrição e sequenciamento direto (método de Sanger) foram utilizadas.

As amostras de indivíduos que permaneceram sem diagnóstico genético, assim como de novos pacientes recrutados em uma segunda etapa do estudo (2015 a 2017), foram submetidas a pesquisa de variantes em um painel de 12 genes, por sequenciamento de nova geração, que incluiu *TOR1A*, *TUBB4A*, *GCH1*, *TH*, *THAP1*, *SGCE*, *ATP1A3*, *PRKRA*, *CIZ1*, *ANO3*, *GNAL* e *KCTD17*. As variantes identificadas no sequenciamento de nova geração foram validadas por sequenciamento direto.

Para pesquisar grandes deleções nos genes *GCH1* e *SGCE*, que podem não ser identificadas por sequenciamento, PCR quantitativo em tempo real foi realizado.

Variantes não sinônimas tiveram sua patogenicidade interpretada utilizando-se um conjunto de critérios que incluiu frequência em bases de dados populacionais e em controles brasileiros saudáveis, análise da conservação do aminoácido afetado ao longo da evolução, análise *in silico* e presença de variantes em familiares afetados¹²¹. Cem brasileiros saudáveis maiores de idade e sem parentesco entre si ou consanguinidade com os pacientes foram utilizados como controles. Os seguintes bancos de dados populacionais públicos foram analisados: *Genome Aggregation Database* – gnomAD, Arquivo Brasileiro Online de Mutações – ABraOM e Iniciativa Brasileira em Medicina de Precisão – BIPMed. E, para a análise *in silico*, foram utilizados os escores dos algoritmos *Polymorphism Phenotyping version 2* (PolyPhen-2), *Sorting Intolerant From Tolerant* (SIFT), Mutation Taster, *Protein Variation Effect Analyzer* (PROVEAN) e *Combined Annotation-Dependent Depletion* (CADD).

Os pacientes que desejaram saber o resultado dos testes foram submetidos a aconselhamento genético. O projeto envolveu risco mínimo, caracterizado pelo desconforto pela picada da agulha para a coleta de sangue periférico.

3.2 Dados utilizados no presente estudo

No presente estudo, foram analisados os resultados gerados pela Rede Brasileira para o Estudo das Distonias referentes aos pacientes acompanhados no ambulatório de distúrbios do movimento do HCFMUSP. A avaliação clínica de todos esses pacientes foi realizada pelo mesmo investigador. Esses dados foram utilizados para classificar os sintomas dos pacientes de acordo com a classificação de 2013 e descrever as variantes genéticas identificadas.

Somente as variantes interpretadas como “patogênicas” ou “provavelmente patogênicas” foram consideradas causa de distonia¹⁰³. A descrição dessas variantes seguiu a recomendação da *Human Genome Variation Society*¹²².

3.3. Análise estatística

Os dados são mostrados como média, mediana, desvio padrão ou proporção (%). Comparações foram realizadas utilizando o teste t de Student (para dados paramétricos) ou teste exato de Fischer (para dados não paramétricos). O teste de Spearman (r_s) foi utilizado para avaliar correlações. Análise multivariada foi realizada com teste de regressão logística. Foi utilizado o programa estatístico *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS 22.0) e foi considerado $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

3.4 Aspectos éticos

Esse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP (CAAE 62697316.7.0000.0068).

Resultados

4. Resultados

4.1 Características clínicas

A amostra final foi constituída por 83 probandos e 4 familiares, totalizando 87 pacientes, com média de idade de 42,8 anos (variando de 12 a 84 anos, desvio padrão de 18,6), sendo 53 (60,9%) do gênero feminino. Seis pacientes apresentavam menos de 18 anos, sendo 4 probandos e 2 familiares. Ascendência brasileira foi a mais frequentemente relatada (45 pacientes ou 51,7% da amostra), seguida da italiana (15 pacientes), portuguesa (5), espanhola (4), alemã (4), japonesa (4), italiana/espanhola (4), italiana/portuguesa (2), italiana/alemã (1), espanhola/portuguesa (1), polonesa/japonesa (1) e síria/portuguesa (1).

História familiar positiva para distonia e consanguinidade foram relatadas por 16 e 3 pacientes (18,4 e 3,4%), respectivamente.

O escore na FMS variou de 0 a 76 pontos, com média de 15,6 (desvio padrão de 15,9) e mediana de 8,25 pontos.

4.1.1 Idade de início

A idade de início da distonia variou de 1 a 68 anos (média $22,4 \pm 18,4$ anos). Na maioria dos pacientes, os primeiros sinais da doença surgiram até 20 anos de idade (63,2%). A Figura 5 mostra a distribuição da amostra de acordo com a idade de início.

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

Figura 5: Idade de início da distonia em 87 pacientes.

4.1.2 Distribuição corpórea

Cerca de metade dos pacientes apresentava distonia focal ou segmentar (51,7%) e 44,8% apresentavam distonia generalizada (Figura 6). Os sítios de acometimento para as diferentes formas de distonia são mostrados na Tabela 2. Distonia na região cervical foi muito comum, presente em 61 pacientes (70,1%), e distonia laríngea, com disfonia, foi observada em 13 pacientes (15%).

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

Figura 6: Distribuição corpórea em 87 pacientes com distonia.

Tabela 2: Regiões corpóreas acometidas por distonia em 87 pacientes. Pacientes com distonia generalizada apresentavam acometimento do tronco e de ao menos duas outras regiões.

Distribuição corpórea	n
<i>Distonia focal</i>	
Membro superior	1
Membro inferior	2
Câimbra do escrivão	1
Blefarospasmo	7
Cervical	13
Total	24
<i>Distonia segmentar</i>	
Bibraquial	1
Cervical/ laringe	1
Cervical/ membro superior/ laringe	2
Cervical/ membro superior	2
Cervical/ oromandibular	3
Cervical/ tronco	7
Blefarospasmo/cervical/laringe	1
Blefarospasmo/cervical	1
Blefarospasmo/oromandibular	3
Total	21
<i>Multifocal</i>	
MSE/ MIE/ MID	2
MSD/ MSE/ MIE	1
Total	3
<i>Distonia generalizada</i>	
Blefarospasmo	4
Oromandibular	8
Laringe	9
Cervical	31
Membros superiores	37
Membros inferiores	28
Total	39

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

MSE: membro superior esquerdo; MIE: membro inferior esquerdo; MID: membro inferior direito; MSD: membro superior direito.

4.1.3 Padrão temporal

A distonia foi progressiva em 61 pacientes (70%) e todos os pacientes apresentavam distonia persistente, exceto um com distonia tarefa específica (câimbra do escrivão). Flutuação da intensidade dos sintomas ao longo do dia foi referida por 18 pacientes (20,6%).

4.1.4 Manifestações motoras associadas à distonia

Três pacientes apresentavam parkinsonismo e dois mioclonia. A maior parte da amostra (94,3%) foi constituída por casos de distonia isolada (Tabela 3).

Tabela 3: Manifestações motoras associadas à distonia em 87 pacientes.

Manifestações associadas à distonia	n	%
Distonia isolada	73	84
Início ≤ 20 anos	41	
Início > 20 anos	32	
Distonia isolada com resposta a levodopa	9	10,3
Início ≤ 20 anos	9	
Início > 20 anos	0	
Distonia combinada com parkinsonismo	3	3,4
Início ≤ 20 anos	2	
Início > 20 anos	1	
Distonia combinada com mioclonia	2	2,3
Início ≤ 20 anos	2	
Início > 20 anos	0	
Total	87	100

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

Tremor foi observado em 47 pacientes (54%). Onze pacientes (12,6%) apresentavam distonia dopa-responsiva, incluindo dois com parkinsonismo. Quarenta e sete pacientes (54%) referiram algum gesto antagonista.

4.1.5 Outras manifestações neurológicas ou sistêmicas

Setenta e oito pacientes (89,6%) relataram algum sintoma não motor e quase metade referiu mais de cinco sintomas (Figura 7). A queixa mais prevalente foi dor, seguida de ansiedade, déficit de memória e dificuldade para iniciar o sono (Tabela 4). Mais de um terço dos pacientes classificaram a intensidade da dor como grave (Figura 8). Nenhum paciente referiu retenção urinária ou alucinações. O número de sintomas não motores não se correlacionou com o escore de gravidade da distonia ($r_s=0,11$; $p=0,34$).

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

Figura 7: Número de sintomas não motores relatados por 87 pacientes com distonia.

Intensidade da dor (%)

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

Figura 8: Intensidade de dor relatada por 45 pacientes com distonia.

Tabela 4: Sintomas não motores em 87 pacientes com distonia.

Sintomas não motores	%
Dor	51,7
Ansiedade	44,8
Déficit de memória	36,7
Dificuldade para iniciar o sono	32,2
Tristeza	24,1
Sono fragmentado	21,8
Dificuldade de concentração	20,7
Sonolência excessiva	20,7
Formigamento	18,4
Constipação	18,4
Perda de interesse	17,2
Sonhos vívidos	16,1
Fadiga	14,9
Sudorese excessiva	14,9
Vertigem	13,8
Palpitação	11,5
Falta de ar	10,3
Alteração do olfato	9,2
Perda ponderal	8,0
Redução da libido	8,0
Incontinência urinária	6,9
Náuseas	6,9
Inapetência	6,9
Fome exagerada	6,9
Alteração do paladar	6,9
Disfunção erétil	5,8
Incontinência fecal	2,3

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

4.2 Achados genéticos

Variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas foram identificadas em 29 pacientes, representando um terço da amostra (Tabela 5), todos com início da distonia até 20 anos de idade, exceto em um caso, no qual o início ocorreu aos 22 anos.

Tabela 5: Variantes nos genes *TOR1A*, *TUBB4A*, *GCH1*, *THAP1*, *SCGE* e *PRKRA* em 29 pacientes com distonia. Variantes novas são indicadas em negrito.

Distonia	n	Variante no DNA	Variante na proteína	Tipo
DYT- <i>TOR1A</i>	4	c.904_906delGAG	p.Glu303del	Deleção
DYT- <i>TUBB4A</i>	1	c.883G>A	p.Asp295Asn	Não-sinônima
	7	c.607G>A	p.Gly203Arg	Não-sinônima
DYT- <i>GCH1</i>	1	c.del41_44G	p.Gly15Alafs*51	Deleção
	1	c.439C>T	p.Pro147Ser	Não-sinônima
	7	c.289C>T	p.Gln97*	Sem sentido
DYT- <i>THAP1</i>	1	c.62C>T	p.Ser21Phe	Não-sinônima
	2	c.107_110insG	p.Glu37Glyfs*10	Inserção
	1	c.348delT	p.Ile116Metfs*4	Deleção
DYT- <i>SCGE</i>	1	c.304C>T	p.Arg102*	Sem sentido
DYT- <i>PRKRA</i>	2	c.665C>T/c.665C>T	p.Pro222Leu/p.Pro222Leu	Não-sinônima
	1	c.665C>T/ c.795C>A	p.Pro222Leu/ p.Ser265Arg	Não-sinônima

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

(*) indica códon de parada ou término (variantes sem sentido ou com mudança de matriz de leitura); c: cromossomo; p: proteína; DNA: ácido desoxirribonucleico.

Esse grupo de pacientes, quando comparado àquele que permaneceu sem diagnóstico genético, apresentou início mais precoce da distonia, maior proporção de indivíduos com distonia generalizada, menor proporção de indivíduos com distonia focal e segmentar, além de maior percentual de pacientes relatando história familiar de distonia (Tabela 6). Quando as variáveis idade de início, distribuição corpórea e história familiar foram analisadas em conjunto (análise multivariada), para controle de fatores de confusão, o achado de variantes genéticas causadoras de distonia foi associado, de forma independente, a início mais precoce (OR ajustada de 0,82; 95% IC de 0,73-0,92; $p=0,001$) e história familiar positiva (OR ajustada de 4,93; 95% IC de 1,07-22,5; $p=0,04$).

Tabela 6: Comparação entre pacientes com e sem variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas.

	Positivo (n=29)	Negativo (n=58)	p-value
Idade de início (média $\pm$ DP)	8,3 $\pm$ 4,5	29,5 $\pm$ 18,7	<0,001
Início até 20 anos (%)	96,5	44,8	<0,001
Generalizada (%)	75,8	29,3	<0,001
Focal (%)	6,9	38	0,002
Segmentar (%)	10,3	31	0,03
História familiar (%)	37,9	8,6	0,002

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

Teste t de Student foi utilizado para a variável idade de início e teste exato de Fisher para as demais.

DP: desvio padrão.

As variantes novas identificadas incluíram os tipos não-sinônima (c.883G>A no gene *TUBB4A*, c.439C>T no *GCH1*, c.62C>T no *THAP1* e c.795C>A no *PRKRA*) e deleção ou inserção com mudança de matriz de leitura (c.del41_44G no gene *GCH1*, c.107_110insG e c.348delT no *THAP1*). As variantes não-sinônimas não foram observadas nos cromossomos controles ou em bases de dados populacionais e alteram um aminoácido altamente conservado na proteína. Além disso, foram preditas como deletérias à proteína nas análises *in silico*.

4.2.1 DYT-TOR1A

Três probandos, todos com história familiar positiva para distonia, e um familiar (irmão de um probando), apresentaram deleção do trinucleotídeo GAG no cromossomo 9 (total de quatro pacientes, dois do sexo masculino), constituindo 5,5% do total de pacientes com distonia isolada sem resposta a levodopa. Todos relataram início da doença na primeira década de vida, em um membro (superior em três casos), e em todos houve progressão para forma generalizada. O escore na FMS variou de 16 a 68 pontos, sendo que, em nenhum paciente, foi observada disfonia ou acometimento da musculatura craniana.

Coincidentemente, um dos probandos já havia sido avaliado no ambulatório de distúrbios do movimento do Hospital São Paulo alguns anos antes. Naquela ocasião, deleção GAG em *TOR1A* havia sido identificada nesse paciente e em

seu irmão mais velho, que apresentava câimbra do escrevão bilateral e não foi incluído no presente estudo. Essa família foi relatada na literatura¹²³, mas a informação do diagnóstico genético já estabelecido não foi declarada pelo paciente e por seu pai durante a entrevista clínica.

4.2.2 DYT-*TUBB4A*

Uma variante no gene *TUBB4A* foi identificada em um paciente com distonia de início aos 6 anos de idade, no membro superior direito, com evolução para forma generalizada, de predomínio cervical e com marcante acometimento laríngeo, produzindo disfonia importante (FMS 34, sendo 18 pontos nas seções “fala/deglutição” e “pescoço”). A mesma variante foi identificada no pai e no irmão do paciente, assim como em duas irmãs do pai, todos sem sinais de distonia ao exame neurológico.

4.2.3 DYT-*GCH1*

Variantes no gene *GCH1* foram identificadas em sete probandos e dois familiares, totalizando nove casos (oito do gênero feminino), todos com boa resposta a levodopa e um com distonia-parkinsonismo (Tabela 7). O início da distonia ocorreu entre 2 e 11 anos, nos membros inferiores. Seis pacientes (67%) referiram flutuação da gravidade dos sintomas ao longo do dia. Até o início da medicação, houve progressão para forma generalizada em seis casos e multifocal em dois. O escore na FMS sob levodopa foi de 0 em todos os casos, exceto em uma paciente que apresentava discreta distonia residual em membro superior esquerdo (FMS 4). Dois pacientes com distonia dopa-responsiva permaneceram sem diagnóstico genético.

Tabela 7: Características clínicas de 11 pacientes com distonia dopa-responsiva, 9 com variantes no gene *GCH1*.

Paciente	Gênero	Início (anos)	Sítio inicial	Progressão até levodopa	Parkinsonismo	FMS total	Variante <i>GCH1</i>
A.1	F	7	MID	Generalizada	Não	0	c.607G>A
A.2	F	5	MID	Generalizada	Não	0	c.607G>A
B.1	F	11	MIE	Multifocal	Não	0	c.607G>A
B.2	F	2	MIE	Multifocal	Não	4	c.607G>A
C	M	10	MMII	Generalizada	Não	0	c.del41_44G
D	F	5	MMII	Generalizada	Sim	0	c.607G>A
E	F	5	MMII	Generalizada	Não	0	c.439C>T
F	F	7	MID	Focal	Não	0	c.607G>A
G	F	2	MID	Generalizada	Não	0	c.607G>A
H	F	7	MID	Focal	Não	0	-
I	M	45	Cervical	Generalizada	Sim	9	-

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

F: feminino; M: masculino; MID: membro inferior direito; MIE: membro inferior esquerdo; MMII: membros inferiores; FMS: escala de Fahn-Marsden.

4.2.4 DYT-*THAP1*

Onze pacientes (dez probandos e um familiar) apresentaram variantes no gene *THAP1* (Tabela 8), constituindo 15% do total de pacientes com distonia isolada sem resposta a levodopa. A idade de início variou de 3 a 22 anos e o sítio inicial mais frequente da distonia foi um membro superior ou a região cervical, com progressão para forma generalizada na maioria dos casos. Mais da metade dos pacientes apresentava disfonia. Acometimento crânio-cervical ocorreu em 10 pacientes e contribuiu para percentual maior que 50% na pontuação da FMS em metade deles. A variante sem sentido c.289C>T foi a mais frequente, identificada em quase todos os pacientes, com exceção dos casos A.1/A.2 (c.107_110insG), H (c.62C>T) e I (c.348delT).

Tabela 8: Características clínicas de 11 pacientes com variantes no gene *THAP1*.

Paciente	Gênero	Início (anos)	Sítio inicial	Progressão até o exame	Disfonia	FMS total	FMS craniocervical
A.1	F	15	MSD	Generalizada	Sim	34	24
A.2	F	4	MSD	Segmentar	Não	9	0
B	M	3	MSE	Generalizada	Não	20	8
C	M	10	MSD	Segmentar	Sim	37	21
D	M	22	MSD	Generalizada	Não	20	5
E	M	5	MIE	Generalizada	Sim	76	30
F	M	18	Pescoço	Generalizada	Não	27	4
G	M	10	Pescoço	Segmentar	Não	7	6
H	F	7	MIE	Generalizada	Sim	31	7
I	F	15	Pescoço	Segmentar	Sim	12	8
J	M	9	MSD	Generalizada	Sim	18	11

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

F: feminino; M: masculino; MSD: membro superior direito; MSE: membro superior esquerdo; MIE: membro inferior esquerdo; FMS: escala de Fahn-Marsden.

4.2.5 DYT-SGCE

Uma variante patogênica no gene *SGCE* (c.304C>T) foi identificada em uma paciente com mioclonia-distonia de início aos 10 anos, com sintomas leves no membro superior e ombro direitos (FMS 6) e melhora do quadro após ingestão de álcool. Ela relatava apresentar familiares pelo lado paterno com quadro semelhante ao seu, mas nenhum deles pode ser examinado.

Nenhuma variante foi encontrada no segundo paciente com mioclonia-distonia, sem história familiar, no qual a distonia se iniciou aos 7 anos no membro superior direito e evoluiu para acometimento do membro superior contralateral, pescoço e membro inferior direito (FMS 12,5), com mioclonia responsiva a álcool na parte superior do corpo (membros superiores e tronco).

4.2.6 DYT-PRKRA

Três pacientes (dois do sexo masculino), sem história familiar de distonia, receberam diagnóstico genético de DYT-*PRKRA* (Tabela 9). Em dois deles, foi identificada a variante clássica c.665C>T em homozigose e, no terceiro, a

variante clássica e uma nova variante (heterozigose composta), c.665C>T/c.795C>A.

Os três pacientes apresentavam distonia isolada de início na primeira década de vida, com progressão para forma generalizada em todos e disfonia em dois casos. Um dos pacientes possuía pais consanguíneos.

Tabela 9: Características clínicas de 3 pacientes com variantes no gene *PRKRA*.

Paciente	Gênero	Início (anos)	Sítio inicial	Disfonia	FMS total	FMS craniocervical	Variante <i>PRKRA</i>
A	F	8	MID	Sim	37	12	c.665C>T/c.795C>A
B	M	8	MSE	Não	21	6	c.665C>T/c.665C>T
C	M	6	Laringe	Sim	70,5	12,5	c.665C>T/c.665C>T

FONTE: Silva Junior, Francisco Pereira

F: feminino, M: masculino; MID: membro inferior direito; MSE: membro superior esquerdo; FMS: escala de Fahn-Marsden.

4.2.7 Outras variantes

Variantes de significado indeterminado foram identificadas em duas pacientes, ambas com história familiar positiva. Uma paciente de 51 anos, com distonia isolada de início aos 19, na região cervical, sem posterior acometimento de outros sítios (FMS 6), apresentou variante no gene *KCTD17* (c.G337A/p.E113K). E, em uma paciente de 43 anos, com distonia isolada de início aos 36, também na região cervical e não progressiva (FMS 4), uma variante no gene *GNAL* foi encontrada (c.G910A/p.D304N). Os familiares das pacientes não puderam ser avaliados.

Variantes não patogênicas foram identificadas em 3 pacientes, nos genes *ATP1A3* (variantes c.G2653A/p.V885I e c.A1472G/p.N491S) e *SGCE* (c.G584A/p.R195H).

Discussão

5. Discussão

Em nossa amostra de 87 pacientes com distonia de causa desconhecida, *screening* genético por sequenciamento de nova geração, utilizando um painel composto por 12 genes, identificou variantes em um terço dos casos, nos genes *TOR1A*, *TUBB4A*, *GCH1*, *THAP1*, *SGCE* e *PRKRA*.

Na maioria dos pacientes, a distonia se iniciou até os 20 anos de idade e, conforme esperado, dada a tendência amplamente conhecida de os sintomas distônicos se disseminarem para outras regiões corpóreas nos casos de início precoce¹²⁴, quase metade da nossa amostra apresentava distonia generalizada. Esse dado não reflete a epidemiologia real da distonia, já que as formas focais de início tardio são cerca de dez vezes mais comuns que as formas generalizadas de início precoce¹²⁵. Assim, nós acreditamos que a elevada proporção de pacientes com distonia de início precoce e generalizada seja devida ao fato de os pacientes terem sido selecionados em um hospital terciário que é referência no tratamento clínico e cirúrgico dessa condição.

Recentemente, um estudo realizado em um hospital universitário de Pequim, incluindo 65 pacientes que apresentavam distonia como fenômeno clínico isolado ou principal, utilizou sequenciamento de nova geração para identificar variantes em um painel de 148 genes relacionados a distonia isolada ou associada a parkinsonismo e ataxia¹²⁶. O percentual de pacientes com distonia de início antes de 26 anos de idade foi de 69,2%. Dos oito pacientes com distonia combinada, três apresentavam mioclonia, um parkinsonismo, três disfunção bulbar, um déficit cognitivo leve e um coreia. Variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas foram identificadas em 16 pacientes (24,6%), nos genes *TOR1A*, *GCH1*, *THAP1*, *PRRT2*, *ATP1A3* e *PANK2* (pantotenato quinase 2). Variantes de significado indeterminado foram encontradas em quatro pacientes (6,2%), nos genes *SGCE*, *ANO3*, *ATP1A3* e *TH*. O gene *TOR1A* foi o mais comumente associado a distonia (oito pacientes). Para os autores, a utilização de um painel de genes previamente selecionados é um método útil para o diagnóstico genético de pacientes com distonia, além de ser mais barato e trazer menos problemas de interpretação dos achados, quando comparado às

outras técnicas de sequenciamento de nova geração (sequenciamento completo de exoma e genoma).

No mesmo ano, uma investigação que incluiu 378 pacientes acompanhados em 27 centros terciários franceses especializados em distúrbios do movimento empregou um painel com 127 genes¹²⁷. Os pacientes foram classificados, de acordo com o distúrbio do movimento principal, nas categorias parkinsonismo (n= 181), distonia (135), coreia (25), distúrbio do movimento paroxístico (20) e mioclonia (17). Quase metade da amostra (43,9%) e proporção similar dos pacientes com distonia (41,8%) apresentavam uma combinação de distúrbios do movimento. Chegou-se a um diagnóstico genético em 22% dos casos. Nos pacientes com predomínio de distonia, essa proporção foi de 15,6%, com variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas identificadas nos genes *TOR1A*, *TUBB4A*, *GCH1*, *GNAL*, *ADCY5*, *NKX2-1* (gene associado à coreia hereditária benigna), *PRKCG* (SCA14), *SLC2A1*, *ATP13A2* (síndrome de Kufor-Rakeb), *PARKIN* (atualmente denominado *PRKN*), *PRKRA*, *SPG11*, *SUOX* (deficiência de sulfito oxidase), *MECP2* (síndrome de Rett) e *TIMM8A* (síndrome de Mohr-Tranebjaerg). Os autores concluíram que a análise de um painel de genes apresenta relação custo-eficácia melhor que o sequenciamento de todo o exoma, com menor tempo para se chegar ao diagnóstico.

Em um terceiro estudo, 61 pacientes atendidos no ambulatório de distúrbios do movimento de um hospital terciário da Holanda tiveram seu DNA analisado utilizando um painel de 94 genes relacionados a distonia¹²⁸. Pacientes com outros distúrbios do movimento e outras manifestações neurológicas ou sistêmicas foram incluídos, desde que a distonia fosse o sintoma principal. Cada caso foi também avaliado por dois neurologistas ou neuropediatras experientes, que iriam formular suas estratégias diagnósticas e poderiam solicitar quaisquer exames, incluindo pesquisa de variantes em genes individuais, mas sem recorrer às técnicas de sequenciamento de nova geração, como o painel de genes. Essas 122 avaliações serviram como grupo controle. Na maioria dos pacientes (72%), a distonia teve início até os 20 anos. Diagnóstico genético foi obtido em 14,8% dos casos com o emprego do painel de genes e em 7,4% após a avaliação dos *experts* (p=0,096). Variantes foram identificadas nos genes *PRKRA*, *MECP2*, *GCDH* (acidemia glutárica I), *PRRT2*, *TH* e *NPC1* (Niemann-Pick tipo C1). A

utilização do painel de genes, quando comparada à estratégia controle, reduziu consideravelmente o custo médio (em 30%) e o tempo para o diagnóstico (28 *versus* 102 dias).

Esses três estudos reforçam a validade da técnica utilizada na presente investigação, mas um perfil amostral diferente foi incluído, limitando a comparabilidade dos resultados. A inclusão de um perfil mais homogêneo de pacientes pode explicar nossa maior proporção de casos positivos para variantes, mesmo que a quantidade de genes estudados tenha sido menor.

A deleção GAG no gene *TOR1A* tem sido relatada em 80% dos casos de distonia de início precoce entre judeus Ashkenazi e em proporções menores e variadas (16 a 53%) entre indivíduos de outros grupos étnicos¹²⁹. Nos nossos pacientes com distonia isolada sem resposta a levodopa de início até 20 anos, as prevalências de DYT-*TOR1A* e DYT-*THAP1* foram de 4/41 (9,7%) e 10/41 (24,4%), respectivamente. É possível que o predomínio de DYT-*THAP1* reflita as características étnicas da nossa população, constituída predominantemente por indivíduos com ascendência brasileira. Alguns estudos realizados em nosso país também encontraram variantes em *TOR1A* em proporções menores que as relatadas na literatura estrangeira.

Em 68 pacientes acompanhados no ambulatório de distúrbios do movimento da Universidade Estadual de Campinas, nenhum paciente apresentou variante em *TOR1A* e uma variante nova foi identificada no gene *THAP1* em um paciente¹³⁰. Os autores não especificaram a idade de início dos sintomas nos pacientes submetidos a teste genético. Porém, da amostra inicial de 78 pacientes (em 10 a análise genética não foi realizada), 11 (14%) apresentaram início da distonia até 20 anos.

De 82 pacientes com distonia acompanhados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná, 2 apresentaram deleção GAG no gene *TOR1A* (2,4%). A proporção de casos com distonia de início precoce não foi relatada. Os pacientes apresentavam distonia de diferentes distribuições corpóreas (generalizada em um terço dos casos), todos com acometimento da região cervical¹³¹.

Em 21 pacientes com distonia primária acompanhados na Universidade Federal de São Paulo, sendo 81% com início dos sintomas até 20 anos e 62%

com distribuição generalizada, De Carvalho Aguiar e colaboradores¹²³ identificaram uma variante em *TOR1A* (4,7%) e uma outra em *THAP1* (4,7%).

A prevalência de DYT-*THAP1* foi elevada na nossa amostra e se aproximou daquela relatada por Bressman e colaboradores⁵⁸ ao investigar 36 famílias europeias, sem variantes no gene *TOR1A*, com ao menos um indivíduo acometido por distonia de início antes dos 22 anos. Eles encontraram variantes em *THAP1* em 9 famílias (25%) e em 19 dos 104 indivíduos afetados (18%). Poderia ser argumentado que a prevalência na nossa amostra seja devida ao predomínio de pacientes com distonia de início precoce e à proporção também significativa de casos com envolvimento cervical. No entanto, entre 74 pacientes brasileiros com distonia, sem variantes em *TOR1A*, todos com acometimento cervical, DYT-*THAP1* foi diagnosticada em 3 indivíduos (4%)¹³². Também nesse estudo, a proporção de pacientes com início precoce não foi especificada, mas o percentual daqueles com distonia generalizada era de 31,1%.

Das 4 variantes identificadas nos 11 pacientes com DYT-*THAP1*, 3 não haviam sido relatadas na literatura¹³³, e agora integram uma base de dados, criada em 2011, composta por dados clínicos e genéticos de pacientes com essa forma de distonia, a *Universal Mutation Database THAP1*¹³⁴.

Variantes em *TUBB4A* têm sido mais comumente relatadas em casos de hipomielinização com atrofia de núcleos da base e cerebelo¹³⁵ e sua associação com distonia isolada tem sido muito raramente descrita. Zech e colaboradores¹³⁶ não encontraram variantes nesse gene em um *screening* de 709 pacientes com distonia isolada e o mesmo resultado foi obtido por Vemula e colaboradores¹³⁷, que incluíram 575 indivíduos. Além da família original inglesa/australiana, raros pacientes foram descritos^{44,127,138}. É importante ressaltar que a variante em *TUBB4A* identificada em nosso paciente também estava presente em familiares assintomáticos, indicando penetrância incompleta, na contramão do que foi observado na família original. Considerando que essa forma de distonia é extremamente rara, estimativas de penetrância são difíceis de serem realizadas. Aparentemente, familiares dos outros casos recentemente relatados não foram avaliados. Pode ser argumentado que a variante identificada não seja a responsável pela distonia do nosso paciente. No entanto, a análise *in silico* mostrou que ela provoca alterações na estrutura da β -tubulina 4A, de forma

semelhante ao que ocorre com a variante descrita na família original, sugerindo consequências funcionais¹³⁹. É possível também que penetrância completa seja uma característica da variante encontrada na família inglesa/australiana.

Variantes no gene *GCH1* foram identificadas em 9 de 11 pacientes (81,8%) com distonia dopa-responsiva. Em um estudo que incluiu 64 indivíduos com distonia dopa-responsiva, foram analisados genes de enzimas envolvidas na biossíntese e reciclagem de tetrahydrobiopterina, incluindo *GCH1*, *TH*, *SPR* (sepiapterina redutase), *PTS* (piruvil-tetrahydropterina sintase), *PCBD* (pterina-4a-carbinolamina desidratase) e *QDPR* (dihidropteridina redutase), além de variantes no gene *PARKIN* (ou *PRKN*). Variantes em *GCH1*, incluindo grandes deleções, foram encontradas em 47 pacientes (73,4%). Variantes em *TH* e *SPR* foram identificadas em três e dois pacientes, respectivamente, todos com distonia combinada a parkinsonismo e, em alguns casos, prejuízo intelectual e crises oculóginas. Uma paciente com distonia de início nos membros superiores aos 16 anos, associada a tremor postural e de ação, com resposta sustentada a levodopa e sem discinesias (seguimento de 7 anos) apresentou variante no gene *PARKIN*¹⁴⁰. É possível que haja casos de parkinsonismo genético entre nossos pacientes com distonia dopa-responsiva sem variantes em *GCH1*, sobretudo considerando que um deles apresentava distonia de início mais tardio (aos 43 anos), combinada com parkinsonismo. Um fenótipo particular de pacientes com *DYT-GCH1*, que ocorre sobretudo em homens, inclui início tardio (quarta ou quinta década de vida), com tremor (distônico ou de repouso) em membros superiores ou com parkinsonismo sem tremor, associados a distonia leve, levando a dificuldade importante de diferenciação clínica com parkinsonismo de início precoce⁴⁸. Apesar de a presença de discinesias induzidas por levodopa favorecerem o diagnóstico de *PARK-PRKN*, casos de *DYT-GCH1* têm sido relatados nos quais discinesias estão presentes¹⁴¹. Assim, as apresentações dessas duas condições podem mostrar considerável sobreposição.

Nós identificamos uma paciente com uma variante já descrita no gene *SGCE*, que representa 50% da nossa amostra de pacientes com mioclonia-distonia. Ela apresentava história familiar positiva, com familiares do pai possivelmente acometidos, o que é compatível com expressão paterna do gene da doença. A presença de história familiar a classifica como portadora de

mioclonia-distonia estabelecida, ao passo que o paciente no qual nenhuma variante foi identificada pode ser enquadrado no grupo mioclonia-distonia provável¹⁴².

Seis membros das três famílias brasileiras nas quais a rara distonia DYT-*PRKRA* foi inicialmente relatada foram reexaminados e dois fenótipos distintos, que podem ocorrer na mesma família, foram observados: distonia isolada generalizada e distonia-parkinsonismo não responsivo a levodopa¹⁴³. Nossos três pacientes com variantes em *PRKRA* se enquadram no primeiro grupo. Uma paciente apresentava variantes em heterozigose composta (c.665C>T/c.795C>A). Embora a maioria dos pacientes descritos apresentem a variante originalmente identificada c.665C>T em homozigose^{81,144-146}, dois outros relatos nos quais variantes diferentes ocorrem em cada alelo do gene foram publicados.

Lemmon e colaboradores¹⁴⁷ descreveram um paciente que, aos 13 meses de vida, apresentou uma doença febril, com sintomas neurológicos durante a evolução (sonolência, hipotonia, bradicinesia e hiperreflexia), com exames normais, incluindo líquido cefalorraquidiano, ressonância de encéfalo e pesquisa de algumas doenças metabólicas. Aos 18 meses, ele iniciou quadro de distonia em membros superiores, que evoluiu para envolver o tronco e a musculatura oromandibular. Aos 15 anos, apresentava distonia generalizada, com hiperreflexia, e seguia comandos simples, mas sem fala espontânea. A ressonância de encéfalo mostrava atrofia cerebral difusa e de núcleos da base. Após extensa investigação etiológica negativa, o sequenciamento de exoma revelou uma variante diferente em cada alelo do gene *PRKRA* (c.665C>T/c.637T>C).

Em duas irmãs brasileiras com distonia isolada e disfonia, duas novas variantes em *PRKRA* (c.230G>C/c.638G>T) foram relatadas por De Carvalho Aguiar e colaboradores¹⁴⁸. Assim, a variante c.795C>A encontrada em nossa paciente é a quinta identificada entre os casos de DYT-*PRKRA*¹⁴⁹.

Menor idade de início dos sintomas e história familiar de distonia foram significativamente associados à presença de variante causadora de distonia. Esse não é um achado novo. De fato, idade de início precoce e história familiar já eram conhecidos preditores de positividade para variantes em *TOR1A* quando

esse ainda era o único gene descrito como causa de distonia isolada³². Mais recentemente, a identificação de novos genes relacionados a distonia isolada em famílias com doença de início tardio e distribuição focal ou segmentar, como *CIZ1*, *ANO3* e *GNAL*, levou a expectativas de que variantes nesses genes pudessem explicar formas mais comuns de distonia na população geral, como distonia cervical e blefarospasmo. No entanto, esses genes têm sido raramente associados a casos de distonia, com algumas variantes identificadas apresentando patogenicidade questionável¹⁵⁰⁻¹⁵². As distonias focais de início tardio devem compartilhar fatores de risco genéticos em comum, com genes adicionais, fatores ambientais ou ambos determinando as diferenças clínicas e neurofisiológicas individuais de cada forma particular¹⁵³.

No nosso grupo de 58 pacientes nos quais variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas não foram encontradas, há uma proporção elevada de casos com início da distonia até 20 anos (44,8%) e alguns apresentam história familiar positiva (8,6%), indicando causa genética. Isso significa que genes ainda não identificados exercem um papel importante na etiologia das distonias classificadas como idiopáticas. Além disso, é importante considerar que variantes hoje classificadas como de significado indeterminado, identificadas em duas pacientes, podem, no futuro, ser enquadradas em uma outra categoria (patogênica ou não patogênica), dependendo dos resultados em testes que analisem o impacto da variante na função da proteína (testes funcionais), assim como da avaliação de novos casos que venham a surgir nas famílias dos probandos (análise de segregação familiar).

Quase 90% dos nossos pacientes relataram algum sintoma não motor. É importante ressaltar que instrumentos validados ou testes diagnósticos objetivos para condições como ansiedade, depressão, insônia ou déficits cognitivos não foram empregados. O questionário utilizado foi um interrogatório de sintomas não motores, incluídos na nova classificação como parte do eixo características clínicas. Além disso, o desenho do estudo não nos permite, por não ser um de seus objetivos, avaliar se essas queixas não motoras são mais prevalentes em pacientes com distonia. Em um estudo que incluiu 40 pacientes com distonia cervical e utilizou uma lista de 15 sintomas não motores, 95% dos pacientes relataram ao menos 1 sintoma e 62,5% experienciaram 5 ou mais. Os sintomas

mais comuns foram fadiga (76,3%), dor (71,8%), dificuldade para iniciar ou manter o sono (62,5%) e perda da autoconfiança (55,3%). Os achados desse estudo são semelhantes aos nossos, inclusive em relação à ausência de correlação entre o número de sintomas relatados e a gravidade da distonia¹⁵⁴. Outras investigações sobre sintomas não motores em pacientes com distonia têm concluído que dor, distúrbios do humor e outros sintomas psiquiátricos, déficits cognitivos e má qualidade do sono, itens do questionário que foram mais relatados por nossos pacientes, são muito prevalentes, causados por um conjunto de fatores, incluindo a presença do sintoma motor, os medicamentos utilizados e o próprio defeito primário no processamento neuronal ou neuroquímico que leva à distonia¹⁵⁵. A constatação de manifestações não motoras frequentes na distonia, das formas geneticamente determinadas de início precoce às focais de início no adulto, torna inadequado o uso do termo distonia primária da antiga classificação¹⁵⁶.

A caracterização clínica dos pacientes incluídos neste estudo foi feita utilizando-se a classificação mais recente para distonias³⁰. Sasikumar e colaboradores¹⁵⁷ analisaram 990 artigos científicos que incluíam a palavra distonia no título, publicados entre os anos 2013 e 2018, e concluíram que a nova classificação foi empregada corretamente em cerca de 60% deles e que houve um aumento na sua utilização ao longo dos anos. Apesar desses resultados indicarem boa aceitação, não implicam em ausência de inconvenientes em sua adoção. De fato, van Egmond e colaboradores¹⁵⁸ observaram uma baixa concordância entre avaliadores quando utilizando o eixo “características clínicas”, por interpretação variável de seus itens. Nesse estudo, cada um de 56 relatos de caso foram apresentados a 2 de 8 especialistas internacionais em distúrbios do movimento e 100% de concordância entre ambos foi observada em apenas 9 casos (16%). Esse não foi um problema observado no presente estudo, já que todos os nossos pacientes foram examinados por um mesmo avaliador.

Considerando a importância histórica do sistema de nomenclatura da HUGO para formas familiares de distonia (DYT1, DYT6,...) e seu uso arraigado na prática clínica e na literatura, nós optamos aqui por utilizá-lo na seção “Genética das distonias”. Após descrevermos a proposta mais recente para

nomenclatura dos distúrbios do movimento genéticos (DYT-*TOR1A*, DYT-*THAP1*...), passamos a adotá-la ao longo do texto. Consideramos esse recurso mais adequado porque, diferente da recomendação atual, a antiga lista inclui formas familiares para as quais nenhum gene foi descrito até o momento (como DYT7, DYT13, DYT15, DYT17 e DYT21). É importante ressaltar que a nova nomenclatura têm sido alvo de críticas, relacionadas, por exemplo, à escolha do prefixo que caracteriza o fenótipo mais proeminente, por vezes feita de forma arbitrária, principalmente quando se leva em consideração a heterogeneidade fenotípica das causas genéticas associadas a distúrbios do movimento^{159,160}.

Pacientes com DYT-*TOR1A* costumam apresentar boa resposta a estimulação dos globos pálidos internos, mas o percentual de respondedores e o impacto sobre a gravidade da distonia é menor naqueles com DYT-*THAP1*¹⁶¹. Ausência de resposta foi observada em pacientes com DYT-*ATP1A3*, incluindo portadores de distonia isolada, sugerindo que a etiologia, e não somente a característica clínica, é determinante do resultado à estimulação cerebral profunda¹⁶². Assim, o diagnóstico genético tem sido visto como parte integrante do algoritmo de tomada de decisões no tratamento de pacientes com distonia¹⁶³. Tem sido também mostrado que pacientes com tremor cefálico distônico se beneficiam de estimulação de núcleos talâmicos¹⁶⁴. Assim, o tálamo poderia ser o alvo mais indicado em formas de distonia com predomínio de tremor, como DYT-*ANO3*¹⁶⁵. Esses dados evidenciam a importância do diagnóstico genético na seleção dos pacientes, na previsão dos resultados e até na escolha da estrutura alvo para implante do eletrodo.

Conclusão

6. Conclusão

Os trabalhos da Rede Brasileira para o Estudo das Distonias permitiram identificar diferentes formas geneticamente determinadas de distonia na população brasileira e novas variantes para genes conhecidos foram descritas. A identificação de casos de distonias muito raras, como DYT-*TUBB4A*, contribui inclusive para a aceitação do gene como causa de distonia isolada, já que a descrição de casos semelhantes em outras populações é um dos critérios para se estabelecer uma relação causal entre gene e doença. Novos genes que venham a ser identificados como causadores de distonia poderão ser testados naqueles que permaneceram sem diagnóstico genético. Para nossos pacientes, o benefício trazido por este estudo vai além do conhecimento da etiologia da distonia e do aconselhamento genético. Esperamos que, em um futuro próximo, eles possam ser beneficiados pelo desenvolvimento de tratamentos clínicos e cirúrgicos personalizados e mais eficazes.

Anexos

Anexo 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Rede Brasileira para o Estudo das Distonias

Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária na pesquisa científica chamada “**Rede Brasileira para o Estudo das Distonias**”. O objetivo desse estudo é investigar alterações clínicas e genéticas das distonias e convidamos pessoas com distonias e pessoas saudáveis a participar. Hoje sabemos que algumas pessoas apresentam algumas alterações genéticas que podem ou não provocar algumas doenças.

Conhecemos os genes que causam algumas doenças, entretanto, existem muitas outras em que os genes ainda são desconhecidos. Esse conhecimento é importante, pois permite uma maior compreensão dessas doenças e é o primeiro passo para tentarmos encontrar um tratamento mais satisfatório ou mesmo a cura das mesmas. Esses estudos podem demorar muitos anos, e talvez você não seja diretamente beneficiado, mas sua contribuição voluntária neste momento é muito importante para permitir o avanço da pesquisa científica.

Este estudo será realizado da seguinte maneira:

- Inicialmente você realizará uma consulta médica com um neurologista para nos certificarmos que você poderá participar deste estudo. Receberá informações sobre o significado de um teste genético e fará um exame médico de rotina. Para melhor estudo das distonias, seu médico poderá filmá-lo, mas apenas com sua autorização. Você tem ampla liberdade de não querer ser filmado, e poderá continuar participando deste estudo normalmente. O vídeo será utilizado unicamente em reuniões científicas para a discussão de casos entre profissionais da saúde. Não será disponibilizado para qualquer meio impresso ou televisivo, e sua identidade será preservada;
- Você terá que fazer um exame de sangue. Durante a coleta de sangue de uma veia do antebraço, você poderá sentir algum desconforto pela picada da agulha e poderá apresentar uma mancha roxa por alguns dias, no local onde o sangue for coletado, mas isso nem sempre acontece. Se isso vier a ocorrer, os pesquisadores deste estudo

estarão à sua disposição para esclarecimentos e orientações. Caso a coleta de sangue não seja possível, poderemos coletar saliva por método indolor, através da dispensação da mesma num potinho. O sangue/ saliva colhido será utilizado para o estudo genético das pessoas com distonia. Pessoas saudáveis não serão testadas para os genes de interesse, mas poderão ter seu DNA comparado ao de pacientes para identificar diferenças que estejam relacionadas à doença;

- A análise do DNA será feita do laboratório do Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein, em São Paulo. Inicialmente estudaremos alterações em alguns genes relacionados às distonias (*TOR1A*, *THAP1*, *GCH1*, *SGCE*, *ATP1A3*, *PRKRA*, *GNAL*, *ANO3*, *CIZ1*, *TUBB4*, *TH*, *PLA2G6*, *DDC*). Para a identificação de novos genes relacionados à doença, pode ser que um estudo mais amplo de todo o genoma seja necessário. Havendo material remanescente após o final deste estudo, mediante sua autorização, ele poderá ficar guardado no Hospital Israelita Albert Einstein, sob a supervisão da investigadora responsável pela pesquisa, e ser utilizado em pesquisas futuras, após aprovação dos novos projetos pelo Comitê de Ética em Pesquisa e, se for o caso, pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), mediante a obtenção de outro termo de consentimento específico para o novo estudo, conforme artigo 18 da Portaria Nº 2.201, de 14 de setembro de 2011, que estabelece as diretrizes nacionais para biorrepositório e biobanco de Material Biológico Humano com Finalidade de Pesquisa;
- Caso você não autorize a guarda do seu material, ele será devidamente destruído, respeitando as normas de descarte de material biológico padronizadas;
- Este projeto não envolve qualquer tipo de tratamento ou acompanhamento médico, nem emissão de laudos. Seu acompanhamento médico continuará a ser feito pelo seu próprio médico assistente, dentro da rotina do serviço onde você já faz seu acompanhamento. Quaisquer dúvidas a respeito de seu diagnóstico e

de seu tratamento deverão ser esclarecidas junto ao seu médico assistente;

Rubrica do participante: _____

Rubrica do pesquisador: _____

- Você tem o direito de querer ou não ser informado sobre o resultado do seu exame. Os testes realizados neste projeto não terão influência sobre o seu diagnóstico ou tratamento. Algumas variantes genéticas poderão ser identificadas, mas podem não ter um significado específico quando analisadas isoladamente. Caso identifiquemos alguma variante que possa estar relacionada de maneira inequívoca à sua doença e você deseje conhecer este resultado, ele poderá ser comunicado a você pelo seu médico assistente e pela pesquisadora responsável por este estudo, com aconselhamento genético, quando todos os esclarecimentos necessários serão fornecidos. Você deverá manter seu endereço e telefone constantemente atualizados junto ao seu médico assistente, para que possa ser contatado pelo mesmo e informado sobre estes resultados ou resultados futuros que possam ser de seu interesse;
- A sua identidade não será revelada, apenas os pesquisadores responsáveis pelo estudo terão acesso aos seus dados;
- Os resultados desta pesquisa serão divulgados no meio científico (revistas, livros e congressos médicos, sítios de internet) em mídia impressa ou digital (internet). O seu nome permanecerá em absoluto sigilo, não será divulgado em nenhum desses meios;
- Você terá o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;
- O estudo será totalmente gratuito, você não terá que pagar nada por ele e nem receberá compensação financeira pelo mesmo;

- Caso venha a sofrer algum dano comprovadamente causado por algum procedimento deste estudo, você terá direito à assistência médica no seu centro de recrutamento e às indenizações legais cabíveis;
- Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A investigadora responsável por este estudo é a Dra. Patrícia Maria de Carvalho Aguiar, que poderá ser encontrada no Laboratório de Pesquisa Experimental do Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein, Av. Morumbi 627/701- piso Chinuch - São Paulo - SP CEP 05651-901, tel. 21512148. O investigador responsável na FMUSP é o Dr. Egberto Reis Barbosa e poderá ser encontrado do Hospital das Clínicas- FMUSP, divisão de Neurologia, Av. Enéas Carvalho de Aguiar 255 São Paulo - SP, Tel: 26618414;
- Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEP-FMUSP): Av. Dr. Arnaldo, 251 - Cerqueira César - São Paulo - SP -21º andar – sala 36- CEP: 01246-000 Tel: 3893-4401/4407. Email: cep.fm@usp.br;
- É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento deixando de participar do estudo. Caso você não queira ou desista de participar desse estudo, isto não o prejudicará em nada com relação ao seu acompanhamento médico de rotina, caso venha a necessitar do mesmo.

Rubrica do participante: _____

Rubrica do pesquisador: _____

DECLARAÇÃO

Acredito ter sido suficientemente esclarecido a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo a pesquisa “**Rede Brasileira para o Estudo das Distonias**” Eu discuti com (nome do pesquisador) _____ sobre a minha decisão em participar deste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Compreendo que minha participação neste estudo não implica em nenhum tipo de diagnóstico, tratamento, laudo ou acompanhamento médico. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste serviço.

Destino do material biológico ao final do estudo (**escolha alternativa A ou B**):

A) Não autorizo o armazenamento em biorrepositório para a utilização em pesquisas futuras. ☐

B) Autorizo o armazenamento em biorrepositório para a utilização em pesquisas futuras e concordo em ser contatado para fornecer novo consentimento a cada pesquisa. ☐

Nome completo do paciente: _____

RG: _____ Data: ____/____/____

Assinatura do Paciente: _____

Nome do representante legal ou testemunha: _____

Assinatura: _____

RG: _____ Data: ____/____/____

Endereço: _____

CEP: _____ Tel. _____ email: _____

(Somente para o responsável do projeto) Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Data: ____/____/____

Assinatura do responsável pelo estudo

Autorização para Filmagem

Rede Brasileira para o Estudo das Distonia

(Preencher apenas para os casos em que a filmagem seja solicitada)

Declaração

Acredito ter sido suficientemente esclarecido a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo a pesquisa “**Rede Brasileira para o Estudo das Distonias**”. Concordo voluntariamente em ser filmado. Entendo que a filmagem não é obrigatória, poderei recusar-me a fazê-la, sem qualquer prejuízo para minha participação neste estudo. Estou ciente de que estas imagens serão utilizadas exclusivamente por profissionais da área de saúde em reuniões científicas, com o propósito de esclarecimento da doença, e que as mesmas não serão veiculadas na imprensa por qualquer meio. Meu nome permanecerá em sigilo e não será associado às imagens.

Nome completo do Paciente: _____

_____ / ____ / ____

Assinatura do paciente ou representante legal

Data

(Somente para o responsável pelo recrutamento)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para esta filmagem

_____ / ____ / ____

Assinatura do responsável pelo estudo

Data

Anexo 2 - Avaliação epidemiológica de pacientes/familiares e voluntários não relacionados

Local do recrutamento: _____

Nome (sem abreviaturas): _____

Voluntário sem relação com pacientes do estudo ☐

Paciente índice? Sim ☐ Não* ☐

(*especificar quem é o paciente índice e grau de parentesco com o mesmo)

*

Idade: _____ sexo: _____ data de nascimento: ____/____/____

Local de Nascimento (cidade/estado): _____

Profissão (atual e/ ou pregressa): _____

Escolaridade: _____

Destro ☐ Canhoto ☐ Sem definição ☐

Origem étnica (p. ex. portuguesa, italiana, indígena, africana, etc; detalhar o melhor possível):

Por parte de pai: _____

Por parte de mãe: _____

Não sabe informar: ☐

Local de nascimento dos ancestrais:

Pai: _____

Mãe: _____

Avô paterno: _____

Avó paterna: _____

Avô materno: _____

Avó materna: _____

História familiar de distonia?

Sim (descrever) ☐ Não ☐

☐

Não tem certeza (*justificar abaixo) Não sabe informar ☐

Familiares acometidos (grau de parentesco): _____

*Familiares possivelmente acometidos (quando a informação for duvidosa e não houver possibilidade de fazer exame físico para confirmação ou exame físico compatível com distonia provável/ possível):

História de parto prematuro, sofrimento fetal, anóxia perinatal ou problemas gestacionais?

Não: ☐

Sim (descrever abaixo, inclusive uso de medicamentos na gestação): ☐

História de TCE, traumatismo de membro superior, inferior ou outro tipo de traumatismo?

Sim (descrever abaixo, incluir idade ao evento): ☐ Não ☐

História pregressa de cirurgia?

Sim (descrever abaixo, inclusive idade ao evento): ☐ Não ☐

História de doença e/ou cirurgia oftalmológica (p. ex. blefarite, ceratoconjuntivite, etc)? Sim ☐ Não ☐

História de outras doenças? Sim ☐ Não ☐

História de outras doenças familiares (HAS, DM, Câncer, doenças psiquiátricas, etc).

Tabagismo durante a gestação? Sim ☐ Não ☐

Idade gestacional do início da exposição: _____

Idade gestacional final do início da exposição: _____

Média de cigarros/ dia: _____

Tabagismo atual ou pregresso? Sim ☐ Não ☐

Idade ao início da exposição: _____

Idade ao fim da exposição: _____

Número médio de cigarros/ dia: _____

Uso regular de cafeína (café, chá, chocolate, refrigerantes)? Sim ☐ Não ☐

Idade ao início da exposição: _____

Idade ao fim da exposição: _____

Número médio de xícaras (~50 ml)/dia: _____

Número médio de latas de refrigerante/semana: _____

Uso regular de bebida alcoólica? Sim ☐ Não ☐

Idade ao início da exposição: _____

Idade ao fim da exposição: _____

Número médio de doses/semana: _____

Uso regular de água de poço ou mina? Sim ☐ Não ☐

Idade ao início da exposição: _____

Idade ao fim da exposição: _____

Cidade/ estado: _____

Em alguma época da vida morou em zona rural ou em local próximo a plantações (a menos de 1Km de distância)?

Sim (descrever local e faixa etária em que morou na região): ☐ Não ☐

Exposição a herbicidas/ pesticidas? Sim ☐ Não ☐

Produto(s): _____

Idade ao início da exposição: _____

Idade ao fim da exposição: _____

Grau estimado da exposição (dias/ mês): _____

Cidade/ estado: _____

Exposição a metais pesados/ solventes orgânicos: Sim ☐ Não ☐

Produto(s): _____

Idade ao início da exposição: _____

Idade ao fim da exposição: _____

Grau estimado da exposição (dias/ mês): _____

Exposição crônica a outros produtos químicos: Sim ☐ Não ☐

Produto(s): _____

Idade ao início da exposição: _____

Idade ao fim da exposição: _____

Grau estimado da exposição (dias/ mês): _____

Uso atual ou pregresso de substâncias psicoativas: Sim ☐ Não ☐

Produto(s): _____

Idade ao início da exposição: _____

Idade ao fim da exposição: _____

Grau estimado da exposição (dias/ mês): _____

Uso regular de medicamentos (para distônicos, considerar ANTES do início dos sintomas): Sim ☐ Não ☐

Medicamento(s): _____

Indicação para o uso _____

Idade ao início da exposição: _____

Idade ao fim da exposição: _____

Grau estimado da exposição (dias/ mês): _____

Exerce ou exerceu atividade que implique em movimentos repetitivos?

Sim (descreva): ☐ Não ☐

Descrição: _____

Idade ao início da atividade: _____

Frequência da atividade: _____

Idade ao fim do exercício da atividade: _____

Apenas para pacientes distônicos

Deixou de exercer a profissão por causa da distonia? Sim ☐ Não ☐

Medicação atual/ dose:

Uso de toxina botulínica? Sim ☐ Não ☐

Data da última aplicação: _____

Tratamento pregresso para distonia:

Anexo 3 - Heredograma

Instruções para preenchimento

Tentar preencher da forma mais completa, se possível, colocar pelo menos 3 gerações:

Anexo 4 - Sintomas motores**Distonia****Idade ao início (anos):** _____**Local de início:**MSD ☐ MID ☐ MSE ☐ MIE ☐Cervical ☐ oromandibular ☐ laringe ☐Olhos ☐ Tronco ☐**Distribuição atual:**MSD ☐ MID ☐ MSE ☐ MIE ☐Cervical ☐ oromandibular ☐ laringe ☐Olhos ☐ Tronco ☐**Tempo (em anos) para evoluir para a distribuição atual:** _____**Tremor distônico?** Sim ☐ Não ☐

Local:

Presença de truque sensorial?Sim ☐ Não ☐**Descreva:** _____
_____**Flutuação dos sintomas ao longo do dia?**Sim ☐ Não ☐**Descreva:** _____

Responde à levodopa?Sim ☐ Não ☐ Não sabe ☐

Classificação: Bressman SB, Raymond D, Wendt K, Saunders-Pullman R, De Leon D, Fahn S, et al. Diagnostic criteria for dystonia in DYT1 families. Neurology. 2002;59:1780-2.

Distonia estabelecida ☐

Movimentos ou posturas de torção evidentes, com tendências direcionais características, presentes de forma consistente.

Distonia provável ☐

Presença de movimentos ou posturas sugestivas de distonia, mas que são insuficientes em intensidade ou consistência para serem considerados como distonia estabelecida (por exemplo: escrita excessivamente tensa ou trabalhosa, mas com um mínimo de postura anormal; clusters de piscamento, mas sem contração palpebral sustentada; desvio da cabeça leve ou intermitente).

Distonia possível ☐

Contrações musculares não consideradas como anormais, mas que sugerem distonia remotamente (por exemplo, tensão aumentada à preensão manual, mas sem comprometimento da escrita; aumento da frequência de piscamento, mas sem clusters ou contração palpebral sustentada; postura grosseira à manobra de movimentos rápidos dos pés com uma leve alteração postural se estendendo aos pododáctilos de forma intermitente. Escoliose e tremor (sem tendência direcional sustentada) não são considerados como sinais de distonia.

Não classificável ☐

Indivíduos com alterações neurológicas que possam mascarar uma distonia, como hemiparesia em decorrência de acidente vascular cerebral, indivíduos com história de anóxia, exposição a neurolépticos ou traumatismo que possam prejudicar o diagnóstico de distonia primária.

Parkinsonismo**Parkinsonismo?**Sim ☐ Não ☐**Idade ao início (anos):** _____**Local inicialmente acometido:** _____**Sintoma inicial:**

Tremor Rigidez Bradicinesia

Outro _____

Sintomas atuais:Tremor ☐ Rigidez ☐ Bradicinesia ☐Outro(s) ☐ _____**Regiões acometidas atualmente:**

Responde à levodopa? Sim ☐ Não ☐ Não sabe ☐**Discinesias por levodopa?** Sim ☐ Não ☐**Outras observações:** _____

Mioclonias

Mioclonias? Sim ☐ Não ☐

Idade ao início (anos): _____

Local de início:

MSD ☐ MID ☐ MSE ☐ MIE ☐
Crânio Cervical ☐ Tronco ☐

Distribuição corporal atual:

MSD ☐ MID ☐ MSE ☐ MIE ☐
Crânio Cervical ☐ Tronco ☐

Responde ao álcool?

Sim ☐ Não ☐ Não sabe ☐

Piora ou é desencadeada com a ação?

Sim ☐ Não ☐

Melhora ou desaparece com o sono?

Sim ☐ Não ☐

Outras observações: _____

Anexo 5 - Sintomas não motores

Assinale se teve alguns destes sintomas no último mês, por pelo menos 3 vezes ou mais.

*NI= não informado (quando a questão não se aplica à pessoa ou não é possível obter a informação)

1. Vertigem/ tontura	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐
2. Sudorese excessiva	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐
3. Palpitações	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐
4. Falta de ar	Sim ☐	NÃO ☐	NI ☐
5. Obstipação intestinal	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐
6. Incontinência fecal	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐
7. Incontinência urinária	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐
8. Retenção urinária	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐
9. Náuseas	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐
10. Inapetência	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐
11. Perda da libido	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐
12. Disfunção erétil	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐
13. Sensação de fome exagerada	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐
14. Perda de peso (não explicada por dieta)	SIM ☐	NÃO ☐	NI ☐

15. Dores SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

Descreva: _____

16. Intensidade das dores Leve ☐ Moderada ☐ Grave ☐ NI ☐

17. Sensação de formigamento/ queimação SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

18. Sensação de tristeza, desmotivação SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

19. Perda de interesse nas atividades de rotina SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

20. Ansiedade SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

21. Sonolência diurna SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

22. Dificuldade para conciliar o sono SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

23. Desperta várias vezes durante o sono SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

24. Sonhos vívidos SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

25. Alucinações SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

26. Dificuldade de concentração SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

27. Dificuldade para se lembrar das coisas SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

28. Alteração do olfato SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

29. Alteração do paladar SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

30. Sensação de fadiga não relacionada ao esforço físico

SIM ☐ NÃO ☐ NI ☐

31. Outros sintomas não motores

Anexo 6 - The Fahn-Marsden Score

Scored by: name _____

Date: _____

Videotape number: _____

<i>Region</i>	<i>Provoking Factor</i> A. General	<i>Severity Factor</i>	<i>Weight</i>	<i>Score</i>
Eyes	0. No dystonia at rest or with action 1. Dystonia only with particular action 2. Dystonia with many actions 3. Dystonia on action of distant part of body or intermittently at rest 4. Dystonia present at rest	0. No dystonia 1. Slight. Occasional blinking 2. Mild. Frequent blinking without prolonged spasms of eye closure 3. Moderate. Prolonged spasms of eyelid closure, but eyes open most of the time 4. Severe. Prolonged spasms of eyelid closure, with eyes closed at least 30% of the time	0.5	
Mouth	0. No dystonia at rest or with action 1. Dystonia only with particular action 2. Dystonia with many actions 3. Dystonia on action of distant part of body or intermittently at rest 4. Dystonia present at rest	0. no dystonia present 1. Slight. Occasional grimacing or other mouth movements (e.g., jaw opened or clenched; tongue movement) 2. Mild. Movement present less than 50% of the time 3. Moderate dystonic movements or contractions present most of the time 4. Severe dystonic movements or contractions present most of the time	0.5	
Speech and swallowing	B. Speech and swallowing 1. Occasional, either or both 2. Frequent either 3. Frequent one and occasional other 4. Frequent both	0. Normal 1. Slightly involved; speech easily understood or occasional choking 2. Some difficulty in understanding speech or frequent choking 3. Marked difficulty in understanding speech or inability to swallow firm foods 4. Complete or almost complete anarthria, or marked difficulty swallowing soft foods and liquids	1.0	
Neck	0. No dystonia at rest or with action 1. Dystonia only with particular action 2. Dystonia with many actions 3. Dystonia on action of distant part of body or intermittently at rest 4. Dystonia present at rest	0. No dystonia present 1. Slight. Occasional pulling 2. Obvious torticollis, but mild 3. Moderate pulling 4. Extreme pulling	0.5	
Right Arm	0. No dystonia at rest or with action 1. Dystonia only with particular action 2. Dystonia with many actions 3. Dystonia on action of distant part of body or intermittently at rest 4. Dystonia present at rest	0. No dystonia present 1. Slight dystonia. Clinically insignificant 2. Mild. Obvious dystonia, but not disabling 3. Moderate. Able to grasp, with some manual function 4. Severe. No useful grasp	1.0	
Left Arm	0. No dystonia at rest or with action 1. Dystonia only with	0. No dystonia present 1. Slight dystonia. Clinically insignificant 2. Mild. Obvious dystonia, but not	1.0	

	particular action 2. Dystonia with many actions 3. Dystonia on action of distant part of body or intermittently at rest 4. Dystonia present at rest	disabling 3. Moderate. Able to grasp, with some manual function 4. Severe. No useful grasp		
Right Leg	0. No dystonia at rest or with action 1. Dystonia only with particular action 2. Dystonia with many actions 3. Dystonia on action of distant part of body or intermittently at rest 4. Dystonia present at rest	0. No dystonia present 1. Slight dystonia, but not causing impairment; clinically insignificant 2. Mild dystonia. Walks briskly and unaided 3. Moderate dystonia. Severely impairs walking or requires assistance 4. Severe. Unable to stand or walk on involved leg	1.0	
Left Leg	0. No dystonia at rest or with action 1. Dystonia only with particular action 2. Dystonia with many actions 3. Dystonia on action of distant part of body or intermittently at rest 4. Dystonia present at rest	0. No dystonia present 1. Slight dystonia, but not causing impairment; clinically insignificant 2. Mild dystonia. Walks briskly and unaided 3. Moderate dystonia. Severely impairs walking or requires assistance 4. Severe. Unable to stand or walk on involved leg	1.0	
Trunk	0. No dystonia at rest or with action 1. Dystonia only with particular action 2. Dystonia with many actions 3. Dystonia on action of distant part of body or intermittently at rest 4. Dystonia present at rest	0. No dystonia present 1. Slight bending; clinically insignificant 2. Definite bending, but not interfering with standing or walking 3. Moderate bending; interfering with standing or walking 4. Extreme bending of trunk preventing standing or walking	1.0	

Referências Bibliográficas

1. Newby RE, Thorpe DE, Kempster PA, Alty JE. A history of dystonia: Ancient to Modern. *Mov Disord Clin Pract*. 2017;4(4):478-85.
2. Marsden CD. Blepharospasm-omandibular dystonia syndrome (Brueghel's syndrome). A variant of adult-onset torsion dystonia? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1976;39(12):1204-9.
3. Garcia-Ruiz PJ, Slawek J, Sitek EJ, Martinez Castrillo JC. Art and Dystonia. *J Neurol Sci*. 2015;356(1-2):49-54.
4. Klein C, Fahn S. Translation of the Oppenheim's 1911 paper on dystonia. *Mov Disord*. 2013;28(7):851-62.
5. Oppenheim H. Uber eine eigenartige Krampfkrankheit des kindlichen und jugendlichen alters (dysbasia lordotica progressiva, dystonia musculorum deformans). *Neurol Centrabl*. 1911;30:1090-107.
6. Schwalbe W. Eine eigentumliche tonische Krampfform mit hysterischen Symptomen. *Inaug Diss*, Berlin: G. Schade; 1908.
7. Ziehen T. Ein fall von tonischer Torsionsneurose. *Neurol Centrabl*. 1911;30:109-10.
8. Hammond WA. Athetosis. *Med Times Gaz*. 1871;2:747-8.
9. Barraquer Roviralta L. Contribución al estudio de la atetosis. *Gac Med Catalana*. 1897;20:385-91.
10. Goetz C, Chmura TA, Lanska DJ. History of dystonia: part 4 of the MDS-sponsored history of movement disorders exhibit, Barcelona. 2000. *Mov Disord* 2001;16(2):339-45.
11. Fraenkel J. Dysbasia lordotica progressiva, dystonia musculorum deformans – tortipelvis. *J Nerv Ment Dis*. 1912;39:361-74.
12. Hunt JR. The progressive torsion spasm of childhood (dystonia musculorum deformans): a consideration of its nature and symptomatology. *JAMA*. 1916;67:1430-7.
13. Taylor EW. Dystonia lenticularis (dystonia musculorum deformans). *Arch Neurol Psychiatry*. 1920;4:417-27.
14. Munts AG, Koehler PJ. How psychogenic is dystonia? Views from past to present. *Brain* 2010;133(Pt5):1552-64.
15. Meige H. Les convulsions de la face, une forme clinique de convulsion faciale bilatérale et médiane. *Rev Neurol*. 1910;20:437-43.

16. Herz E. Dystonia: I. Historical review; analysis of dystonic symptoms and physiologic mechanisms involved. *Arch Neurol Psychiatr.* 1944;51:305-18.
17. Zeman W, Kaelbling R, Pasamanick B. Idiopathic dystonia musculorum deformans: I. The hereditary pattern. *Am J Hum Genet.* 1959;11:188-202.
18. Cooper IS. Dystonia musculorum deformans: natural history and neurosurgical alleviation. *J Pediatr.* 1969;74:585-92.
19. Eldridge R, Riklan M, Cooper IS. The limited role of psychotherapy in torsion dystonia. Experience with 44 cases. *JAMA.* 1969;210:705-8.
20. Camargo CHF, Teive HAG. Evolution of the concept of dystonia. *Arq Neuropsiquiatr.* 2014;72(7):559-61.
21. Frucht SJ. The definition of dystonia: current concepts and controversies. *Mov Disord.* 2013;28(7):884-8.
22. Jinnah HA, DeLong MR, Hallett M. The dystonias: past, present and future. *Mov Disord.* 2013;28(7):849-50.
23. Marsden CD. The problem of adult-onset idiopathic torsion dystonia and other isolated dyskinesias in adult life (including blepharospasm, oromandibular dystonia, dystonic writer's cramp, and torticollis, or axial dystonia). *Adv Neurol.* 1976;14:259-76.
24. Marsden CD. Dystonia: the spectrum of the disease. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis.* 1976;55:351-67.
25. Fahn S, Eldridge R. Definition of dystonia and classification of the dystonic states. *Adv Neurol.* 1976;14:1-5.
26. Fahn S, Marsden CD, Calne DB. Classification and investigation of dystonia. In: Marsden CD, Fahn S, eds. *Movement Disorders 2*. London: Butterworths; 1987:332-58.
27. Fahn S. Concept and classification of dystonia. *Adv Neurol.* 1988;50:1-8.
28. Fahn S, Bressman SB, Marsden CD. Classification of dystonia. *Adv Neurol.* 1998;78:1-10.
29. Muller U, Steinberger D, Nemeth AH. Clinical and molecular genetics of primary dystonia. *Neurogenetics.* 1998;1(3):165-77.
30. Albanese A, Bhatia K, Bressman S, DeLong MR, Fahn S, Fung VSC, et al. Phenomenology and classification of dystonia: a consensus update. *Mov Disord.* 2013;28(7):863-73.

31. Lohmann K, Klein C. Update on the genetics of dystonia. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2017;17(3):26.
32. Bressman SB, Sabatti C, Raymond D, de Leon D, Klein C, Kramer PL, et al. The DYT1 phenotype and guidelines for diagnostic testing. *Neurology.* 2000;54(9):1746-52.
33. Ozelius LJ, Hewett JW, Page CE, Bressman SB, Kramer PL, Shalish C, et al. The early-onset torsion dystonia gene (DYT1) encodes an ATP-binding protein. *Nat Genet.* 1997;17(1):40-8.
34. Schwarz CS, Bressman SB. Genetics and treatment of dystonia. *Neurol Clin.* 2009;27(3):697-718.
35. Zech M, Jochim A, Boesch S, Weber S, Meindl T, Peters A, et al. Systematic *TOR1A* non-c.907_909delGAG variant analysis in isolated dystonia and controls. *Parkinsonism Relat Disord.* 2016;31:119-23.
36. Gerace L. TorsinA and torsion dystonia: unraveling the architecture of the nuclear envelope. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(24):8839-40.
37. Giménez-Roldán S, Delgado G, Marín M, Villanueva JA, Mateo D. Hereditary torsion dystonias in gypsies. *Adv Neurol.* 1988;50:73-81.
38. Khan NL, Wood NW, Bhatia KP. Autosomal recessive, DYT1-like dystonia: a new Family. *Neurology.* 2003;61(12):1801-3.
39. Charlesworth G, Angelova PR, Bartolomé-Robledo F, Ryten M, Trabzuni D, Stamelou M, et al. Mutations in *HPCA* cause autosomal-recessive primary isolated dystonia. *Am J Hum Genet.* 2015;96(4):657-65.
40. Makino S, Kaji R, Ando S, Tomizawa M, Yasuno K, Goto S, et al. Reduced neuron-specific expression of the *TAF1* gene is associated with X-linked dystonia-parkinsonism. *Am J Hum Genet.* 2007;80(3):393-406.
41. Lee LV, Maranon E, Demaisip C, Peralta O, Borres-Icasiano R, Arancillo J, et al. The natural history of sex-linked recessive dystonia parkinsonism of Panay, Philippines (XDP). *Parkinsonism Relat Disord.* 2002;9(1):29-38.
42. Parker N. Hereditary whispering dysphonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1985;48(3):218-24.
43. Wilcox RA, Winkler S, Lohmann K, Klein C. Whispering dysphonia in an Australian Family (DYT4): a clinical and genetic reappraisal. *Mov Disord.* 2011;26(13):2404-8.

44. Lohmann K, Wilcox RA, Winkler S, Ramirez A, Rakovic A, Park JS, et al. Whispering dysphonia (DYT4 dystonia) is caused by a mutation in *TUBB4* gene. *Ann Neurol*. 2013;73(4):537-45.
45. Hersheson J, Mencacci NE, Davis M, MacDonald N, Trabzuni D, Ryten M, et al. Mutations in the autoregulatory domain of β -tubulin 4a cause hereditary dystonia. *Ann Neurol*. 2013;73(4):546-53.
46. Simons C, Wolf NI, McNeil N, Caldovic L, Devaney JM, Takanohashi A, et al. A de novo mutation in the β -tubulin gene *TUBB4A* results in leukoencephalopathy hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum. *Am J Hum Genet*. 2013;92(5):767-73.
47. Segawa M, Nomura Y, Nishiyama N. Autosomal dominant guanosine triphosphate cyclohydrolase I deficiency (Segawa disease). *Ann Neurol*. 2003;54(Suppl6):S32-45.
48. Trender-Gerhard I, Sweeney MG, Schwingenschuh P, Mir P, Edwards MJ, Gerhard A, et al. Autosomal-dominant GTPCH1-deficient DRD: clinical characteristics and long-term outcome of 34 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80(8):839-45.
49. Ichinose H, Ohye T, Takahashi E, Seki N, Hori T, Segawa M, et al. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation caused by mutations in the GTP cyclohydrolase I gene. *Nat Genet*. 1994;8(3):236-42.
50. Müller U. The monogenic primary dystonias. *Brain*. 2009;132(Pt8):2005-25.
51. Furukawa Y, Lang AE, Trugman JM, Bird TD, Hunter A, Sadeh M, et al. Gender-related penetrance and de novo GTP-cyclohydrolase I gene mutations in dopa-responsive dystonia. *Neurology*. 1998;50(4):1015-20.
52. Zirn B, Steinberger D, Troidl C, Brockmann K, von der Hagen M, Feiner C, et al. Frequency of *GCH1* deletions in dopa-responsive dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79(2):183-6.
53. Grötzsch H, Pizzolato GP, Ghika J, Schorderet D, Vingerhoets FJ, Landis T, et al. Neuropathology of a case of dopa-responsive dystonia associated with a new genetic locus, DYT14. *Neurology*. 2002;58(12):1839-42.

54. Wider C, Melquist S, Hauf M, Solida A, Cobb SA, Kachergus JM, et al. Study of a Swiss dopa-responsive dystonia family with a deletion in *GCH1*: redefining DYT14 as DYT5. *Neurology*. 2008;70(16Pt2):1377-83.
55. Lüdecke B, Dworniczak B, Bartholomé K. A point mutation in the tyrosine hydroxylase gene associated with Segawa's disease. *Hum Genet*. 1995;95(1):123-5.
56. Charlesworth G, Bhatia KP, Wood NW. The genetics of dystonia: new twists in an old tale. *Brain*. 2013;136(Pt7):2017-37.
57. Fuchs T, Gavarini S, Saunders-Pullman R, Raymond D, Ehrlich ME, Bressman SB, et al. Mutations in *THAP1* gene are responsible for DYT6 primary torsion dystonia. *Nat Genet*. 2009;41(3):286-8.
58. Bressman SB, Raymond D, Fuchs T, Heiman GA, Ozelius LJ, Saunders-Pullman R. Mutations in *THAP1* (DYT6) in early-onset dystonia: a genetic screening study. *Lancet Neurol*. 2009;8(5):441-6.
59. Leube B, Rudnicki D, Ratzlaff T, Kessler KR, Benecke R, Auburger G. Idiopathic torsion dystonia: assignment of a gene to chromosome 18p in a German Family with adult onset, autosomal dominant inheritance and purely focal distribution. *Hum Mol Genet*. 1996;5(10):1673-7.
60. Winter P, Kamm C, Biskup S, Köhler A, Leube B, Auburger G, et al. DYT7 gene locus for cervical dystonia on chromosome 18p is questionable. *Mov Disord*. 2012;27(14):1819-21.
61. Gardiner AR, Jaffer F, Dale RC, Labrum R, Erro R, Meyer E, et al. The clinical and genetic heterogeneity of paroxysmal dyskinesias. *Brain*. 2015;138(Pt12):3567-80.
62. Erro R, Bhatia KP. Unravelling of the paroxysmal dyskinesias. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019;90(2):227-34.
63. Rainier S, Thomas D, Tokarz D, Ming L, Bui M, Plein E, et al. Myofibrillogenesis regulator 1 gene mutations cause paroxysmal dystonic choreoathetosis. *Arch Neurol*. 2004;61(7):1025-9.
64. Spacey SD, Adams PJ, Lam PC, Materek LA, Stoessl AJ, Snutch TP, et al. Genetic heterogeneity in Paroxysmal Nonkinesigenic Dyskinesia. *Neurology*. 2006; 66(10):1588-90.

65. Suls A, Dedeken P, Goffin K, Van Esch H, Dupont P, Cassiman D, et al. Paroxysmal exercise-induced dyskinesia and epilepsy is due to mutations in *SLC2A1*, encoding the glucose transporter GLUT1. *Brain*. 2008;131(Pt7):1831-44.
66. Wang JL, Cao L, Li XH, Hu ZM, Li JD, Zhang JG, et al. Identification of *PRRT2* as the causative gene of paroxysmal kinesigenic dyskinesias. *Brain*. 2011;134(Pt12):3493-501.
67. Zimprich A, Grabowski M, Asmus F, Naumann M, Berg D, Bertram M, et al. Mutations in the gene encoding epsilon-sarcoglycan myoclonus-dystonia syndrome. *Nat Genet*. 2001;29(1):66-9.
68. Peall KJ, Smith DJ, Kurian MA, Wardle M, Waite AJ, Hedderly T, et al. *SGCE* mutations cause psychiatric disorders: clinical and genetic characterization. *Brain*. 2013;136(Pt1):294-303.
69. Grabowski M, Zimprich A, Lorenz-Depiereux B, Kalscheuer V, Asmus F, Gasser T, et al. The epsilon-sarcoglycan gene (*SGCE*), mutated in myoclonus dystonia syndrome, is maternally imprinted. *Eur J Hum Genet*. 2003;11(2):138-44.
70. Waite A, Tinsley CL, Locke M, Blake DJ. The neurobiology of the dystrophin-associated glycoprotein complex. *Ann Med*. 2009;41(5):344-59.
71. Schüle B, Kock N, Svetel M, Dragasevic N, Hedrich K, De Carvalho Aguiar P, et al. Genetic heterogeneity in ten families with myoclonus-dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75(8):1181-5.
72. Valente EM, Edwards MJ, Mir P, DiGiorgio A, Salvi S, Davis M, et al. The epsilon-sarcoglycan gene in myoclonic syndromes. *Neurology*. 2005;64(4):737-9.
73. Peall KJ, Kurian MA, Wardle M, Waite AJ, Hedderly T, Lin JP, et al. *SGCE* and myoclonus dystonia: motor characteristics, diagnostic criteria and clinical predictors of genotype. *J Neurol*. 2014;261(12):2296-304.
74. Asmus F, Salih F, Hjermand LE, Ostergaard K, Munz M, Kühn AA, et al. Myoclonus-dystonia due to genomic deletions in the epsilon-sarcoglycan gene. *Ann Neurol*. 2005;58(5):792-7.

75. De Carvalho Aguiar P, Sweadner KJ, Penniston JT, Zaremba J, Liu L, Caton M, et al. Mutations in the Na⁺/K⁺-ATPase alpha3 gene *ATP1A3* are associated with rapid-onset dystonia parkinsonism. *Neuron*. 2004;43(2):169-75.
76. Brashear A, Dobyns WB, De Carvalho Aguiar P, Borg M, Frijns CJ, Gollamudi S, et al. The phenotypic spectrum of rapid-onset dystonia-parkinsonism (RDP) and mutations in the *ATP1A3* gene. *Brain*. 2007;130(Pt3):828-35.
77. Carecchio M, Zorzi G, Ragona F, Zibordi F, Nardocci N. *ATP1A3*-related disorders: an update. *Eur J Paediatr Neurol*. 2018;22(2):257-63.
78. Bentivoglio AR, Del Grosso N, Albanese A, Cassetta E, Tonali P, Frontali M. Non-DYT1 dystonia in a large Italian Family. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997;62(4):357-60.
79. Valente EM, Bentivoglio AR, Cassetta E, Dixon PH, Davis MB, Ferraris A, et al. DYT13, a novel primary torsion dystonia locus, maps to chromosome 1p36.13-36.32 in an Italian family with cranial-cervical or upper limb onset. *Ann Neurol*. 2001;49(3):362-6.
80. Grimes DA, Han F, Lang AE, St George-Hyslop P, Racacho L, Bulman DE. A novel locus for inherited myoclonus-dystonia on 18p11. *Neurology*. 2002;59(8):1183-6.
81. Camargos S, Scholz S, Simón-Sánchez J, Paisán-Ruiz C, Lewis P, Hernandez D, et al. DYT16, a novel young-onset dystonia-parkinsonism disorder: identification of a segregating mutation in the stress-response protein PRKRA. *Lancet Neurol*. 2008;7(3):207-15.
82. Patel CV, Handy I, Goldsmith T, Patel RC. PACT, a stress-modulated cellular activator of interferon-induced double-stranded RNA-activated protein kinase, PKR. *J Biol Chem*. 2000;275(48):37993-8.
83. Chouery E, Kfoury J, Delague V, Jalkh N, Bejjani P, Serre JL, et al. A novel locus for autosomal recessive primary torsion dystonia DYT17 maps to 20p11.22-q13.12. *Neurogenetics*. 2008;9(4):287-93.
84. Norgren N, Mattson E, Forsgren L, Holmberg M. A high-penetrance form of late-onset torsion dystonia maps to a novel locus (DYT21) on chromosome 2q14.3-q21.3. *Neurogenetics*. 2011;12(2):137-43.

85. Xiao J, Uitti RJ, Zhao Y, Vemula SR, Perlmutter JS, Wszolek ZK, et al. Mutations in *CIZ1* cause adult onset primary cervical dystonia. *Ann Neurol*. 2012;71(4):458-69.
86. Charlesworth G, Plagnol V, Holmström KM, Bras J, Sheerin UM, Preza E, et al. Mutations in *ANO3* cause dominant craniocervical dystonia: ion channel implicated in pathogenesis. *Am J Hum Genet*. 2012;91(6):1041-50.
87. Stamelou M, Charlesworth G, Cordivari C, Schneider SA, Kägi G, Sheerin UM, et al. The phenotypic spectrum of DYT24 due to *ANO3* mutations. *Mov Disord*. 2014;29(7):928-34.
88. Huang WC, Xiao S, Huang F, Harfe BD, Jan YN, Jan LY. Calcium-activated chloride channels (CaCCs) regulate action potential and synaptic response in hippocampal neurons. *Neuron*. 2012;74(1):179-92.
89. Fuchs T, Saunders-Pullman R, Masuho I, Luciano MS, Raymond D, Factor S, et al. Mutations in *GNAL* cause primary torsion dystonia. *Nat Genet*. 2013;45(1):88-92.
90. Corvol JC, Studler JM, Schonn JS, Girault JA, Hervé D. G α olf is necessary for coupling D1 and A2a receptors to adenylyl cyclase in the striatum. *J Neurochem*. 2001;76(5):1585-8.
91. Mencacci NE, Rubio-Agusti I, Zdebik A, Asmus F, Ludtmann MH, Ryten M, et al. A missense mutation in *KCTD17* causes autosomal dominant myoclonus-dystonia. *Am J Hum Genet*. 2015;96(6):938-47.
92. Groen JL, Andrade A, Ritz K, Jalalzadeh H, Haagmans M, Bradley TE, et al. *CACNA1B* mutation is linked to unique myoclonus-dystonia syndrome. *Hum Mol Genet*. 2015;24(4):987-93.
93. Groen JL, Ritz K, Jalalzadeh H, van der Salm SM, Jongejan A, Mook OR, et al. *RELN* rare variants in myoclonus-dystonia. *Mov Disord* 2015;30(3):415-9.
94. Zech M, Lam DD, Francescatto L, Schormair B, Salminen AV, Jochim A, et al. Recessive mutations in the $\alpha 3$ (VI) collagen gene *COL6A3* cause early-onset isolated dystonia. *Am J Hum Genet* 2015;96(6):883-93.
95. Jochim A, Zech M, Gora-Stahlberg G, Winkelmann J, Haslinger B. The clinical phenotype of early-onset isolated dystonia caused by recessive *COL6A3* mutations (DYT27). *Mov Disord*. 2016;31(5):747-50.

96. Marras C, Lohmann K, Lang A, Klein C. Fixing the broken system of genetic locus symbols: Parkinson disease and dystonia as examples. *Neurology*. 2012;78(13):1016-24.
97. Marras C, Lang A, van de Warrenburg BP, Sue CM, Tabrizi SJ, Bertram L, et al. Nomenclature of genetic movement disorders: recommendations of the Internacional Parkinson and Movement Disorder Society task force. *Mov Disord*. 2016; 31(4): 436-57.
98. Zech M, Jech R, Wagner M, Mantel T, Boesch S, Nocker M, et al. Molecular diversity of combined and complex dystonia: insights from diagnostic exome sequencing. *Neurogenetics*. 2017;18(4):195-205.
99. Albanese A, Bhatia K, DeLong MR, Fahn S, Fung VS, Hallett M, et al. "Complex" dystonia is not a category in the new 2013 consensus classification. *Mov Disord*. 2016; 31(11): 1758-9.
100. Mencacci NE, Brüggemann N. *KCTD17* is a confirmed new gene for dystonia, but is it responsible for *SGCE*-negative myoclonus-dystonia? *Parkinsonism Relat Disord*. 2019;61:1-3.
101. Domingo A, Erro R, Lohmann K. Novel dystonia genes: clues on disease mechanisms and the complexities of high-throughput sequencing. *Mov Disord*. 2016;31(4):471-7.
102. Nussbaum RL, McIness RR, Willard HF. Thompson & Thompson *Genética Médica*. 8ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. Capítulo 4. Diversidade genética humana: mutação e polimorfismo; páginas 43-56.
103. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. 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*. 2015;17(5):405-24.
104. Lehericy S, Tijssen MA, Vidailhet M, Kaji R, Meunier S. The anatomical basis of dystonia: current view using neuroimaging. *Mov Disord*. 2013;28(7):944-57.
105. Neychev VK, Gross RE, Lehericy S, Hess EJ, Jinnah HA. The functional neuroanatomy of dystonia. *Neurobiol Dis*. 2011;42(2):185-201.

106. Tewari A, Fremont R, Khodakhah K. It's not just the basal ganglia: cerebellum as a target for dystonia therapeutics. *Mov Disord.* 2017;32(11):1537-45.
107. Wilson BK, Hess EJ. Animal models for dystonia. *Mov Disord.* 2013;28(7):982-9.
108. Quartarone A, Hallett M. Emerging concepts in physiological basis of dystonia. *Mov Disord.* 2013;28(7):958-67.
109. Chen CH, Fremont R, Arteaga-Bracho EE, Khodakhah K. Short latency cerebellar modulation of the basal ganglia. *Nat Neurosci.* 2014;17(12):1767-75.
110. Lohmann K, Klein C. Genetics of dystonia: what's known? What's new? What's next? *Mov Disord.* 2013;28(7):899-905.
111. Frederick NM, Shah PV, Didonna A, Langley MR, Kanthasamy AG, Opal P. Loss of dystonia gene *Thap1* leads to transcriptional deficits that converge on common pathogenic pathways in dystonic syndromes. *Hum Mol Genet.* 2019;28(8):1343-56.
112. Defazio G. The epidemiology of primary dystonia: current evidence and perspectives. *Eur J Neurol.* 2010;17(Suppl.1):9-14.
113. Steeves TD, Day L, Dykeman J, Jette N, Pringsheim T. The prevalence of primary dystonia: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord.* 2014;27(14):1789-96.
114. Girach A, Vinagre Aragon A, Zis P. Quality of life in idiopathic dystonia: a systematic review. *J Neurol.* 2019; 266(12): 2897-906.
115. Pekmezovic T, Svetel M, Ivanovic N, Dragasevic N, Petrovic I, Tepavcevic DK, et al. Quality of life in patients with focal dystonia. *Clin Neurol Neurosurg.* 2009;111(2):161-4.
116. Molho ES, Agarwal N, Regan K, Higgins DS, Factor SA. Effect of cervical dystonia on employment: A retrospective analysis of the ability of treatment to restore premorbid employment status. *Mov Disord.* 2009;24(9):1384-7.
117. Torres JAKL, Rosales RL. Nonmotor symptoms in dystonia. *Int Rev Neurobiol.* 2017;134:1335-71.
118. Berman BD, Jinah HA. Dystonia: Five new things. *Neurol Clin Pract.* 2015;5(3):232-40.

119. Stamelou M, Edwards MJ, Hallett M, Bhatia KP. The non-motor syndrome of primary dystonia: clinical and pathophysiological implications. *Brain*. 2012;135(Pt6):1668-81.
120. Burke RE, Fahn S, Marsden CD, Bressman SB, Moskowitz C, Friedman J. Validity and Reliability of a rating scale for the primary torsion dystonias. *Neurology*. 1985;35(1):73-7.
121. Alves COS. Pesquisa de variantes genéticas em pacientes brasileiros com distonia idiopática [tese]. São Paulo (São Paulo): Faculdade Israelita de Ciências da Saúde Albert Einstein; 2019.
122. den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J, et al. HGVS Recommendations for the description of sequence variants: 2016 update. *Hum Mutat*. 2016;36(7):564-9.
123. De Carvalho Aguiar P, Fuchs T, Borges V, Lamar KM, Silva SM, Ferraz HB, et al. Screening of Brazilian families with primary dystonia reveals a novel *THAP1* mutation and a de novo *TOR1A* GAG deletion. *Mov Disord*. 2010;25(16):2854-7.
124. Greene P, Kang UJ, Fahn S. Spread of symptoms in idiopathic torsion dystonia. *Mov Disord*. 1995;10(2):143-52.
125. Phukan J, Albanese A, Gasser T, Warner T. Primary dystonia and dystonia-plus syndromes: clinical characteristics, diagnosis and pathogenesis. *Lancet Neurol*. 2011;10(12):1074-85.
126. Ma J, Wang L, Yang YM, Wan XH. Targeted gene capture sequencing in diagnosis of dystonia patients. *J Neurol Sci*. 2018;390:36-41.
127. Montaut S, Tranchant C, Drouot N, Rudolf G, Guissart C, Tarabeux J, et al. Assessment of a targeted gene panel for identification of genes associated with movement disorders. *JAMA Neurol*. 2018;75(10):1234-45.
128. van Egmond ME, Lugtenberg CHA, Brouwer OF, Contarino MF, Fung VSC, Heiner-Fokkema MR, et al. A post hoc study on gene panel analysis for the diagnosis of dystonia. *Mov Disord*. 2017;32(4):569-75.
129. Ozelius LJ, Bressman SB. Genetic and clinical features of primary torsion dystonia. *Neurobiol Dis*. 2011;42(2):127-35.

130. Piovesana LG, Torres FR, Azevedo PC, Amaral TP, Lopes-Cendes I, D'Abreu A. New *THAP1* mutation and role of putative modifier in *TOR1A*. *Acta Neurol Scand*. 2017;135(2):183-8.
131. Camargo CH, Camargos ST, Raskin S, Cardoso FE, Teive HA. Genetic evaluation for *TOR1A* (DYT1) in Brazilian patients with dystonia. *Arq Neuropsiquiatr*. 2014;72(10):753-6.
132. Camargo CH, Camargos ST, Raskin S, Cardoso FE, Teive HA. DYT6 in Brazil: Genetic assessment and clinical characteristics of patients. *Tremor Other Hyperkinet Mov*. 2014;4:226.
133. Da Silva-Júnior FP, dos Santos CO, Silva SM, Barbosa ER, Borges V, Ferraz HB, et al. Novel *THAP1* variants in Brazilian patients with idiopathic dystonia. *J Neurol Sci*. 2014;344(1-2):190-2.
134. Blanchard A, Ea V, Roubertie A, Martin M, Coquart C, Claustres M, et al. DYT6 dystonia: review of the literature and creation of the UMD Locus-Specific Database (LSDB) for mutations in the *THAP1* gene. *Hum Mutat*. 2011;32(11):1213-24.
135. Tonduti D, Aiello C, Renaldo F, Dorboz I, Saaman S, Rodriguez D, et al. *TUBB4A*-related hypomyelinating leukodystrophy: new insights from a series of 12 patients. *Eur J Paediatr Neurol*. 2016;20(2):323-30.
136. Zech M, Boesch S, Jochim A, Graf S, Lichtner P, Peters A, et al. Large-scale *TUBB4A* mutational screening in isolated dystonia and controls. *Parkinsonism Relat Disord*. 2015;21(10):1278-81.
137. Vemula SR, Xiao J, Bastian RW, Momčilović D, Blitzler A, LeDoux MS. Pathogenic variants in *TUBB4A* are not found in primary dystonia. *Neurology*. 2014;82(14):1227-30.
138. Vulinovic F, Schaake S, Domingo A, Kumar KR, Defazio G, Mir P, et al. Screening study of *TUBB4A* in isolated dystonia. *Parkinsonism Relat Disord*. 2017;41:118-20.
139. Bally JF, Camargos S, dos Santos CO, Kern DS, Lee T, da Silva-Junior FP, et al. DYT-*TUBB4A* dystonia (DYT4 dystonia): new clinical and genetic observations. *Neurology*. 2021;96(14):e1887-e1897.

140. Clot F, Grabli D, Cazeneuve C, Roze E, Castelnau P, Chabrol B, et al. Exhaustive analysis of BH4 and dopamine biosynthesis genes in patients with Dopa-responsive dystonia. *Brain*. 2009;132(Pt7):1753-63.
141. Tassin J, Dürr A, Bonnet AM, Gil R, Vidailhet M, Lücking CB, et al. Levodopa-responsive dystonia. GTP cyclohydrolase I or *parkin* mutations? *Brain*. 2000;123 (Pt6):1112-21.
142. Roze E, Lang AE, Vidailhet M. Myoclonus-dystonia: classification, phenomenology, pathogenesis, and treatment. *Curr Opin Neurol*. 2018;31(4):484-90.
143. Camargos S, Lees AJ, Singleton A, Cardoso F. DYT16: the original cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012;83(10):1012-4.
144. Zech M, Castrop F, Schormair B, Jochim A, Wieland T, Gross N, et al. DYT16 revisited: exome sequencing identifies *PRKRA* mutations in a European dystonia family. *Mov Disord*. 2014;29(12):1504-10.
145. Quadri M, Olgiati S, Sensi M, Gualandi F, Groppo E, Rispoli V, et al. *PRKRA* mutation causing early-onset generalized dystonia-parkinsonism (DYT16) in an Italian family. *Mov Disord*. 2016;31(5):765-7.
146. Almeida S, Rangel MA, Neiva C, Carrilho I, Leao M, Santos F, et al. A rare early-onset dystonia (DYT16) in a Portuguese girl. *Rev Neurol*. 2018;66(12):434.
147. Lemmon ME, Lavenstein B, Applegate CD, Hamosh A, Tekes A, Singer HS. A novel presentation of DYT16: acute onset in infancy and association of MRI abnormalities. *Mov Disord*. 2013;28(14):1937-8.
148. De Carvalho Aguiar P, Borges V, Ferraz HB, Ozelius LJ. Novel compound heterozygous mutations in *PRKRA* cause pure dystonia. *Mov Disord*. 2015;30(6):877-8.
149. Dos Santos CO, da Silva-Júnior FP, Puga RD, Barbosa ER, Azevedo Silva SMC, Borges V, et al. The prevalence of *PRKRA* mutations in idiopathic dystonia. *Parkinsonism Relat Disord*. 2018; 48: 93-6.
150. Hammer M, Abravanel A, Peckham E, Mahloogi A, Majounie E, Hallett M, et al. Blefarospasm: a genetic screening study in 132 patients. *Parkinsonism Relat Disord*. 2019;64:315-8.

151. LeDoux MS, Vemula SR, Xiao J, Thompson MM, Perlmutter JS, Wright LJ, et al. Clinical and genetic features of cervical dystonia in a large multicenter cohort. *Neurol Genet.* 2016;2(3):e69.
152. Zech M, Gross N, Jochim A, Castrop F, Kaffe M, Dresel C, et al. Rare sequence variants in *ANO3* and *GNAL* in a primary torsion dystonia series and controls. *Mov Disord.* 2014;29(1):143-7.
153. Defazio G, Berardelli A, Hallett M. Do primary adult-onset focal dystonias share aetiological factors? *Brain.* 2007;130(Pt5):1183-93.
154. Smit M, Bartels AL, Kuiper A, Kamphuis ASJ, Han V, Tijssen MAJ. The frequency and self-perceived impact on daily life of motor and non-motor symptoms in cervical dystonia. *Mov Disord Clin Pract.* 2017;4(5):750-4.
155. Kuyper DJ, Parra V, Aerts S, Okun MS, Kluger BM. Nonmotor manifestations of dystonia: a systematic review. *Mov Disord.* 2011;26(7):1206-17.
156. Bressman SB, Saunders-Pullman R. Primary dystonia: moribund or viable. *Mov Disord.* 2013;28(7):906-13.
157. Sasikumar S, Albanese A, Krauss JK, Fasano A. Implementation of the current dystonia classification from 2013 to 2018. *Mov Disord Clin Pract.* 2019;6(3):250-3.
158. van Egmond ME, Contarino MF, Lugtenberg CHA, Peall KJ, Brouwer OF, Fung VSC, et al. Variable interpretation of the dystonia consensus classification items compromises its solidity. *Mov Disord.* 2019;34(3):317-20.
159. Mencacci NE, Jinnah HA. Naming genes for dystonia: DYT-z or Ditzzy? *Tremor Other Hyperkinet Mov.* 2019;9.
160. Jinnah HA. Locus Pocus. *Mov Disord.* 2016;31(11):1759-60.
161. Brüggemann N, Kühn A, Schneider SA, Kamm C, Wolters A, Krause P, et al. Short- and long-term outcome of chronic pallidal neurostimulation in monogenetic isolated dystonia. *Neurology.* 2015;84(9):895-903.
162. Albanese A, Di Giovanni M, Amami P, Lalli S. Failure of pallidal deep brain stimulation in DYT12-ATP1A3 dystonia. *Parkinsonism Relat Disord.* 2017;45:99-100.
163. Tisch S, Kumar KR. Pallidal deep brain stimulation for monogenic dystonia: The Effect of Gene on Outcome. *Front Neurol* 2021;11:630391.

164. Pauls KA, Hammesfahr S, Moro E, Moore AP, Binder E, El Majdoub F, et al. Deep brain stimulation in the ventrolateral thalamus/subthalamic area in dystonia with head tremor. *Mov Disord*. 2014;29(7):953-9.
165. Jinnah HA, Alterman R, Klein C, Krauss JK, Moro E, Vidailhet M, et al. Deep brain stimulation for dystonia: a new perspective on the value of genetic testing. *J Neural Transm*. 2017;124(4):417-30.