ISABELA PESSA ANEQUINI LEITE

**Caracterização da força e da função muscular nas disferlinopatias em
amostra brasileira**

**Dissertação apresentada à Faculdade
de Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências**

Programa de Ciências da Reabilitação.

**Orientadora: Profa. Dra. Fátima
Aparecida Caromano**

São Paulo

2017

ISABELA PESSA ANEQUINI LEITE

**Caracterização da força e da função muscular nas disferlinopatias em
amostra brasileira**

**Dissertação apresentada à Faculdade
de Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências**

Programa de Ciências da Reabilitação

**Orientadora: Profa. Dra. Fátima
Aparecida Caromano**

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A
versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

**São Paulo
2017**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Leite, Isabela Pessa Anequini
Caracterização da força e da função muscular nas
disferlinopatias em amostra brasileira / Isabela
Pessa Anequini Leite. -- São Paulo, 2017.
Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências da Reabilitação.
Orientadora: Fátima Aparecida Caromano.

Descritores: 1.Distrofia muscular do cingulo dos
membros 2.Miopatias distais 3.Disferlinopatia
4.Debilidade muscular 5.Destreza motora 6.Evolução
clínica

USP/FM/DEB-389/17

Dedicatória

Dedico este trabalho a todos os pacientes com doenças neuromusculares que foram atendidos por mim nesta jornada de 12 anos de profissão. A vocês que permitiram ser tocados, estudados e tratados.

Obrigada por me ajudarem a não desistir da fisioterapia e encontrar na neuromuscular a alegria e a realização profissional. Suas grandes limitações me fizeram enxergar a beleza da construção do êxito nas pequenas conquistas.

Ao meu marido, Lucas Caixeta, por compreender a importância desta etapa, pela paciência nos momentos difíceis e pelas abdições e escolhas. Sempre Juntos!

A minha pequena Beatriz que já faz parte deste momento.

Agradecimentos

Agradeço a Deus, pelo dom da vida. Pelo dom concedido de poder tocar os pacientes levando conforto e amor.

Aos meus familiares, especialmente meu pai Carlos e minha irmã Natália, que sempre souberam do meu sonho, me apoiaram e não me deixaram desistir.

A minha querida mãe Rosangela que continua a me proteger e me guiar.

A minha tia Rosane e minha prima Selma que foram fonte de inspiração para persistir na busca pelo mestrado, pela pesquisa e pela vida acadêmica.

Ao meu marido Lucas, pelo amor e companheirismo.

A minha orientadora Profa. Dra. Fátima Caromano, que me abriu as portas do seu laboratório e do seu coração para realizar um sonho, compreendendo meus anseios e minhas limitações. Pelo reconhecimento e motivação.

A Profa. Dra. Mayana Zatz, por permitir acesso aos pacientes, às avaliações fisioterapêuticas e por todo conhecimento transmitido.

Ao Centro de Pesquisa sobre o Genoma Humano e Células Tronco e a Associação Brasileira de Distrofia Muscular, por me permitirem fazer parte do vasto mundo da neuromuscular. Pela possibilidade de tratar os pacientes, conhecer as famílias, aprender com os profissionais e ampliar meus conhecimentos sobre as doenças e a genética. Por me instigar a pesquisar e criar um novo olhar sobre o tratamento fisioterapêutico.

***“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas,
mas ao tocar uma alma humana,
seja apenas outra alma humana”***

Carl Jung

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

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

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

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

Apresentação

Esta dissertação será apresentada em dois capítulos. O primeiro, uma revisão que tem por objetivo revisar de forma crítica a literatura acerca das distrofias musculares de cinturas, abordando em especial a disferlinopatia, suas características genotípicas e fenotípicas e desenvolver um texto didático atualizado do tema.

Este capítulo foi, posteriormente, reorganizado e submetido à publicação em revista nacional.

O segundo capítulo apresenta a pesquisa realizada para caracterizar a força e a função muscular de amostra brasileira de pacientes com disferlinopatia.

Este texto foi adequado à forma de artigo e submetido à publicação em revista internacional.

Leite IPA. *Caracterização da força e da função muscular nas disferlinopatias em amostra brasileira* [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

Resumo

Introdução: As disferlinopatias são doenças genéticas causadas por alterações no gene da disferlina (DYSF), também denominadas distrofia muscular de cinturas (DMC) do tipo 2B, sendo a segunda em frequência em diversos países. A determinação de biomarcadores de função muscular desta doença se faz necessária. **Objetivo:** Estudo de caracterização da força e da função muscular nas disferlinopatias para estabelecer biomarcadores de habilidades motoras. **Método:** Amostra de 40 pacientes com dados de prontuário de força muscular (*Medical Research Council* - MRC), índice MRC, tempo de deambulação de 10 metros e, escalas de Vignos, *Egen Klassifikation*, Avaliação Funcional para distrofia muscular de Duchenne (FES-DMD) e *North Star Ambulatory Assessment* adaptada (a-NSAA). **Resultados:** Prevalência da disferlinopatia de 25,5% no Centro de Pesquisa sobre o Genoma Humano e Células Tronco, idade média de 36,5 anos, 52,5% do sexo masculino e 75% deambuladores. Músculos mais acometidos: abdominal, glúteo, íliopsoas, isquiotibial, quadríceps femoral, tibial anterior e deltoide médio. Correlação forte entre MRC e tempo de deambulação de 10 metros (média $r=0,77$) e, muito forte da MRC distal dos MMII com a-NSAA ($r=0,90$). Interação da MRC dos membros superiores (MMSS) e membros inferiores (MMII) entre os segmentos proximal e distal ($p<0,001$), sendo mais evidente em MMSS do que em MMII. Taxa variável de progressão da doença, com 60% dos pacientes moderadamente ou gravemente afetados com menos de 12 anos de doença. **Conclusão:** Os achados caracterizam o padrão de fraqueza muscular dos brasileiros com disferlinopatia como proximal e distal dos MMII, com comprometimento associado da região proximal dos MMSS, além de elucidar as habilidades motoras em relação ao processo de locomoção. A forte correlação encontrada entre a força muscular, o tempo de deambulação de 10 metros e a escala a-NSAA, associada ao acompanhamento da evolução do desempenho de alguns grupos músculos podem fornecer um biomarcador adequado para o estudo da doença.

Descritores: distrofia muscular do cingulo dos membros; miopatias distais; disferlinopatia; debilidade muscular; destreza motora; evolução clínica.

Leite IPA. *Characterization of muscle strength and function in Brazilian subjects with dysferlinopathy* [Dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2017.

Abstract

Introduction: Dysferlinopathies are genetic diseases, caused to changes in the dysferlin gene (DYSF), also named limb-girdle dystrophy type 2B, that is the second one in frequency in several countries. The small number of biomarkers of functional performance researches brings the need for studies in this area.

Objective: This study characterizes muscle strength and function in subjects with dysferlinopathy to establish biomarkers of motor skills.

Method: Data were available from 40 patients and included muscle strength assessment using the Medical Research Council (MRC) power scale, MRC index, timed motor performances for walking and data from the Vignos, Egen Klassifikation, Functional Assessment for Duchenne muscular dystrophy (FES-DMD) and the adapted North Star Ambulatory Assessment (a-NSAA) scales. **Results:** The prevalence of dysferlinopathy was 25.5% in the Centre for the Study of the Human Genome and Stem Cells (CEGH-CEL), the mean cohort age was 36.5 years, 52.5% were males and 75% were walkers. The weaker muscle found were the abdominal, gluteus, iliopsoas, hamstrings, quadriceps femoris, tibialis anterior and medial deltoid. Strong correlations were observed between the MRC power score and walking time ($r = 0.77$) and very strong between the MRC distal lower limb power score and a-NSAA ($r = 0.90$). Interactions of MRC scores were observed between the upper and lower limbs and the proximal and distal regions ($p < 0.001$) but were more evident in the upper limbs. The disease progression rates were variable with 60% of patients moderately or severely affected after more than 12 years since diagnosis. **Conclusion:** These findings suggest the pattern of muscular weakness in Brazilians with dysferlinopathy is predominantly in the lower limbs (proximal and distal) with associated involvement of the proximal upper limbs and elucidates the motor abilities in relation to locomotion. Due to the strong correlation with muscle strength, the walking time and the a-NSAA scale, in association with monitoring the evolution of the performance of some specific muscles can provide a suitable biomarker for the study of the disease.

Descriptors: muscular dystrophy, limb-girdle; distal myopathy; dysferlinopathy; muscle weakness; motor skills; clinical evolution.

Sumário

Lista de abreviaturas	
Lista de tabelas	
Resumo	
Abstract	

Capítulo I. Revisão da literatura e texto didático atualizado

1	Introdução	I-2.
2	Objetivo	I-3.
3	Método	I-3.
4	Resultados	I-4.
	Classificação das disferlinopatias	I-6.
	Fisiopatologia das disferlinopatias	I-9.
	Diagnóstico das disferlinopatias	I-11.
	Epidemiologia das disferlinopatias	I-13.
	Quadro clínico-funcional das disferlinopatias	I-14.
	Tratamento das disferlinopatias	I-17.
5	Considerações finais	I-17.

Capítulo II. Caracterização da força e da função muscular nas disferlinopatias em amostra brasileira

1	Introdução	II-2.
2	Objetivos	II-4.
3	Método	II-4.
	Participantes	II-5.
	Coleta de dados	II-6.
	Análise de dados	II-10.
4	Resultados	II-10.
	4.1 Dados demográficos	II-10.
	4.2 Características clínicas gerais	II-11.
	4.3 Força muscular	II-13.
	4.4 Função cardiorrespiratória	II-16.
	4.5 Correlações entre variáveis	II-17.
	4.5.1 Índice MRC e dados demográficos	II-17.
	4.5.2 Índice MRC e escalas clínicas	II-18.
	4.5.3 Padrão do índice MRC nos segmentos corporais	II-22.
5	Discussão	II-24.
6	Conclusão	II-35.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

ANEXOS

Anexo 1: Documento de Liberação de Dados	IV-1.
Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	IV-2.
Anexo 3: Aprovação do Comitê de Ética	IV-5.

REFERÊNCIAS

Referências do Capítulo I	V-1.
Referências do Capítulo II	V-9.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I. Revisão da literatura e texto didático atualizado

Figura 1 - Esquema representativo de algumas das proteínas da fibra muscular que quando deficientes causam as distrofias musculares de cinturas I-8.

Capítulo II. Caracterização da força e da função muscular nas disferlinopatias em amostra brasileira

Figura 1 - Descrição do processo de seleção da amostra brasileira de pacientes com disferlinopatia acompanhados no setor de Fisioterapia Neurofuncional do CEGH-CEL/USP II-6.

Figura 2 - Presença de atrofia e pseudohipertrofia muscular em quatro pacientes diferentes da amostra II-12.

Figura 3 - Comparação da força muscular manual pela média do escore da MRC em diferentes grupos musculares II-15.

Figura 4 - Comparação da força muscular manual pela média do índice MRC por segmento corporal..... II-15.

Figura 5 - Correlação entre as variáveis demográficas II-17.

Figura 6 - Correlação entre os escore segmentares do índice MRC e o escore da a-NSAA II-18.

Figura 7 - Correlação entre os escores segmentares do índice MRC e o tempo de deambulação de 10 metros II-19.

Figura 8 - Correlação entre o tempo de deambulação de 10 metros e os escores das escalas clínicas II-20.

Figura 9 - Gravidade da doença e duração da doença. Porcentagem de pacientes dentro de cada categoria de gravidade por meio da estratificação do escore da escala de a-NSAA II-21.

Figura 10 - Interação entre o índice MRC nos segmentos corporais em pacientes deambuladores e cadeirantes II-23.

LISTA DE TABELAS

Capítulo I. Revisão da literatura e texto didático atualizado

Tabela 1 - Artigos referentes às disferlinopatias e os temas abordados I-5.

Tabela 2 - Classificação das distrofias musculares tipo cinturas..... I-7.

Capítulo II. Caracterização da força e da função muscular nas disferlinopatias em amostra brasileira

Tabela 1 - Dados demográficos da amostra..... II-12.

LISTA DE ABREVIATURAS

Capítulo I. Revisão da literatura e texto didático atualizado

DM	distrofia(s) muscular(es)
CK	creatinofofoquinase plasmático
MM	miopatia de Miyoshi
DMC2B	distrofia muscular de cinturas do tipo 2B
DMC	distrofia muscular de cintura-membros
<i>DYSF</i>	gene da disferlina
Kb	kilobase
kDa	kilodalton
DNA	ácido desoxirribonucleico
NGS	<i>Next-generation sequencing</i>
DMC2I	distrofia muscular de cinturas do tipo 2I
FKRP	fukutin-related protein
DMC2A	distrofia muscular de cinturas do tipo 2A (calpainopatia)
DMC2C	distrofia muscular de cinturas do tipo 2C (sarcoglicanopatia)
DMC2D	distrofia muscular de cinturas do tipo 2D (sarcoglicanopatia)
DMC2E	distrofia muscular de cinturas do tipo 2E (sarcoglicanopatia)
DMCEF	distrofia muscular de cinturas do tipo 2F (sarcoglicanopatia)
DMD	distrofia muscular de Duchenne
MMII	membros inferiores
DMC2L	distrofia muscular de cinturas do tipo 2L

Capítulo II. Caracterização da força e da função muscular nas disferlinopatias em amostra brasileira

<i>DYSF</i>	gene da disferlina
MM	miopatia de Miyoshi
DMC	distrofia muscular de cintura-membros
DMC2B	distrofia muscular de cinturas tipo 2B
DM	distrofia muscular
EK	Egen Klassifikation
FES-DMD	Avaliação Funcional para distrofia muscular de DMD/ <i>Functional Evaluation Scale</i>
a-NSAA	<i>North Star Ambulatory Assessment</i> adaptada
CEGH-CEL	Centro de Pesquisa sobre o Genoma Humano e Células Tronco
MRC	<i>Medical Research Council</i>
MMSS	membros superiores
MMII	membros inferiores
DMD	distrofia muscular de Duchenne
NSAA	<i>North Star Ambulatory Assessment</i>
RM	ressonância magnética
AFO	<i>ankle foot orthosis</i>

1. Introdução

As doenças neuromusculares são distúrbios causados por anomalias de qualquer componente do neurônio motor inferior, a exemplo das doenças originadas no corno anterior da medula, nervo periférico, junção neuromuscular ou músculo. O distúrbio não é isolado e em muitas destas doenças há múltiplos sistemas afetados.

As distrofias musculares (DM) destacam-se dentre estas doenças por sua origem genética (McDonald, 2012; Barra & Baraldi, 2013) e são caracterizadas por degeneração primária dos músculos, provenientes de defeitos ou ausência de diferentes proteínas na fibra muscular (núcleo, sarcoplasma, sarcômero, sarcolema e/ou matriz extracelular) (Argov et. al., 2000; Wicklund & Kissel, 2014).

São achados clínico-funcionais nesta doença, a fraqueza muscular nas cinturas e nos membros, níveis muito elevados de creatinofosfoquinase plasmático (CK) e características histológicas de miopatia necrosante com regeneração e infiltração do tecido conjuntivo (Argov et al., 2000).

As disferlinopatias formam grupo de doenças neuromusculares genéticas, de herança autossômica recessiva, com degeneração primária dos músculos por alterações na produção da proteína disferlina. Os principais fenótipos encontrados são a miopatia de Miyoshi (MM) e a distrofia muscular de cinturas do tipo 2B (DMC2B). As disferlinopatias são a segunda doença neuromuscular genética mais comum em frequência em diversos países (Argov et. al., 2000).

Os estudos sobre estas doenças são direcionados e não abordam concomitantemente os aspectos epidemiológicos, fisiopatológicos e fenotípicos das doenças com análise crítica e ampla sobre a função muscular e as possibilidades de intervenção, especialmente a fisioterapêutica.

2. Objetivo

O objetivo da primeira parte do estudo foi realizar revisão bibliográfica sobre as distrofias musculares do tipo cinturas (DMC), com enfoque nas disferlinopatias, para construção de texto didático atualizado com informações clínico funcionais, organizado por categorias de conhecimento, para elucidação e norteamiento do tratamento terapêutico, especialmente do fisioterapêutico.

3. Método

Busca ativa na base de dados Medline-PubMed, *US National Library of Medicine National - Institutes of Health*, utilizando diversas combinações das seguintes palavras chave: *muscular dystrophy, limb-girdle, DYSF protein human, distal myopathies, dysferlinopathy, muscle weakness e clinical evaluation.*

Foram incluindo artigos das línguas portuguesa, inglesa e espanhola, dos períodos de 2006 a 2016.

A análise dos resultados encontrados foi realizada por meio da organização dos artigos por assunto abordado.

4. Resultados

Foram encontrados 57 artigos sobre o tema disferlinopatia, dentre estes 14 abordavam informações sobre as DMC, 37 traziam informações sobre a fisiopatologia das disferlinopatias, 32 focavam formas de diagnóstico das disferlinopatias, 16 discorriam sobre a epidemiologia da doença, 28 descreviam o quadro clínico-funcional das disferlinopatias com informações sobre fraqueza muscular e habilidades motoras e, cinco artigos abordavam o tratamento medicamentoso e/ou possibilidade de tratamentos genéticos.

Na Tabela 1 encontram-se os resultados da revisão bibliográfica. São apresentadas as referências e os respectivos temas abordados.

A partir da leitura crítica dos artigos foi organizado um texto didático com a finalidade de atualizar o conhecimento sobre o tema. Este texto é apresentado na sequência.

Tabela 1. Artigos referentes às disferlinopatias e os temas abordados.

Artigos	Temas					
	DMC	Fisiopatologia	Diagnóstico	Epidemiologia	Quadro clínico-funcional	Tratamento
Aartsma-Rus et al., 2010		X				X
Abdullah et al., 2014		X				
Angelini, 2015		X				
Angelini et al., 2010	X	X	X		X	
Aparicio-Meix 1998	X	X	X		X	
Argov et al., 2000		X	X	X		
Barthélémy et al., 2011		X				X
Bolduc et al., 2010		X	X		X	
Bushby, 2009	X	X				
Cagliani et al., 2003			X			
Chae et al., 2015			X	X		
Chiu et al., 2009		X				
Díaz-Manera et al., 2015	X	X	X			
Diniz et al., 2012		X	X	X	X	
Guglieri et al., 2008				X		
Halevy et al., 2013					X	X
Han & Campbell, 2007		X				
Harris et al., 2016		X	X	X	X	
Huang et al., 2007		X				
Illa et al., 2001		X	X			
Klinge et al., 2008		X	X			
Klinge et al., 2010		X	X		X	
Kraya & Zierz, 2013					X	
Laing, 2012	X	X	X			
Leshinsky-Silver et al., 2007				X		
Licinio, 2011	X	X			X	
Linssen et al., 2013		X			X	
Liu et al., 1998		X				
Lo et al., 2008	X	X	X	X		
Mahjneh et al., 2001				X	X	
Mahmood & Jiang, 2014	X		X		X	
Manzur & Muntoni, 2009	X	X	X		X	
McDonald, 2012	X		X		X	
Moore et al., 2006	X			X		
Morrée et al., 2013		X				
Munain & Urtizberea, 1998	X		X		X	
Nalini & Gayathri, 2008				X	X	
Nguyen et al., 2007			X		X	
Nigro et al., 2011		X	X			X
Nilsson et al., 2013		X	X			
Oh et al., 2004		X	X	X	X	
Passos-Bueno et al., 1996			X	X	X	
Pimentel, 2008	X		X	X	X	
Rawat et al., 2010		X				
Rosales et al., 2010		X	X		X	
Schneider et al., 2014					X	
Seror et al., 2008			X		X	
Shin et al., 2015		X	X			
Soares et al., 2003			X		X	
Sula et al., 2014		X				
Takahashi et al., 2013		X			X	
Ueyama et al., 2002			X		X	
Vainzof et al., 2001		X		X		
Vasli et al., 2012			X			
Weiler et al., 1996		X	X		X	
Wicklund & Kissel, 2014	X	X	X	X	X	X
Zhao et al., 2013		X		X		

Legenda: DMC: distrofia muscular de cinturas-membros.

DISFERLINOPATIAS

Classificação das disferlinopatias

As DMC, que afetam as cinturas escapular e pélvica e os membros superiores e inferiores, formam um grupo grande e heterogêneo de doenças com mais de 20 subtipos e com características clínicas diferenciadas.

As que são transmitidas por meio de herança autossômica dominante, ou seja, quando é necessária a presença de apenas uma mutação em um dos alelos para apresentação dos sintomas, são designadas como tipo 1. As de herança autossômica recessiva, quando são necessárias mutações nos dois alelos para que os sintomas se manifestem, são designadas como tipo 2. Esta numeração é seguida de uma letra maiúscula que determina qual a proteína faltante (Bushby, 2009; McDonald, 2012).

A classificação das distrofias musculares do tipo cinturas pode ser observada na Tabela 2.

Tabela 2. Classificação das Distrofias Musculares Tipo Cinturas

Distrofia Muscular de Cinturas Autossômica Dominante - tipo 1				
Doença	Locus	Gene	Exons	Proteína resultante
DMC1A	5q31.2	MYOTM	10	Miotilina
DMC1B	1q22	LMNA	12	Lamina a/C
DMC1C	3p25.3	CAV3	2	Caveolina 3
DMC1D	7q36	DNAJB6	10	DnaJ/Hsp40
DMC1E	2q35	DES	9	Desmin
DMC1F	7q32	TNPO3	23	Transportina 3
DMC1G	4p21	HNRPDL	9	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D-like protein
DMC1H	3p23-p25	-	-	-
Distrofia Muscular de Cinturas Autossômica Recessiva - tipo 2				
Doença	Locus	Gene	Exons	Proteína resultante
DMC2A	15q15	CAPN3	24	Calpaina-3
DMC2B	2p13.2	DYSF	56	Disferlina
DMC2C	13q12	SGCG	8	γ-sarcoglicana (gama)
DMC2D	17q21.33	SGCA	10	α-sarcoglicana (alfa)
DMC2E	4q12	SGCB	6	β-sarcoglicana (beta)
DMC2F	5q33	SGCD	9	δ-sarcoglicana (delta)
DMC2G	17q12	TCAP	2	Teletonina
DMC2H	9q31.1	TRIM32	2	E3-ubiquitin ligase
DMC2I	19q13.3	FKRP	4	FKRP
DMC2J	2q24.3	TTN	312 ou mais	Titina
DMC2K	9q34.1	POMT1	20	O-mannosyl transferase 1
DMC2L	11p13-p12	ANO5	22	Anoctamina 5
DMC2M	9q31	FKTN	11	Fukutina
DMC2N	14q24	POTM2	21	O-mannosyl transferase 2
DMC2O	1p34.1	POMGnT1	22	O-linked mannose beta1,2-Nacetylglucosaminyl transferase
DMC2P	3p21	DAG1	3	Distroglicana
DMC2Q	8q24	PLEC1	32	Plectina
DMC2R	2q35	DES	9	Desmina
DMC2S	4q35	TRAPPC11	30	Transport protein particle complex 11
DMC2T	3p21	GMPPB	8	GDP-mannose pyrophosphorylase B
DMC2U	7p21	ISPD	10	Isoprenoid synthase domain containing
DMC2V	17q25.3	GAA	20	Alpha-1,4-glucosidase
DMC2W	2q14	LIMS2	7	Lim and senescent cell antigen-like domains 2

Fonte: Modificada de Aparicio-Meix, 1998; McNally & Pytel, 2007; Lo et al., 2008; Manzur & Muntoni, 2009; Licinio, 2011; Nigro et al., 2011; Laing, 2012; Nigro & Savarese, 2014.

Legenda: DMC: distrofia muscular de cintura-membros.

A Figura 1 é um esquema da relação entre algumas proteínas das fibras musculares e suas respectivas doenças, as DMC dominantes e recessivas.

Figura 1. Esquema representativo de algumas das proteínas da fibra muscular que quando deficientes causam as distrofias musculares de cinturas.

Fonte: Figura desenvolvida pela autora a partir dos esquemas apresentados por Lorenzo, 2007 e Gonzles, 2013.

Legenda: Ao lado de cada protena encontra-se a abreviatura da doena causada por sua deficincia. DMC: distrofia muscular de cinturas (tipos 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 2F, 2G, 2H, 2i, 2J).

Fisiopatologia das disferlinopatias

O gene da disferlina (DYSF) contém 56 exons e abrange uma região de 150 Kilobase (Kb) (Liu et al., 1998), sendo um Kb equivalente a mil nucleotídeos. Está localizado no braço curto do cromossomo 2, no loco 12-14 (Manzur & Muntoni, 2009) e codifica a proteína disferlina que tem tamanho 237 kilodalton (kDa) e está presente na periferia das fibras musculares esqueléticas (Licinio, 2011; Diniz et al., 2012). O kDa é uma unidade de massa atômica e corresponde a metade da massa de um átomo de carbono 12.

A disferlina não está associada ao complexo distrofina-glicoproteína como a maioria das proteínas envolvidas nas DM (Bushby, 2009). Ela é um membro da família ferlina e encontra-se ligada à membrana do sarcolema por meio da proteína caveolina (Abdullah et al., 2014; Sula et al., 2014). Sua função está relacionada à contração muscular nos eventos de fusão da membrana mediados por cálcio (Bansal et al., 2003; Diniz et al., 2012; Abdullah et al., 2014; Sula et al., 2014). Pressupõe-se que esteja envolvida no processo de regeneração e reparação da membrana (Diniz et al., 2012; Wicklund & Kissel, 2014).

Em condições normais, esta proteína encontra-se em vesículas citoplasmáticas. Durante o rompimento da membrana ocorre aumento da entrada de cálcio na fibra muscular e acúmulo do mesmo ao redor do local de ruptura, evento que ativa as proteases como a calpaína, culminando com a clivagem das proteínas do citoesqueleto. Paralelamente, o cálcio age ativando as vesículas que carregam a disferlina, que quando fundidas à membrana

plasmática, promovem o reparo da mesma (Han & Campbell, 2007; Licinio, 2011). Esta sequência é conhecida como a “hipótese do remendo”, na qual o reparo da membrana requer acúmulo e fusão das vesículas umas com as outras e com membrana plasmática no local de ruptura (Diniz et al., 2012).

A disferlina também possui participação no recrutamento e estabilização de outra proteína no sarcolema, a AHNAK que parece estar envolvida na formação da barreira hematoencefálica, na arquitetura e migração celular, na regulação dos canais de cálcio do coração e na reparação da membrana muscular (Huang et al., 2007).

O sistema muscular dos pacientes com disferlinopatia é caracterizado por infiltrados massivos de células imunitárias e monócitos disferlino-negativos que são mais agressivos e fagocitam mais partículas. Estes monócitos apresentam desregulação da expressão da fibronectina (uma glicoproteína produzida pelos fibroblastos do tecido conjuntivo), comprometendo a adesão das proteínas à superfície celular (Morrée et al., 2013).

A deficiência de disferlina provoca ainda, a redução de citocinas e da secreção de quimiocinas, que são mediadores e reguladores da inflamação, consequentemente, gerando desequilíbrio no recrutamento e manutenção das células do sistema imunológico (Chiu et al., 2009; Rawat et al., 2010).

As mutações no gene da disferlina têm sido identificadas como de causa recessiva (Bushby, 2009; Diniz et al., 2012).

Diagnóstico das disferlinopatias

Mais de 300 mutações que afetam a produção da disferlina já foram descritas, com grande variação inter e intrafamiliar no fenótipo (Illa et al., 2001; Cagliani et al., 2003; Diniz et al., 2012). Estas mutações estão distribuídas ao longo de todo o gene, sem qualquer loco considerado como "ponto quente", o que tornou, por muito tempo, o rastreamento da doença inviável por meio de métodos de sequenciamento genéticos convencionais demorado e trabalhoso (Passos-Bueno et al., 1996; Soares et al., 2003; Pimentel, 2008; Diniz et al., 2012; Shin et al., 2015).

A biópsia muscular foi utilizada durante muitas décadas para o diagnóstico das disferlinopatias. O procedimento consiste na retirada e congelamento de um fragmento do tecido muscular por meio de uma inserção cirúrgica. Posteriormente, o material é preparado e submetido à diferentes substâncias que produzem reações histoquímicas, e são analisadas por microscopia eletrônica (Manzur & Muntoni, 2009; Mahmood & Jiang, 2014; Shin et al., 2015). Nesta análise, são utilizados anticorpo específicos, e no caso da disferlinopatia, a anti-disferlina (Mahmood & Jiang, 2014; Shin et al., 2015). Nos pacientes com DMC2B, a biópsia apresenta infiltrado inflamatório característico que, muitas vezes, pode ser tão intenso, que se assemelha ao encontrado nas miopatias inflamatórias.

Esta característica fez com que, no passado, muitos pacientes fossem inadequadamente diagnosticados (Nguyen et al., 2007; Rosales et al., 2010), com quase 25% dos pacientes com disferlinopatias inicialmente diagnosticados com polimiosite (Nguyen et al., 2007). O diagnóstico não assertivo pode levar a

intervenções terapêuticas desnecessárias, potencialmente perigosas, tais como a administração oral, por longos períodos, de corticosteróides ou imunossupressores (Nguyen et al., 2007).

O exame de DNA (ácido desoxirribonucleico), por meio do sequenciamento de nova geração (NGS - *next-generation sequencing*), permitiu a análise concomitante de diversos genes relacionados às DM (Rosales et al., 2010), tornando possível a confirmação diagnóstica de quase metade dos pacientes com DM, que permaneceram por muitos anos sem diagnóstico fechado (Vasli et al., 2012). A análise pelo NGS é feita por meio da coleta de sangue venoso (Vasli et al., 2012). Após coleta do sangue, a amostra é pré-processada em laboratório para extração e armazenamento do DNA. Este é preparado para ser analisado por sequenciadores automáticos que codificam e digitalizam as sequências de DNA e, por meio de programas computacionais sofisticados, comparam os resultados com bases de dados previamente selecionadas (Klinge et al., 2008; Chae et al., 2015). Posteriormente, os resultados são interpretados por profissionais especializados como bioinformática, biomédicos, biólogos e médicos (Klinge et al., 2008; Laing, 2012; Chae et al., 2015).

Esta nova técnica vem tornando-se um aliado poderoso para os profissionais envolvidos com diagnóstico e aconselhamento genético de diversas DM, permitindo o embasamento para tomada de decisão clínico-terapêutica e ensaios terapêuticos (Laing, 2012; Vasli et al., 2012; Chae et al., 2015). No caso das disferlinopatias este método é necessário para o diagnóstico, visto que, na biópsia esta proteína pode produzir resultados falsos negativos, pois a degradação da disferlina pode estar presente em outras DMC

(Nilsson et al., 2013; Shin et al., 2015). Portanto, é consenso que o NGS deve ser implementado no diagnóstico genético de rotina como a primeira abordagem de triagem, evitando a necessidade de exames mais invasivos como a biópsia muscular (Vasli et al., 2012; Angelini, 2015).

Epidemiologia das disferlinopatias

A incidência das DMC, em geral, é de um a cada 20.000 indivíduos nascidos vivos (Wicklund & Kissel, 2014), sendo que há variação de incidências nos subtipos em populações específicas. Os países do norte da Europa têm maior incidência de DMC2I por ausência da proteína FKRP (*fukutin-related protein*), enquanto que, há maior incidência de sarcoglicanopatias (DMC dos tipos 2C, 2D, 2E e 2F) no norte da África e, de DMC do tipo 2A (DMC2A), na Europa ocidental e Austrália (Lo et al., 2008).

A DMC2B é a segunda forma em frequência em muitos países, sendo de cerca de 15 a 25% (Nigro et al., 2011). A prevalência encontrada na Itália foi de 28,4% em 181 pacientes de 155 famílias (Guglieri et al., 2008); na Índia, 25% (Nalini & Gayathri, 2008), nos Estados Unidos da América, 18% em 6 centros de referência (Moore et al., 2006) e na Austrália, 5% em estudo de Coorte de 76 pacientes (Lo et al., 2008).

Estudo brasileiro realizado por Vainzof et al. (2001) encontrou 24 pacientes com deficiência de disferlina em total de 176 pacientes de 166 famílias, aproximadamente 14%, representando, assim, a segunda forma mais

frequente de DMC nesta população, sendo a calpainopatia (DMC2A) a mais frequente.

Na Turquia Ocidental a prevalência é de 12,3%, sendo a distrofia mais comum nos pacientes mais velhos (78,5%), com média de idade de 30,9 anos, variando de 14 a 64 anos de idade (Diniz et al., 2012).

Leshinsky-Silver et al. (2007) identificaram em Israel, entre judeus da região do Cáucaso, uma frequência de 4% de portadores da mutação no gene da disferlina nesta comunidade. Entre os judeus na Líbia, a frequência das mutações neste gene foi de 10%, com prevalência de um a cada 1.300 adultos (Argov et al., 2000).

Quadro clínico-funcional das disferlinopatias

As disferlinopatias agrupam três doenças com diferentes fenótipos, são elas, a DMC2B, a MM e a doença com fraqueza de padrão proximo-distal. Na DMC2B, a fraqueza é predominantemente proximal. Na MM a fraqueza é distal, principalmente nos músculos das panturrilhas, e com acometimento precoce dos músculos do compartimento anterior das pernas (quadríceps). A doença com fraqueza de padrão proximo-distal, mais rara, é caracterizada pela atrofia dos músculos bíceps braquial e das panturrilhas e hipertrofia do músculo deltoide. Muitas vezes, as características clínicas estão sobrepostas, ou seja, observa-se o envolvimento da fraqueza muscular tanto proximal quanto distal, dificultando o diagnóstico preciso do tipo de disferlinopatia (Ueyama et al., 2002; Klinge et al., 2010; Wicklund & Kissel, 2014).

A DMC2B é caracterizada clinicamente pelo aumento da CK cerca de 10 a 100 vezes maior que o valor esperado e, afeta ambos os sexos (Aparicio-Meix 1998; Manzur & Muntoni, 2009). O início dos sintomas ocorre frequentemente na adolescência ou início da idade adulta (entre 15 a 30 anos) (Mahjneh et al., 2001; Nalini & Gayathri, 2008; Zhao et al., 2013), embora tenham sido relatados casos congênitos, ou seja, início dos sintomas ao nascimento, e casos com início dos sintomas tardio, aos 70 anos de idade (Wicklund & Kissel, 2014).

O padrão de fraqueza da DMC2B tende a ser semelhante ao da distrofia muscular de Duchenne (DMD), afetando os músculos da cintura pélvica e membros inferiores (MMII) (iliopsoas, quadríceps femoral e gastrocnêmio), sendo os membros superiores afetados tardiamente, com progressão mais lenta da fraqueza muscular (Angelini et al., 2010; McDonald, 2012). Há relato de afecção precoce dos músculos eretores da coluna, sem alterações posturais importantes observadas em ressonância magnética (Seror et al., 2008).

A perda da deambulação ocorre entre 10 e 30 anos, sendo que, a maioria dos pacientes caminha até a quarta década de vida. Há relatos de casos de início precoce com rápida perda de ambulação ao longo de 1 a 2 anos, especialmente relacionados com gravidez (Wicklund & Kissel, 2014). O comprometimento cardíaco ou respiratório é incomum ou ocorre no final da vida, e geralmente permanece clinicamente silencioso (Oh et al., 2004; Mahmood & Jiang, 2014) e a sobrevida é prolongada até quinta ou sexta décadas de vida (Munain & Urtizberea, 1998).

Pesquisas sugerem que a DMC2B apresenta quadro clínico mais brando que outras DMC, visto que, a idade média de início dos sintomas é significativamente mais tardia que a DMC2A e a perda da marcha também pode ocorrer após os 25 anos (Passos-Bueno et al., 1996). Quadro clínico mais leve também é encontrado na DMC do tipo 2L (DMC2L), com quadro clínico de fraqueza em cintura pélvica e em região distal dos MMII e sem alterações cardíacas (Bolduc et al., 2010; Schneider et al., 2014).

O quadro clínico da MM também é descrito pelo mesmo aumento da CK, início dos sintomas na idade adulta, entre a terceira e quarta década de vida, e na incapacidade para permanecer na ponta dos pés por comprometimento dos músculos gastrocnêmio e sóleo e, ocasionalmente, com envolvimento da musculatura paravertebral (Diniz et al., 2012; McDonald, 2012; Takahashi et al., 2013). Há atrofia das panturrilhas, dos bíceps braquiais e antebraços. Após 10 a 15 anos do início dos sintomas, torna-se necessário o uso de dispositivos de apoio para marcha e para a maioria dos pacientes, o uso da cadeira de rodas depois de 20 a 25 anos de doença (Kraya & Zier, 2013).

O relato de indivíduos com quadro clínico de DMC2B e MM em uma mesma família, com idade de início dos sintomas, alterações nos valores de CK, mutações genéticas e histologia muscular semelhantes, permite presumir que fatores adicionais (genéticos e não genéticos) podem contribuir para os fenótipos clínicos diferentes (Weiler et al., 1996). Estes achados reforçam a possibilidade de que disferlina possa interagir com outra proteína de modificação, produto de outro gene (Diniz et al., 2012).

Tratamento das disferlinopatias

Nas disferlinopatias, assim como outras doenças hereditárias, ainda não há estratégias terapêuticas para tratamento curativo. O tratamento com corticóide foi associado a efeitos colaterais significativos e não produziu melhora da força muscular (Wicklund & Kissel, 2014). A pesquisa com fármaco com potencial inibidor da fibrose muscular apresentou resultados em camundongos (Halevy et al., 2013). Paralelamente, os pesquisadores investem na avaliação das funções da proteína disferlina, nas mutações da DYSF e nos exons que podem ser alvos promissores para a viabilidade da técnica de *exon skipping* (Aartsma-Rus et al., 2010; Barthélémy et al., 2011).

Atualmente, as técnicas de manejo existentes incluem suporte físico com fisioterapia e uso de aditamentos (como por exemplo, o uso de bengalas e cadeira de rodas), suporte emocional, intervenção cirúrgica em caso de deformidades e contraturas e suporte e acompanhamento de funções cardíacas e respiratórias (Mahmood & Jiang, 2014).

Considerações finais

Esta revisão bibliográfica da literatura a respeito das disferlinopatias focou no detalhamento de temas relevantes para o ensino e para a elaboração de protocolos de tratamento e pesquisas clínicas. Foi possível evidenciar a necessidade de refinamento das pesquisas com a descrição clínico-funcional dos pacientes, gerando informações sobre a força de diferentes grupos musculares, bem como a análise detalhada da função muscular e a relação entre estas duas variáveis, de forma a elucidar melhor a progressão destas doenças e, estabelecer biomarcadores funcionais de evolução.

***Capítulo II - Caracterização da força e da função muscular nas
disferlinopatias em amostra brasileira***

1. Introdução

As disferlinopatias formam grupo de doenças neuromusculares genéticas, de herança autossômica recessiva (Takahashi et al., 2013; Harris et al., 2016), com alterações na produção da proteína disferlina, presente na membrana das fibras musculares e, que é codificada a partir do gene da disferlina (DYSF), localizado no cromossomo 2p12-14 (Manzur & Muntoni, 2009; Muntoni et al., 2003; Nigro, 2003; Brushby, 2009). Os principais fenótipos encontrados são a miopatias de Miyoshi (MM) e a distrofia muscular de cinturas (DMC) do tipo 2B (DMC2B) (Harris et al., 2016).

A DMC2B é a segunda forma em frequência dentre as DMC em diferentes países (McDonald, 2012; Nigro & Savarese, 2014), e apresenta fraqueza acentuada nos músculos das cinturas escapular e pélvica (Manzur & Muntoni, 2009; Diniz et al., 2012; McDonald, 2012; Nigro & Savarese, 2014). Enquanto que na MM a fraqueza é distal, principalmente nos músculos das panturrilhas (Wicklund & Kissel, 2014).

Diversos estudos foram realizados direcionados para a caracterização do acometimento e da evolução da doença, demonstrando alto grau de variabilidade no padrão de fraqueza, no entanto, há escassez de pesquisas sobre biomarcadores funcionais.

Os biomarcadores podem ser definidos como quaisquer variáveis genéticas, imunológicas e bioquímicas mensuráveis que permitem diagnosticar uma doença, indicar a ocorrência de uma determinada função normal ou patológica de um organismo ou ainda, determinar a correlação entre a intensidade da exposição e/ou o efeito biológico da substância (Schriefer &

Carvalho, 2008; Pedraz, 2011). Podem ainda ser utilizados para estratificar doentes e identificar a gravidade ou progressão de uma determinada doença, prever um prognóstico ou monitorizar um determinado tratamento. Sua natureza pode ser de diversos tipos, tais como, fisiológicos, histológicos, anatômicos ou funcionais (Pedraz, 2011).

A fisioterapia é uma ciência da área da saúde que estuda, promove prevenção e trata os distúrbios cinéticos funcionais do corpo humano, decorrentes de alterações de órgãos e sistemas gerados por alterações genéticas, traumas, repercussões psíquicas ou por doenças adquiridas. No processo fisioterapêutico, o profissional realiza o diagnóstico e prognóstico dos distúrbios cinético-funcionais e a prescrição e intervenção fundamentando suas ações em mecanismos terapêuticos próprios, sistematizados pelos estudos de diversas áreas da saúde (Coffito, 1975).

Nas distrofias musculares (DM), o objetivo da fisioterapia foi descrito como capacitar o indivíduo a adquirir controle dos seus movimentos, do equilíbrio e da coordenação geral, retardar a fraqueza muscular, corrigir o alinhamento postural, evitar a fadiga, desenvolver a força dos músculos respiratórios e o controle da respiração pelo uso correto do diafragma, além de prevenir o encurtamento muscular precoce (Cohen 2001; Frezza, 2005).

Desta forma, a escassez de pesquisas sobre biomarcadores funcionais pode ser amenizada pela exploração científica do padrão de envolvimento muscular, da progressão das fraquezas e da função muscular possibilitando a geração de ferramenta confiável de acompanhamento evolutivo da doença para que o profissional fisioterapeuta possa desempenhar seu papel no tratamento das disferlinopatias.

2. Objetivos

Primário

Caracterizar a força e função muscular de amostra de pacientes com disferlinopatia de um centro de referência em doenças genéticas.

Secundários

Investigar a correlação entre diferentes variáveis, considerando dois grupos de pacientes, deambuladores e cadeirantes. As variáveis pesquisadas foram a idade, o início dos sintomas, o tempo de doença, a força muscular, o tempo de deambulação de 10 metros, o escore da escala de Vignos, o escore da escala de Egen Klassifikation (EK), o escore da escala de Avaliação Funcional para DMD/*Functional Evaluation Scale* (FES-DMD) e o escore da *North Star Ambulatory Assessment* adaptada (a-NSAA).

Indicar as variáveis que melhor se associam com a perda de força muscular para serem utilizadas como biomarcadores.

3. Método

Estudo transversal, descritivo, retrospectivo, com uso do banco de dados de doenças neuromusculares genéticas do Centro de Estudo sobre o Genoma Humano e Células Tronco (CEGH-CEL) do Departamento de Biologia - Instituto

de Biociências da Universidade de São Paulo. O documento de liberação dos dados encontra-se no Anexo 1.

No setor de Fisioterapia Neurofuncional do CEGH-CEL são acompanhados cerca de 1340 pacientes com diversas doenças neuromusculares.

A amostra desta pesquisa contou com 40 pacientes com disferlinopatia, com média de idade de $36,5 \pm 10,2$ anos, mediana de 33,5 anos, idade variando entre 18 a 62 anos. Vinte e um (52,5%) eram do sexo masculino e 19 (47,5%) do sexo feminino.

Em uma primeira análise dos prontuários de pacientes avaliados no período de 2008 a 2016, foram encontrados 45 pacientes com disferlinopatia; entretanto cinco pacientes foram excluídos por terem realizado seu diagnóstico fora do CEGH-CEL e/ou pela falta de informações precisas sobre o diagnóstico e o quadro clínico.

Todos os pacientes assinaram termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2).

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo número do processo 64577316.5.0000.0065 (Anexo 3).

Participantes

A Figura 1 mostra o processo de seleção de pacientes, via análise de documentação, que resultou em amostra de 40 pessoas.

Figura 1. Descrição do processo de seleção da amostra brasileira de pacientes com disferlinopatia acompanhados no setor de Fisioterapia Neurofuncional do CEGH-CEL/USP.

Legenda: DMC: distrofia muscular de cintura-membros

Coleta de dados

As informações clínico-funcionais foram coletadas a partir do prontuário de avaliação utilizado no Setor de Fisioterapia Neurofuncional. Os dados coletados foram o sexo, a idade, o período de início dos sintomas da doença, data do diagnóstico, a idade da perda da marcha, os sinais clínicos específicos presentes e relatados, os informes sobre função cardiorrespiratória e a presença de comorbidades, as medidas de força muscular obtidas por meio da técnica proposta pelo *Medical Research Council* (MRC) e pelo cálculo do índice de força muscular por segmento corporal (índice MRC) e o tempo de deambulação de 10 metros.

O escore do MRC é coletado segundo o preconizado pela escala *Medical Research Council* (MRC) (Kendall et al. 2007; Scott & Goodheart Jr, 2007; *Medical Research Council Muscle scale*, 1976), por fisioterapeuta treinada e experiente.

Para esta coleta é utilizada escala de 5 pontos, sendo, grau zero - ausência de evidência de contração muscular, grau 1 - contração impotente que é sentida na palpação do músculo ou do tendão, porém sem movimento visível, grau 2 - o músculo é capaz de completar a amplitude de movimento no plano horizontal, sem ação da gravidade, grau 3 - o músculo pode manter a posição da prova contra a resistência da gravidade, grau 4 - o músculo pode manter a parte na posição da prova contra pressão moderada e grau 5 - o músculo pode ser mantido na posição da prova contra forte pressão.

Os grupos musculares pesquisados foram os flexores da cervical, extensores da cervical, flexores do tronco, extensores do tronco, deltoides (porções anterior, média e posterior), bíceps braquial, tríceps braquial, flexores dos punhos, extensores dos punhos, iliopsoas, glúteo, adutores do quadril, isquiotibial, quadríceps femoral, gastrocnêmio e tibial anterior.

Coletou-se também o índice MRC (Scott et al., 1982; Merlini et al., 2004; Parreira, 2005; Scott & Mawson, 2006) das regiões proximal dos membros superiores (MMSS), distal dos MMSS, proximal dos membros inferiores (MMII) e distal dos MMII, calculado por meio da fórmula:

$$\text{Índice MRC (\%)} = \frac{\text{soma da pontuação dos testes (bilateral)} \times 100}{\text{número de músculos testados} \times 5}$$

O índice MRC foi elaborado por Scott et al. (1982), quando desenvolveram um protocolo para a avaliação quantitativa da função muscular em crianças com doença muscular e que incluiu a força muscular total com base numa avaliação clínica da força de diversos grupos musculares utilizando a classificação do MRC.

O tempo de deambulação de 10 metros, coletado do prontuário, foi realizado em corredor plano de 12 metros, a partir de marcações no chão, e utilizando-se cronômetro simples. A realização desta atividade fornece dados para comparações do próprio paciente e deste com indivíduos com outros diagnósticos, como distrofia muscular de Duchenne (DMD) (Carvalho, 2013).

Foram coletados dos prontuários, os escores obtidos a partir da aplicação da escalas clínicas de Vignos (Vignos & Archibald, 1960) que classifica o estadiamento da doença por meio do desempenho motor e, da escala EK, validada para português (Martinez et al., 2006) que quantifica o grau de limitação funcional nas atividades de vida diária em pacientes com DMD em fase crônica.

Foram coletados também, a partir de dados do prontuário, informações da descrição qualitativa da realização de atividades motoras como levantar do chão, sentar e levantar da cadeira, ficar na ponta dos pés, permanecer nos calcanhares, andar, subir e descer escadas, pular, correr, agachar-se e levantar-se. Estes dados permitiram calcular os escores das escalas de FES-DMD e a-NSAA, esta última, ainda não validada, mas utilizadas na literatura científica.

A FES-DMD é uma escala brasileira que apresentou boa concordância na repetibilidade e reprodutibilidade. É composta por quatro domínios: sentar e levantar da cadeira, sentar e levantar do chão, subir e descer escadas e deambular. O domínio utilizado foi o deambular (Carvalho, 2013), que é composto de três fases e 14 itens. A primeira fase, “Apoio” com cinco itens e variação de pontos de 0 a 23, a segunda, “Balanço” com três itens e pontuação

entre 0 a 11 e, a terceira, “Movimentos compensatórios gerais” com seis itens e variação de pontos de 0 a 13.

A avaliação da qualidade dos movimentos observada pela presença de compensações posturais associada à avaliação quantitativa do tempo despedido para realização de cada atividade é o método adequado e refinado de identificação da progressão da disfunção e consequentemente da doença, e foi descrito amplamente na DMD (Fernandes et al., 2010; Escorcio et al., 2011; Hukuda et al., 2010; Hukuda et al., 2013; Carvalho, 2013).

A a-NSAA foi elaborada para pacientes com disferlinopatia (Harris et al., 2016), a partir da necessidade de avaliação de aspectos específicos da doença como fraqueza proximal e fraqueza distal dos MMII. Tem como base a *North Star Ambulatory Assessment* (NSAA), escala validada para avaliação funcional de pacientes com DMD, com boa confiabilidade e boa a moderada responsividade. A versão original contém 17 itens que abordam a capacidade de permanecer em pé, deambular, levantar da cadeira, manter apoio unipodal, subir degraus, sentar, levantar do chão, levantar a cabeça, pular em apoio unipodal, saltar, permanecer nos calcanhares e correr. As atividades são pontuadas entre 0 (necessidade de assistência), 1 (execução de forma independente com compensações) e 2 (execução normal) (Mazzone et al., 2009; Scott et al., 2012; Mayhew et al., 2013).

Para construção da a-NSAA foram acrescentados 5 itens com pontuação máxima de 51. Posteriormente, os autores construíram a estratificação de gravidade do quadro clínico, no qual o quadro é grave para pontuações ≤ 5 ou em cadeirantes, quadro moderado para pontuação entre 6 e 39 e quadro leve para pontuação entre 40 a 51 (Harris et al., 2016).

Análise de dados

Realizou-se análise estatística descritiva com o cálculo do valor de média e desvio-padrão utilizados para descrever as características gerais da amostra.

Primeiramente, foi testada a normalidade de cada variável por meio do teste de aderência *Kolmogorov-Smirnov*. Posteriormente, foi realizado o teste de correlação de Pearson com o objetivo de investigar possíveis relações entre as variáveis.

A análise de variância foi utilizada para verificar a comparação entre a força muscular nos seguimentos corporais. Em seguida foi realizada a análise de *Post-Hoc* de *Tukey*.

A análise estatística dos dados foi realizada por meio da utilização do *software Statistica* v.13 e o nível de significância adotado foi de 0,05.

4. Resultados

4.1. Dados demográficos

Dos 1.340 prontuários de pacientes acompanhados no Setor de Fisioterapia do CEGH-CEL-USP, a DMC, grupo grande e heterogêneo com mais de 20 subtipos com fraqueza de predomínio de cinturas escapular e pélvica, é a quarta doença mais frequente entre os diagnósticos fechados compreendendo 10,5% dos casos.

Entre as DMC, o subtipo DMC2B, é a segunda mais frequente em prevalência com 25,5%, atrás apenas da calpainopatia com 34%.

Apenas três pacientes apresentaram início dos sintomas antes dos 15 anos. A presença de casos familiares foi de seis famílias com dois ou três parentes.

A caracterização dos dados demográficos está detalhada na Tabela 1, de tal forma a permitir melhor visualização da caracterização da amostra, composta por 40 pacientes.

4.2. Características clínicas gerais

Encontrou-se presença de hipotonia muscular em 15% da amostra. A atrofia muscular esteve presente em 82,5%, sendo as regiões mais acometidas a panturrilhas e as coxas.

Tabela 1. Dados demográficos da amostra (n=40)

Idade	Média 36,5 ± 10,2 anos
Idade mínima	18 anos
Idade máxima	62 anos
Sexo masculino	21 pacientes (52,5%)
Sexo feminino	19 pacientes (47,5%)
Idade início dos sintomas	Média 23,7 ± 9 anos
Idade mínima do início dos sintomas	11 anos
Idade máxima do início dos sintomas	54 anos
Tempo de doença	Média 12,8 ± 7,1 anos
Deambuladores	30 pacientes (75%)
Cadeirantes	10 pacientes (25%)
Tempo de marcha	Média 17,5 ± 4,4 anos
Idade de perda da marcha	Média 39,6 ± 10 anos
Idade mínima de perda de marcha	27 anos
Idade máxima de perda da marcha	55 anos
Presença de dores musculares	23 pacientes (57,5%)
Presença de fadiga muscular	20 pacientes (50%)

A pseudohipertrofia muscular foi observada em apenas três pacientes, sendo que em dois pacientes, nos músculos das panturrilhas e um paciente, nos músculos bíceps braquiais e deltoides.

As atrofias musculares e pseudohipertrofias de alguns sujeitos podem ser observadas nas fotos da Figuras 2.

Figura 2. Presença de atrofia e pseudohipertrofia muscular em quatro pacientes diferentes da amostra. 2a) atrofia de deltoide, 2b) atrofia de bíceps braquial, 2c) atrofia das panturrilhas e 2d) pseudohipertrofia do deltoide. Fotografias de Isabela Pessa Anequini Leite.

4.3. Força muscular

O escore médio MRC específico da região cervical mostrou que a musculatura estava preservada em 97,5% da amostra ($MRC \geq 3$). A fraqueza dos músculos abdominais e paravertebrais foi observada em 72,5% e 55% dos pacientes, respectivamente.

A fraqueza dos MMSS foi mais acentuada nos músculos proximais, sendo o músculo deltoide anterior mais acometido com média de MRC de $3,1 \pm 1,0$ em 50% dos casos, seguidos dos músculos deltoide posterior (média de MRC de $3,1 \pm 1,0$) e o deltoide médio (média de MRC $3,2 \pm 1,1$). Os músculos bíceps e tríceps braquial apresentaram média da MRC de $3,7 \pm 1,1$ e $3,7 \pm 1,0$, respectivamente e os músculos flexores e extensores dos punhos, média de MRC de $4,2 \pm 0,8$ e $4,3 \pm 0,7$, respectivamente.

Não foi encontrado escore MRC valor 1 nos músculos dos MMSS.

A análise dos dados referentes aos MMII mostrou que a fraqueza esteve presente nos músculos proximais e distais, sendo o iliopsoas e o glúteo os músculos mais acometidos (média de MRC de $2,5 \pm 0,8$), seguido do isquiotibial (média de MRC de $2,6 \pm 1,2$), adutores do quadril e tibial anterior (média de MRC de $2,7 \pm 1,1$). Os músculos quadríceps femoral e o gastrocnêmio apresentaram média de MRC de $3,2 \pm 1,2$ e $3 \pm 0,7$, respectivamente. Foi encontrado MRC com escore 1 para os músculos adutores do quadril, quadríceps, isquiotibial e tibial anterior.

O estudo dos dados considerando comparativo de dois subgrupos, deambuladores e cadeirantes, mostrou que, para os MMII, em ambos os grupos, ocorreu preservação na articulação do joelho, da força do

compartimento anterior, ou seja, dos músculos quadríceps femoral ($p = 0,003$), enquanto que, na articulação do tornozelo, o músculo do compartimento posterior (gastrocnêmio) esteve mais preservado ($p = 0,02$). Não houve diferença entre escores MRC dos músculos que atuam na articulação do quadril (iliopsoas e glúteo), mostrando equilíbrio entre estes grupos musculares.

A análise do índice MRC dos pacientes deambuladores mostrou que a força dos MMSS, tanto proximal quanto distal, está preservada (média de 67,9% e 85%, respectivamente), enquanto há fraqueza dos MMII de predomínio proximal (média de 58,3%). No grupo cadeirante, há fraqueza da região proximal dos MMSS (média de 40,4%) e intensa fraqueza dos MMII (proximal e distal, em semelhante proporção) (média de 37,3% e 39,5%, respectivamente).

As Figuras 3 e 4 apresentam a comparação entre a média da força muscular e do índice MRC nos membros superiores e inferiores, respectivamente.

Figura 3. Comparação da força muscular manual média do escore da MRC em diferentes grupos musculares.

Legenda: FM: força muscular; MRC: *Medical Research Council*.

Figura 4. Comparação da força muscular manual média do índice MRC, por segmento corporal.

Legenda: MRC: *Medical Research Council*; MMSS: membros superiores; MMII: membros inferiores.

4.4. Função cardiorrespiratória

Os dados da função respiratória obtidos a partir do teste de função pulmonar foram coletados do prontuário. Encontrou-se que 42,5% da amostra possuíam padrão restritivo em declínio, 35% não tinham alteração e, portanto, apresentavam teste normal e 22,5% possuíam padrão restritivo leve.

As informações sobre as avaliações cardíacas foram obtidas das anotações do prontuário referentes a laudos médicos dos exames de eletrocardiograma, ecocardiograma e Holter. Metade da amostra não possuía exames cardíacos. Dos 20 pacientes que possuíam dados de avaliação cardíaca, encontramos a ausência de alterações cardíacas em 27,5% da amostra, enquanto que 22,5% possuíam alguma alteração cardíaca.

As alterações cardíacas registradas foram: alteração de relaxamento do miocárdio, arritmia cardíaca, cardiopatia leve, cardiopatia moderada, disfunção diastólica do ventrículo esquerdo, dilatação discreta do ventrículo esquerdo, distúrbio inespecífico de condução intraventricular, hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo, infarto agudo do miocárdio, sobrecarga do ventrículo esquerdo e taquicardia sinusal.

A presença de comorbidades foi citada em 20% da amostra total de 40 pacientes, sendo elas, dislipidemia, espondiloartrose, etilismo social, hipertensão arterial, hiperuricemia, hipotireoidismo e tabagismo.

4.5. Correlação entre variáveis

4.5.1. Índice MRC e dados demográficos

Houve forte correlação entre idade e início dos sintomas ($r = 0,73$) e, moderada correlação entre idade e tempo da doença ($r = 0,49$). A correlação da idade com índice MRC foi fraca para todos os seguimentos corporais: proximal dos MMSS ($r = -0,34$), distal dos MMSS ($r = -0,29$), proximal dos MMII ($r = -0,18$) e distal dos MMII ($r = -0,21$).

A Figura 5 apresenta a correlação entre as variáveis demográficas de idade, início dos sintomas e tempo de doença.

Figura 5. Correlação entre as variáveis demográficas. 5A: idade e início dos sintomas; 5B: idade e tempo de doença.

4.5.2. Índice MRC e escalas clínicas

A correlação dos escores segmentares do índice MRC e do escore da a-NSAA foi forte com as regiões proximal dos MMSS e MMII ($r = 0,83, 0,80$, respectivamente), moderada com a região distal dos MMSS ($r = 0,69$) e muito forte com a região distal dos MMII ($r = 0,90$).

A Figura 6 apresenta a correlação entre o índice MRC e o escore da escala de a-NSAA nos segmentos corporais.

Figura 6. Correlação entre escores segmentares do índice MRC e o escore da a-NSAA. 6A) região proximal de MMSS, 6B) região distal de MMSS, 6c) região proximal de MMII e 6D) região distal de MMII.

Legenda: MRC: *Medical Research Council*; MMSS: membros superiores; MMII: membros inferiores; a-NSAA: *North Star Ambulatory Assessment* adaptada.

A correlação entre o índice MRC e o tempo de deambulação de 10 metros foi forte para as regiões proximal dos MMSS, proximal dos MMII e distal dos MMII ($r = -0,77, -0,74$ e $-0,80$, respectivamente). A correlação foi moderada com a região distal dos MMSS ($r = -0,68$).

A Figura 7 apresenta a correlação entre escores segmentares do índice MRC e o tempo de deambulação de 10 metros.

Figura 7. Correlação entre os escores segmentares do índice MRC e o tempo de deambulação de 10 metros. 7A) região proximal de MMSS, 7B) região distal de MMSS, 7C) região proximal de MMII e 7D) região distal de MMII. Legenda: MRC: *Medical Research Council*; MMSS: membros superiores; MMII: membros inferiores; a-NSAA: *North Star Ambulatory Assessment* adaptada.

Os escores das escalas de Vignos e a-NSAA tiveram forte correlação ($r = -0,86$). O tempo de deambulação de 10 metros obteve correlação muito forte com o escore da escala de Vignos ($r = 0,92$) e forte com escore das escalas de FES-DMD e a-NSAA ($r = 0,87$ e $r = -0,84$, respectivamente).

A Figura 8 apresenta a correlação entre o tempo de deambulação de 10 metros e o escore das escalas clínicas de Vignos, FES-DMD e a-NSAA.

Figura 8. Correlação entre o tempo de deambulação de 10 metros e os escores nas escalas clínicas. 8A) escore da escala de Vignos, 8B) escore da escala de FES-DMD, 8C) escore da escala de a-NSAA.

Legenda: FES-DMD: Escala de Avaliação Funcional para DMD/*Functional Evaluation Scale*; a-NSAA: *North Star Ambulatory Assessment* adaptada.

A estratificação de gravidade da doença por meio do escore da a-NSAA mostrou que na amostra pesquisada, dois pacientes estavam na categoria leve, 26 pacientes na categoria moderada e 12 pacientes na categoria grave.

A análise demonstrou que a proporção de pacientes mais graves esteve nas categorias com maior tempo de doença. A taxa de progressão da doença foi variável, com 60% dos pacientes moderadamente ou gravemente afetados com idades superiores a 12 anos de doença, enquanto que a proporção de indivíduos gravemente afetados foi de 100% após 24 anos de tempo de doença.

A Figura 9 apresenta a distribuição da gravidade da doença durante o tempo de doença utilizando a estratificação do escore da escala de a-NSAA.

Figura 9. Gravidade da doença e duração da doença. Porcentagem de pacientes dentro de cada categoria de gravidade por meio da estratificação do escore da escala de a-NSAA.

Legenda: a-NSAA: *North Star Ambulatory Assessment* adaptada.

4.5.3. Padrão do índice MRC nos segmentos corporais

A análise de variância demonstrou que houve interação membros (superiores e inferiores) *versus* região (proximal e distal) *versus* grupo (deambuladores e cadeirantes), apresentando $F(1,38) = 3,79$; $ES = 0,090$; $p < 0,001$ (Figura 5).

A análise *Post-Hoc* de *Tukey* demonstrou que no grupo cadeirante, houve diferença entre o índice MRC proximal e distal dos MMSS ($p < 0,001$), e entre o índice MRC distal dos MMSS e a proximal e distal dos MMII ($p < 0,001$). Não houve diferença entre o índice MRC proximal dos MMSS e proximal e distal dos MMII ($p = 0,960$ e $p = 0,999$, respectivamente) e, entre o índice MRC proximal e distal dos MMII ($p = 0,995$).

No grupo deambuladores, houve diferença significativa entre o índice MRC proximal e distal dos MMSS ($p < 0,001$), entre o índice MRC proximal dos MMSS e MMII ($p < 0,001$), entre o índice MRC distal dos MMSS e proximal e distal dos MMII ($p < 0,001$). Não houve diferença entre o índice MRC proximal e distal dos MMII ($p = 0,084$).

A análise de interação entre cadeirantes e deambuladores demonstrou que não houve diferença significativa entre o índice MRC proximal dos MMSS dos grupos ($p = 0,003$), o índice MRC distal dos MMSS dos grupos ($p = 0,0434$), o índice MRC proximal dos MMII dos grupos ($p = 0,048$) e o índice MRC distal dos MMII dos grupos ($p = 0,015$).

Portanto, encontrou-se diferença entre as regiões proximal e distal, sendo esta diferença mais evidente em MMSS do que em MMII; ou seja, o índice

MRC geral dos MMII é bastante diminuída; enquanto que o índice MRC distal de membros superiores é relativamente preservado.

A Figura 10 elucida a interação entre o índice MRC dos MMSS e MMII, de acordo com os segmentos corporais, para deambuladores e cadeirantes.

Figura 10. Interação entre o índice MRC nos segmentos corporais, em pacientes deambuladores e cadeirantes.

Legenda: MMSS: membros superiores, MMII: membros inferiores.

5. Discussão

Esta pesquisa apresentou o primeiro estudo clínico-funcional de amostra brasileira de 40 pacientes com disferlinopatia.

Entre as DMC da amostra estudada, a DMC2B foi a segunda doença mais frequente com prevalência de 25,5%, condizente com a prevalência encontrada na literatura (Nalini & Gayathri, 2008). Estudo brasileiro de 2001 identificou prevalência mais baixa (14%) (Vainzof et al., 2001), entretanto, naquele período o diagnóstico não era realizado pelo NGS, exame este que possibilitou a expansão dos diagnósticos de diversos tipos de distrofias, especialmente as DMC.

A média de idade da amostra foi de 36,5 anos (variando de 18 a 62 anos), e foi mais velha quando comparada a outras pesquisas, com a média variando de 20 a 27,9 anos na pesquisa de Nalini & Gayathri (2008) e de Rosales et al. (2010). Entretanto, mais jovem quando comparada a amostra japonesa, que apresentou idade média de 50,3 anos variando de 22 a 75 (Takahashi et al., 2013).

Nossa amostra apresentou ligeira prevalência do sexo masculino (52,5%), compatível com achados de Diniz et al. (2012) e Zhao et al. (2013), porém, diferentemente da prevalência feminina encontrada em países orientais e na população mexicana (Gómez-Díaz et al., 2012; Shin et al., 2015).

Encontramos dados referentes ao início dos sintomas, variação de idade e presença de sintomas, de forma geral, semelhantes aos apresentados na literatura (Mahjneh et al., 2001; Klinge et al., 2010; Linssen et al., 2013).

Guglieri et al. (2008) relataram que a idade de início da doença correlaciona-se com a variabilidade dos níveis de genótipo e proteína na disferlinopatia. Assim, as mutações truncadas (*nonsense*) determinaram o início mais cedo do que as substituições (*missense*). Estudo conduzido por Ueyama et al. (2002) indicou que os pacientes com mutações *missense* apresentavam um quadro funcional significativamente mais grave e níveis mais elevados de CK do que aqueles com mutações *frameshift* ou *nonsense*.

O código genético do DNA se expressa por meio dos *códons* que são trincas de bases de nucleotídeos consecutivas, que na síntese de proteínas, determina a posição de um aminoácido na cadeia polipeptídica. Na mutação *nonsense* há troca de um par de bases por outro, levando a formação de um *códon stop*, ou seja, *códon* de finalização de síntese proteica, consequentemente com a produção de uma proteína normalmente não funcional. Na mutação *missense*, a substituição de um par de bases por outro, gera a formação de um *códon* que codifica um aminoácido diferente do original, que pode formar uma proteína com função alterada. Do mesmo modo, a ausência de disferlina foi associada a um início precoce quando comparada à deficiência parcial. Nas mutações de *frameshift* ocorre a inserção ou perda de bases, alterando-se a sequência de leitura, com consequente alteração de inserção do aminoácido final (USJD, 2013).

O tempo de doença não é homogêneo na literatura. Neste estudo, foi encontrado tempo médio de 12,8 anos (variação de um a 29 anos), menor que o encontrado pela pesquisa japonesa (23,7 anos) (Takahashi et al., 2013), e maior que a indiana (6,4 anos) (Nalini & Gayathri, 2008). A discrepância pode estar relacionada a fatores como acesso ao diagnóstico precoce, acesso à

saúde, conhecimento da doença por parte dos profissionais de saúde, qualidade de vida e expectativa de vida. Shin et al. (2015) relatam média de 7,5 anos entre o início dos sintomas até o diagnóstico, com intervalo de um a 30 anos.

Presença de grande maioria de deambuladores (75%), condizente com a literatura que considera as disferlinopatias mais leve quando comparadas a calpainopatia e a sarcoglicanopatia (Rosales et al., 2010), porém menos leve quando comparada a DMC2L, distrofia causada pela ausência de anoctamia 5 (Linssen et al., 2013). A média de idade da perda da marcha (39,6 anos) também acompanha a literatura (Nguyen et al., 2007), e a ausência de alterações cardíacas importantes e o padrão respiratório restritivo em declínio também foram descritos (Takahashi et al., 2013).

A atrofia muscular das panturrilhas encontrada nesta pesquisa também foi largamente relatada nos pacientes com disferlinopatia (Klinge et al., 2010; Linssen et al., 2013). Entretanto, há pouco relato sobre a presença de atrofia do músculo bíceps braquial associada à preservação do músculo deltoide, resultando em pseudohipertrofia (Rosales et al., 2010).

Encontramos nos MMSS predomínio de fraqueza proximal, no qual a seletividade do envolvimento muscular foi típica, tal como descrito nas DMC, primariamente afetado o músculo deltoide, e secundariamente o bíceps e o tríceps braquial (Nalini & Gayathri, 2008; Takahashi et al., 2013) e, com as mãos relativamente preservadas (Mahjneh et al., 2001; Shin et al., 2015). Nos MMII, verificou-se fraqueza proximal e distal (Nguyen et al., 2007; Nalini & Gayathri, 2008; Klinge et al., 2010; Rosales et al., 2010; Linssen et al., 2013), principalmente no grupo de cadeirantes. O MRC 1 foi observado nos músculos

adutores do quadril, quadríceps, isquiotibial e tibial anterior, compatível com casos mais avançados (Takahashi et al., 2013).

Quanto ao padrão de acometimento, observou-se preservação de força do grupo muscular anterior na articulação do joelho (quadríceps femoral), porém fraqueza de tibial anterior quando comparado ao gastrocnêmio. A fraqueza de tibial anterior também foi relatada na população alemã (Linssen et al., 2013). Não houve diferença entre a MRC de iliopsoas e glúteo, diferentemente do relatado pela literatura com flexores do quadril mais forte que extensores (Harris et al., 2016).

O índice MRC demonstra que a fraqueza proximal dos MMSS está presente nos cadeirantes e a fraqueza distal dos MMII é presente em ambos os grupos, porém mais intensamente nos cadeirantes. A partir destes dados, pode ser sugerida a proporção da perda da força, com queda mais acentuada em MMII e o aumento da fraqueza proximal dos MMSS relacionado com doença mais grave ou quadro mais avançado, assim como corte inglesa (N = 36), na qual, a força dos MMSS diminuiu para 76%, enquanto a queda nos MMII foi para 49% (Klinge et al., 2010) e, coorte multicêntrica (N = 193) com perda de força muscular mais evidente na região distal dos MMII (71% da amostra) (Harris et al., 2016).

Apesar de descrita na literatura, as diferenças entre as doenças conhecidas como disferlinopatias, no qual a DMC2B é caracterizada por fraqueza proximal e a MM é descrita por fraqueza distal com envolvimento precoce dos músculos do compartimento anterior da perna (Illa et al., 2001), verifica-se relatos com discrepâncias nos grupos musculares mais acometidos dos MMII (Klinge et al., 2010; Harris et al., 2016).

Neste estudo foi observada equiparação das fraquezas proximais e distais dos MMII, o que tornou difícil a distinção do envolvimento inicial. Este achado também encontrado na literatura reflete a progressão da doença com sobreposição de fraqueza proximal e distal, corroborando que, embora as disferlinopatias possam apresentar inicialmente fenótipos distintos, elas se sobrepõem em estágios mais avançados (Klinge et al., 2010; Harris et al., 2016).

Linssen et al. (2013) descreveram a evolução da fraqueza muscular de 22 pacientes com fraqueza distal, nos quais ocorreu perda de 3 pontos da escala de MRC nos músculos iliopsoas (15% dos casos), extensores dos dedos do pé (15%), tibiais anteriores e peroneais (ambos 10%); perda de 1 ou 2 pontos nos abdutores de ombros e rotadores internos dos ombros (30%) e perda de um ponto no músculo tríceps braquial (35%).

Exames de diagnóstico por imagem são importantes no auxílio ao diagnóstico das doenças de músculo. Takahashi et al. (2013) verificaram que o comprometimento da musculatura distal de MMII e dos músculos eretores da espinha lombar pode ser observado por meio da tomografia computadorizada (TC) já na fase inicial da doença.

Seror et al. (2008) relataram caso de uma mulher com queixa de dor lombar crônica por 5 anos e fraqueza progressiva dos MMII por um ano, sem alterações posturais importantes, com níveis séricos de CK muito aumentados e eletroneuromiografia normal nos músculos dos membros e sem atividade nos músculos erectores-espinhais. A ressonância magnética (RM) apresentou degeneração gordurosa completa dos músculos erectores-espinhais lombares, sem alterações nos músculos de MMII e o diagnóstico de disferlinopatia foi

confirmado por análise molecular. Os autores afirmam que os músculos eretores da coluna podem apresentar grande degeneração, sem alterações posturais importantes, sendo a deficiência primária de disferlina uma possível causa.

Por meio da RM dos MMII, Díaz-Manera et al. (2015) identificaram informações relevantes quanto ao padrão de afecção muscular; sendo o músculo glúteo mínimo o mais comumente envolvido na pelve, e as porções médias e máximas, assim como o psoas, envolvidos mais tardiamente. Nas coxas, o envolvimento inicial foi dos músculos adutores, seguido dos vastos lateral, medial e intermédio, posteriormente, o músculo semitendíneo e o semimembrâneo foram afetados. Nas pernas, inicialmente o músculo gastrocnêmio, e secundariamente, os músculos gastrocnêmio lateral e o sóleo foram afetados. Em estágio mais avançado da doença, os músculos ântero-laterais também mostram sinais de atrofia.

Este estudo apresentou dados robustos relativos a habilidades motoras dos pacientes com disferlinopatia, com correlação da MRC, principalmente dos MMII, com o tempo de deambulação de 10 metros e os escores das escalas clínicas de Vignos, EK, FES-DMD e a-NSAA, o que reforça a relevância destas variáveis como biomarcadores da evolução das disferlinopatias. Em sua grande maioria, os estudos utilizam a escala de Vignos modificada ou a exemplificação da gravidade do quadro por meio da descrição singela da incapacidade de levar as mãos à boca ou o confinamento no leito (Mahjneh et al., 2001; Takahashi et al., 2013; Shin et al., 2015).

A estratificação da escala a-NSAA demonstrou que 65% dos pacientes deste estudo estão na categoria moderada, 30% na grave e, 5% na leve;

enquanto que a coorte multicêntrica (Harris et al., 2016) identificou 49%, 32% e 19%, respectivamente. Nossa pesquisa apresentou idade média e tempo de doença ligeiramente mais baixos (36,5 anos *versus* 40 anos e, 12,8 anos *versus* 17 anos, respectivamente). A coorte apresentou casos mais brandos com indivíduos em categoria leve de gravidade em todas as faixas de idade, enquanto que neste trabalho a categoria leve este restrita a faixa de até 5 anos de doença.

Nos pacientes com disferlinopatia a fraqueza de músculos proximais e distais dos MMII pode comprometer seriamente a capacidade de deambulação, visto que, em estudos com diferentes doenças neuromusculares, pacientes com fraqueza distal dos MMII apresentam movimentos de tronco, joelhos e tornozelos instáveis e aumentados durante os desequilíbrios direitos e para trás, em constraste, aqueles indivíduos com fraqueza proximal, tem pior resposta de equilíbrio apenas nas perturbações posteriores (Horlings et al., 2009). A fraqueza do compartimento posterior (isquiotibial, gastrocnêmio e sóleo) pode ainda inferir padrão distinto de alteração na marcha com perda do choque do calcâneo e da propulsão da marcha e, ausência de extensão do joelho durante as fases de apoio e balanço (Mahjneh et al., 2001).

Desta forma, devido às características claramente distintas da DMC2B, no que compete o envolvimento do padrão inicial de comprometimento muscular e da marcha, é possível afirmar que a mesma difere significativamente das características clínicas bem relatadas e associadas aos fenótipos das outras DMC (Mahjneh et al., 2001).

Horlings et al. (2009) avaliaram o controle do equilíbrio em dois grupos distintos de doenças neuromusculares (DMC e atrofia muscular espinal distal),

e identificaram que ambos os grupos se apresentaram mais instáveis que o grupo controle saudável em decorrência da movimentação do centro de massa corporal, especialmente na estratégia de equilíbrio do passo. Nesta atividade, ambos os grupos fizeram uso dos movimentos dos braços para compensar a instabilidade. A pesquisa ainda identificou que o grupo com fraqueza distal também possuía fraqueza de tronco e apresentou pior resposta nas perturbações posteriores, possivelmente pela maior utilização dos músculos do tornozelo e do tronco nas perturbações do equilíbrio para trás. Estes dados inferem que os pacientes com fraqueza distal têm mais problemas de equilíbrio, por outro lado, pode-se esperar que pacientes com fraqueza proximal e pouca fraqueza distal estejam em menor risco de quedas porque compensam facilmente sua perda com o maior uso de movimentos estabilizadores de braços.

As pesquisas na área de controle postural em indivíduos saudáveis e em idosos são vastas, e independente da existência de doença muscular, a fraqueza dos músculos dorsiflexores e plantiflexores dos pés aumentam o risco de instabilidade e dificultam o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de prevenção de quedas (Pai & Patton, 1997).

Nas doenças neuromusculares, e de forma mais intensa na DMD, a fraqueza muscular é amplamente relacionada a incapacidade de marcha. Aqueles com fraqueza importante dos músculos glúteos e tibiais anteriores são 11,5 e 3,7 vezes, respectivamente, mais propensos a parar de andar dentro do período de 2 anos. Estes achados tornam a perda de força destes músculos os principais preditores de perda de deambulação na doença (Bakker et al., 2002).

Nos pacientes com disferlinopatia, nos quais, como relatado neste estudo e na literatura, há fraqueza de músculos proximais e distais dos MMII, a força muscular e o equilíbrio devem ser amplamente estudados, pois podem comprometer seriamente a capacidade de deambulação.

Os estudos enfatizam o esforço e a necessidade do diagnóstico para classificar os pacientes com disferlinopatias, no qual se deve considerar a combinação de dados clínicos, imuno-histoquímica e dados moleculares genéticos. Chama-se atenção o relato de proporção significativa de pacientes classificados como DMC (27,9% a 41,3%) (Guglieri et al., 2008) e, evidencia-se variação das frequências de subtipos confirmados em populações diferentes, que pode ser explicada por testes bioquímicos e imunológicos menos abrangente nas biópsias musculares e/ou testes genéticos. Paralelamente, reintera que a grande variabilidade do padrão de fraqueza e da taxa de progressão corroborando a necessidade de estudos longitudinais (Harris et al., 2016) e da determinação de biomarcadores (Barthélémy et al., 2011; Mahmood & Jiang, 2014) para melhor elucidar a trajetória dos fenótipos e apontar para desenvolvimento de estudos clínicos de intervenções mais eficazes e seguros (Harris et al., 2016).

Este estudo identificou o padrão de fraqueza de amostra brasileira de pacientes com disferlinopatia. A partir do conhecimento gerado por estes dados, pode-se fazer interface com a pesquisa translacional, dando suporte para escolha de biomarcadores de acompanhamento da doença e gerando informações relevantes para tomada de decisões clínicas.

A intervenção fisioterapêutica nos pacientes com disferlinopatia, devido as características específicas de fraqueza, deve ser direcionada para exercícios

de manutenção e/ou ganho de força muscular, especialmente nos músculos da cintura escapular e pélvica e nos músculos abdominais, tibiais anteriores e gastrocnêmio. Os exercícios de fortalecimento muscular são controversos nas doenças neuromusculares, pois o benefício e a resposta ao exercício podem ser diferentes dependendo da patogênese da doença e o consenso é de que um programa de fortalecimento com esforço submáximo é seguro e apropriado para evitar a atrofia do desuso, mantendo a força existente ou retardando a progressão da fraqueza (Abbresch et al., 2012).

As alterações de mobilidade são o resultado de biomecânica inadequada e inclui alterações na capacidade de transferências posturais, marcha e locomoção (Johnson et al., 2012). Desta forma, o treino isolado dos movimentos, com ênfase na mudança na descarga de peso e no alinhamento, e a adaptação de atividades de vida diária que dependam da elevação dos MMSS acima da cabeça, podem auxiliar o paciente a manter a capacidade de realizar uma tarefa, além de diminuir o gasto energético.

Especificamente na marcha, o fisioterapeuta pode, além da abordagem da força e da resistência muscular, utilizar do treino do controle dos movimentos do joelho no auxílio às respostas de equilíbrio e do treino das estratégias de equilíbrio compensatórias, especialmente do tornozelo. Visto que, a fraqueza da musculatura proximal dos MMII provoca instabilidade do tronco com aumento da lordose lombar, diminuição do tamanho do passo, movimentos de báscula e inclinação lateral; enquanto que a fraqueza no controle dos movimentos do joelho reduz o tempo na fase de apoio médio e, a fraqueza da dorsiflexão do pé impede a liberação dos dedos na fase da balanço (Johnson et al., 2012).

Paralelamente, o treino de uso de dispositivos auxiliares como bengalas e muletas possibilita a maximização da função de locomoção de forma segura.

Estudos futuros devem focar na determinação do efeito dos exercícios na resistência muscular, no efeito do uso de órteses funcionais na estabilidade e no equilíbrio corporal e, na correlação do uso de órtese com o prolongamento do tempo de deambulação.

O uso de órtese nas distrofias, deve incluir a avaliação da função, do peso e da tolerância para o dispositivo. A órtese de tornozelo-pé (AFO - *ankle foot orthosis*) pode auxiliar a dorsiflexão e/ou evitar a flexão plantar e, auxiliar no controle do joelho limitando a progressão da tíbia para frente. A fibra de carbono, um material mais leve, pode ser utilizada para confeccionar esta órtese impedindo a queda do pé, adicionando menor peso de forma a diminuir a fadiga muscular e, utilizando-se da energia armazenada na fase de contato com o solo, pode auxiliar o gastrocnêmio fraco na propulsão necessária para progressão do membro a frente, tornando a marcha mais eficiente (Johnson et al., 2012).

As limitações encontradas referem-se à escassez de informações sobre a evolução da fraqueza muscular que permitisse categorizar os pacientes nos diferentes tipos de disferlinopatias, à necessidade de validação da escala funcional específica para disferlinopatia e à correlação com outra escala funcional validada e de maior utilização nas miopatias e distrofias. A ampliação da avaliação com uso de escalas validadas e estudos longitudinais pode contribuir para melhor elucidar a trajetória dos diferentes fenótipos e nortear a elaboração de estudos clínicos de intervenções fisioterapêutica.

6. Conclusão

Este estudo identificou o padrão de fraqueza de uma mostra de pacientes com disferlinopatia, sendo o predomínio de MMII proximal e distal, enquanto que, os músculos das extremidades superiores foram relativamente preservados com comprometimento leve da cintura escapular.

Mostrou correlação dos testes de força muscular com as escalas clínicas para doenças neuromusculares (Vignos, EK, FES-DMD, tempo de deambulação e a-NSAA).

Nossos achados esclarecem o padrão de fraqueza muscular em amostra brasileira de pacientes com disferlinopatia e faz interface com a pesquisa translacional, dando suporte para escolha de biomarcadores de acompanhamento da evolução da doença e gerando informações relevantes para tomada de decisões clínicas, especialmente no que se refere à fisioterapia.

A ampliação da avaliação com uso de escalas validadas para miopatias e distrofias musculares e a ressonância magnética, bem como ampliação da pesquisa com estudos longitudinais é interessante e necessária para auxiliar na elucidação da evolução da doença e no desenvolvimento de estudos clínicos fisioterapêuticos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho focado na abordagem das disferlinopatias, doenças neuromusculares de origem genética, caracterizadas por fraqueza muscular, foi dividido em duas partes.

O capítulo 1 foi elaborado pela verificação de importante escassez de estudos que abordem concomitantemente diferentes aspectos da doença estudada. Desta forma, realizou-se uma revisão bibliográfica com análise crítica da literatura, com apresentação de discussão abrangente e coerente sobre o tema, abordando aspectos como o detalhamento das distrofias musculares de cintura-membros, a fisiopatologia, o diagnóstico, a epidemiologia, o quadro clínico-funcional e as possibilidades de tratamento medicamento e genético das disferlinopatias.

Os resultados apresentados podem ser amplamente utilizados por educadores e profissionais no ensino didático e, possibilitam o embasamento para a construção de discussões a respeito da função muscular e das possibilidades de intervenção fisioterapêutica nas disferlinopatias, bem como, a elaboração protocolos de tratamento.

O capítulo 2, impelido pelos resultados do capítulo anterior, que trouxe à tona a necessidade de refinamento das características clínico-funcional das disferlinopatias, objetivou a caracterização da força e da função muscular em amostra brasileira de pacientes com disferlinopatias. Secundariamente, investigou-se a correlação entre diferentes variáveis, considerando dois grupos de pacientes, deambuladores e cadeirantes. Este estudo demonstrou que o padrão fraqueza desta amostra de disferlinopatia é de predomínio de MMII,

tanto proximal como distal, com comprometimento da cintura escapular e relativa preservação distal dos MMSS. Elucidou-se a correlação entre os testes de força muscular e as escalas clínicas para doenças neuromusculares.

Os resultados encontrados foram consistentes, de forma a concluir que o MRC, o índice MRC e as escalas de FES-DMD e a-NSAA, juntamente com o tempo de deambulação, são ferramentas confiáveis de acompanhamento evolutivo da doença gerando informações sobre a perda de força e função, em especial na marcha e, podem, a partir de mais estudos, serem utilizados como biomarcadores de evolução da doença.

Estes achados são de extrema revelância, pois aproximam os profissionais da saúde do processo de construção de uma ferramenta de estratificação da gravidade e da progressão da doença, de forma a prever um prognóstico, monitorizar o tratamento e elaborar pesquisas clínicas.

Aos fisioterapeutas, estes resultados, permitem o conhecimento de informações relevantes para a construção do diagnóstico fisioterapêutico, por meio da identificação dos distúrbios cinéticos funcionais, a prescrição e execução de condutas fisioterapêuticas personalizadas e o acompanhamento da evolução do quadro clínico funcional de indivíduos com disferlinopatia.

ANEXOS

Anexo 1: Documento de Cessão de Dados.

Documento de cessão de banco de dados

Setor de Fisioterapia - CE Genoma Humano - IBUSP (2009-2014)

São Paulo, 15 de maio de 2014.

A Faculdade de Medicina da USP
Prof.^a Dr.^a Fátima Caromano
Curso de Fisioterapia

Afirmo, por meio desta que, disponibilizo o banco de dados retroativo referente ao período de 2009 a maio de 2014 do setor de fisioterapia do Centro de Pesquisa sobre o Genoma Humano e Células-Tronco – IB/USP, para que estes sejam usados exclusivamente, para fins de pesquisas sob supervisão direta da Prof.^a Dr.^a Fátima Ap. Caromano.

Sem mais,

Mayana Zatz
Prof.^a Titular de Genética
Diretora do Centro de Estudos do Genoma Humano e Células-Tronco
Diretora – Instituto de Células-Tronco em Doença Genética
Instituto de Biociências – Universidade de São Paulo
Endereço Eletrônico: mayazatz@usp.br

Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE IMAGEM E DADOS

Pelo presente instrumento, _____, responsável legal de _____, abaixo firmado e identificado, autoriza graciosamente o Centro de Pesquisa sobre o Genoma Humano e Células Tronco (CEGH-CEL), estabelecido na Rua do Matão, Travessa 13, nº106 - Cidade Universitária - São Paulo/SP, a utilizar sua imagem e dados clínicos sobre sua doença, sintomas, testes de força muscular, avaliação postural e avaliações de função muscular, para fins de produção científica e institucional.

Esta autorização inclui o uso de todo o material criado que contenha a imagem ou dados do mesmo pelo Centro de Pesquisa sobre o Genoma Humano e Células Tronco, da forma que melhor lhe aprouver, notadamente para toda e qualquer forma de comunicação, tais como material impresso, CD (compact disc), CD ROM, CD-I (Compact disc Interativo), "home vídeo", DAT ("digital áudio tape"), rádio, radiodifusão, televisão aberta, fechada e por assinatura, bem como disseminá-lo via internet, independentemente do processo de transporte de sinal e suporte material que venha a ser utilizado para tais fins, sem limitação de tempo ou do número de exibições, no Brasil ou no exterior.

Na condição de único titular dos direitos patrimoniais de autor das obras audiovisuais em que couber a participação do voluntário, o CEGH-CEL poderá dispor das mesmas livremente, para toda e qualquer modalidade de utilização, por si ou por terceiros por ela autorizados para tais fins. Para tanto poderá, a seu único critério, licenciar e/ou ceder a terceiros, no todo ou em parte, seus direitos sobre as obras, não cabendo aos signatários qualquer direito e/ou remuneração, a qualquer tempo e título.

Informamos que o uso de sua imagem e dados clínicos auxiliará em várias perguntas sobre como as distrofias se desenvolvem e poderá auxiliar no estabelecimento de protocolos de tratamento e controle das distrofias musculares.

Esta presente autorização não está vinculada a inserção do referido voluntário em qualquer tratamento oferecido por essa Instituição.

Os pesquisadores deste centro comprometem-se a seguir a Resolução CNS 96/1996, relacionada à Pesquisa com Seres Humanos, respeitando o seu direito de:

- 1- Ter liberdade de participar ou deixar de participar do estudo, sem que isso lhe traga algum prejuízo ou risco,
- 2- Manter o seu nome em sigilo absoluto, sendo que o que disser não lhe resultará em qualquer dano à sua integralidade,
- 3- Interromper a participação em qualquer pesquisa caso se sinta incomodado(a) com a mesma,
- 4- Responder as questões levantadas pelo pesquisador(a) caso seja solicitado(a) para uma entrevista, onde será marcado um local na instituição, horário e data em que possa se sentir mais confortável,
- 5- Garantia de receber uma resposta a alguma dúvida durante ou após a participação em qualquer pesquisa.

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em ceder minha imagem e dados clínicos.

São Paulo, ____ de _____ de _____.

Nome: _____ RG: _____

Assinatura: _____

**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL
LEGAL**

1. NOME: _____.
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: _____. SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO: ____/____/____.
ENDEREÇO: _____. Nº _____. APTO: _____.
BAIRRO: _____. CIDADE: _____.
CEP: _____. TELEFONE: DDD (____) _____.
2. RESPONSÁVEL LEGAL: _____.
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.): _____.
DOCUMENTO DE IDENTIDADE: _____. SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO: ____/____/____.
ENDEREÇO: _____. Nº _____. APTO: _____.
BAIRRO: _____. CIDADE: _____.
CEP: _____. TELEFONE: DDD (____) _____.

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Caracterização da força e da função muscular nas disferlinopatias.
2. PESQUISADOR: Isabela Pessa Anequini Leite.
CARGO/FUNÇÃO: Fisioterapeuta. NSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 3/78233-F.
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
RISCO MÍNIMO ☐	RISCO MÉDIO ☐
RISCO BAIXO ☐	RISCO MAIOR ☐
4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 03 anos.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estas informações estão sendo fornecidas para a sua participação voluntária neste estudo, sendo ele descritivo e retrospectivo baseado nos dados levantados dos prontuários do CEGH-CEL/USP.

Objetivo deste estudo é caracterizar a força muscular e a função muscular dos pacientes com distrofia muscular de cinturas do tipo disferlinopatia e comparar estes dados com a literatura.

Os resultados utilizados serão aqueles obtidos nos testes de força muscular e testes de função muscular. No teste de força muscular manual o paciente faz força contra uma resistência aplicada pelo fisioterapeuta. Nos testes de função muscular é solicitada a realização de atividades como levantar do chão, levantar da cadeira, subir escadas e caminhar.

Os riscos de o paciente sofrer quedas ou qualquer tipo de lesão na sala de coleta de dados durante a execução das avaliações são mínimos, pois são

acompanhados por um pesquisador que toma os devidos cuidados para que não ocorra. Não é realizado nenhum procedimento que possa trazer desconforto ao paciente.

Em qualquer etapa do estudo, o participante tem acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O fisioterapeuta pode ser encontrado no endereço Rua do Matão, Rua do Matão - Travessa 13, nº106 - Cidade Universitária - São Paulo/SP, telefone (11) 3091-7966, e-mail genomafisioterapia@ib.usp.br.

Está garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. O participante tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas

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

Há o compromisso do pesquisador em utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Caracterização da força e da função muscular nas disferlinopatias”.

Eu discuti com a fisioterapeuta Isabela Pessa Anequini Leite sobre a minha decisão em participar nesse 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 e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário.

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.

Assinatura do paciente/representante legal

Data ____/____/____

Assinatura da testemunha
(Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual).

Data ____/____/____

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.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____/____/____

Anexo 3: Aprovação do Comitê de Ética.

USP - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - FMUSP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Caracterização da força e da função muscular nas disferlinopatias

Pesquisador: Fátima Aparecida Caromano

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 64577316.5.0000.0065

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.937.969

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo descritivo retrospectivo com financiamento próprio. O projeto foi bem fundamentado com bases em dados atualizados da literatura. O texto é apresentado de forma clara e objetiva.

Objetivo da Pesquisa:

Caracterizar a força muscular e a funcionalidade de indivíduos em observações transversais e longitudinais, além de seguimento e a correlação entre força e função nas disferlinopatias (ausência ou expressão reduzida da disferlina, proteína localizada membrana das células musculares). Também será analisado separadamente o grupo de pacientes segundo suas mutações genéticas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos.

Benefícios: A análise minuciosa do padrão de progressão da fraqueza muscular, da funcionalidade e a elucidação de informações genéticas e clínicas possibilitará a elaboração de programas e tratamentos fisioterapêuticos específicos para intervenção precoce na tentativa de minimizar a evolução da doença e melhorar a qualidade de vida destes pacientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo descritivo retrospectivo com uso de informações de um Banco de dados

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36

Bairro: PACAEMBU

CEP: 01.246-903

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3893-4401

E-mail: cep.fm@usp.br

**USP - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - FMUSP**

Continuação do Parecer: 1.937.969

retroativo referente ao período de 2009 a maio de 2014 do Setor de Fisioterapia do Centro de Pesquisa sobre o Genoma Humano e Células Tronco do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Serão avaliados dados pessoais (sexo, data de nascimento, idade, peso e altura); clínicos e referentes ao diagnóstico. Serão avaliados registros de dados de força muscular mensurada por meio do teste manual de acordo com Muscle Research Council (MRC). Serão coletados dados de avaliação funcional obtidos pela caracterização do tempo da atividade funcional de marcha no percurso de 10 metros, bem como, os dos escores de escalas funcionais específicos como o de Vignos modificada, Egen Klassifikation (EK) (validada para português por Martinez et al., 2006) e Escala de Avaliação Funcional para distrofia muscular de Duchenne/ Functional Evaluation Scale (FES-DMD).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória foram apresentados de forma satisfatória.

Recomendações:

Algumas informações no cadastro de pesquisa do CEP-FMUSP estão divergentes com os documentos apresentados. No cadastro, item 12, está registrado como finalidade acadêmica "DOUTORADO" e na brochura do projeto de pesquisa apresentado está como "MESTRADO". Embora o pesquisador afirme no cadastro de pesquisa que não há entidade externa envolvida, item 8, o banco de dados a ser utilizado pertence ao setor de Fisioterapia do Centro de Pesquisa sobre o Genoma Humano e Células Trocos do IB/USP e o pesquisador apresenta uma carta da diretora do Centro de Estudos do Genoma Humano e Células Tronco do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo disponibilizando os dados. Verificar possibilidade de retificar dados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

APROVADO

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_834241.pdf	07/02/2017 10:06:10		Aceito
Outros	col.pdf	07/02/2017 10:05:45	Fátima Aparecida Caromano	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	projeto.pdf	13/12/2016 11:39:27	Fátima Aparecida Caromano	Aceito

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36

Bairro: PACAEMBU

CEP: 01.246-903

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3893-4401

E-mail: cep.fm@usp.br

**USP - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - FMUSP**

Continuação do Parecer: 1.937.969

Investigador	projeto.pdf	13/12/2016 11:39:27	Fátima Aparecida Caromano	Aceito
Folha de Rosto	fr.pdf	13/12/2016 11:33:50	Fátima Aparecida Caromano	Aceito
Outros	IBUSP.pdf	06/12/2016 11:54:50	Fátima Aparecida Caromano	Aceito
Brochura Pesquisa	Brochura.pdf	06/12/2016 11:54:05	Fátima Aparecida Caromano	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 21 de Fevereiro de 2017

Assinado por:

Maria Aparecida Azevedo Koike Folgueira
(Coordenador)

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36

Bairro: PACAEMBU

CEP: 01.246-903

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3893-4401

E-mail: cep.fm@usp.br

REFERÊNCIAS

Referências do Capítulo I

- Aartsma-Rus A, Singh KH, Fokkema IF, Ginjaar IB, van Ommen GJ, den Dunnen JT, et al. Therapeutic exon skipping for dysferlinopathies? *Eur J Hum Genet.* 2010;18(9):1072-3.
- Abdullah N, Padmanarayana M, Marty NJ, Johnson CP. Quantitation of the calcium and membrane binding properties of the C2 domains of dysferlin. *Biophys J.* 2014;106(2):382-9.
- Angelini C, Nardetto L, Borsato C, Padoan R, Fanin M, Nascimbeni AC, et al. The clinical course of calpainopathy (LGMD2A) and dysferlinopathy (LGMD2B). *Neurol Res.* 2010;32(1):41-6.
- Angelini CI. LGMD phenotype due to a new gene and dysferlinopathy investigated by next-generation sequencing. *Neurol Genet.* 2015;1(4):e39.
- Aparicio-Meix JM. Distrofias musculares y síndromes miotónicos. *Medicine.* 1998;7(100):4645-56.
- Argov Z, Sadeh M, Mazor K, Kahana E, Eisenberg I, Mitrani-Rosenbaum S, et al. Muscular dystrophy due to dysferlin deficiency in Libyan Jews: clinical and genetic features. *Brain.* 2000;123 (Pt 6):1229-37.
- Bansal D, Miyake K, Vogel SS, Groh S, Chen CC, Williamson R, et al. Defective membrane repair in dysferlin-deficient muscular dystrophy. *Nature.* 2003;423:168-72.
- Barra TMF, Baraldi KF. Uso das escalas funcionais para avaliação clínica da distrofia muscular de Duchenne. *Revista neurociências.* 2013;21(3):420-6.

Barthélémy F, Wein N, Krahn M, Lévy N, Bartoli M. Translational research and therapeutic perspectives in dysferlinopathies. *Int J Mol Biol Med.* 2011;17(9-10):875-82.

Bolduc V, Marlow G, Boycott KM, Saleki K, Inoue H, Kroon J, et al. Recessive mutations in the putative calcium-activated chloride channel anoctamin 5 cause proximal LGMD2L and distal MMD3 muscular dystrophies. *Am J Hum Genet.* 2010;86:213-21.

Bushby K. Diagnosis and management of the limb girdle muscular dystrophies. *Pract Neurol.* 2009;9(6):314-23.

Cagliani R, Fortunato F, Giorda R, Rodolico C, Bonaglia MC, Sironi M, et al. Molecular analysis of LGMD-2B and MM patients: identification of novel DYSF mutations and possible founder effect in the Italian population. *Neuromuscul Disord.* 2003;13(10):788-95.

Chae JH, Vasta V, Cho A, Lim BC, Zhang Q, Hee S, et al. Utility of next generation sequencing in genetic diagnosis of early onset neuromuscular disorders. *J Med Genet.* 2015;52(3):20816.

Chiu YH, Hornsey MA, Klinge L, Jørgensen LH, Laval SH, Charlton R, et al. Attenuated muscle regeneration is a key factor in dysferlin-deficient muscular dystrophy. *Hum Mol Genet.* 2009;18(11):1976-89.

Díaz-Manera J, Llauger J, Gallardo E, Illa I. Muscle MRI in muscular dystrophies. *Acta Myol.* 2015;34(2-3):95-108.

Diniz G, Eryaşar G, Türe S, Akçay A, Ortaç R, Tekgül H, et al. A regional panorama of dysferlinopathies. *Turk Patoloji Derg.* 2012;28(3):259-65.

González IV. Estudio de proteínas musculares por Western blot y técnicas de genética aplicadas a las enfermedades neuromusculares: PCR, RFLP y

secuenciación. In XXVI Congreso Nacional de la SEAP-IAP, XXI Congreso Nacional de La SEC, II Congreso Nacional de la SEPAF. 2013.

Guglieri M, Magri F, D'Angelo MG, Prella A, Morandi L, Rodolico C, et al. Clinical, molecular, and protein correlations in a large sample of genetically diagnosed Italian limb girdle muscular dystrophy patients. *Hum Mutat.* 2008;29(2):258-66.

Halevy O, Genin O, Barzilai-Tutsch H, Pima Y, Levi O, Moshe I, et al. Inhibition of muscle fibrosis and improvement of muscle histopathology in dysferlin knock-out mice treated with halofuginone. *Histol Histopathol.* 2013;28(2):211-26.

Han R, Campbell KP. Dysferlin and muscle membrane repair. *Curr Opin Cell Biol.* 2007;19(4):409-17.

Harris E, Bladen CL, Mayhew A, James M, Bettinson K, Moore U, et al. The clinical outcome study for dysferlinopathy: an international multicenter study. *Neurol Genet.* 2016;2(4):e89.

Huang Y, Laval SH, Van Remoortera A, Baudier J, Benaud C, Anderson LVB et al. AHNAK, a novel component of the dysferlin protein complex, redistributes to the cytoplasm with dysferlin during skeletal muscle regeneration. *FASEB J.* 2007;21(3):732-42.

Illa I, Serrano-Munuera C, Gallardo E, Lasa A, Rojas-García R, Palmer J, et al. Distal anterior compartment myopathy: a dysferlin mutation causing a new muscular dystrophy phenotype. *Ann Neurol.* 2001;49(1):130-4.

Klinge L, Dean AF, Kress W, Dixon P, Charlton R, Müller JS, et al. Late onset in dysferlinopathy widens the clinical spectrum. *Neuromuscul Disord.* 2008;18(4):288-90.

Klinge L, Aboumoussa A, Eagle M, Hudson J, Sarkozy A, Vita G, et al. New aspects on patients affected by dysferlin deficient muscular dystrophy.

J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2010;81(9):946-53.

Kraya T, Zierz, S. Distal myopathies: from clinical classification to molecular understanding. *J Neural Transm (Vienna)*. 2013;120(Suppl 1):S3–S7.

Laing NG. Genetics of neuromuscular disorders. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2012;49(2):33-48.

Leshinsky-Silver E, Argov Z, Rozenboim L, Cohen S, Tzofi Z, Cohen Y, et al. Dysferlinopathy in the Jews of the Caucasus: A frequent mutation in the dysferlin gene. *Neuromuscul Disord*. 2007;17(11-12):950-4.

Licinio LCP. Investigação genética de duas diferentes famílias com formas dominantes de distrofia muscular do tipo cinturas. [dissertação]. São Paulo: Instituto de Biologia, Universidade de São Paulo; 2011.

Linssen WH, de Voogt WG, Krahn M, Bernard R, Levy N, Wokke JH, et al. Long-term follow-up study on patients with Miyoshi phenotype of distal muscular dystrophy. *Eur J Neurol*. 2013;20(6):968-74.

Liu J, Aoki M, Illa I, Wu C, Fardeau M, Angelini C, et al. Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb-girdle muscular dystrophy. *Nat Genet*. 1998;20(1):31-6.

Lo HP, Cooper ST, Evesson FJ, Seto JT, Chiotis M, Tay V, et al. Limb-girdle muscular dystrophy: diagnostic evaluation, frequency and clues to pathogenesis. *Neuromuscul Disord*. 2008;18(1):34-44.

Lorenzo G. Neurología: Transtornos neuromusculares – aspectos clínicos. *An Pediatr Contin*. 2007;5(5):245-52.

Mahjneh I, Marconi G, Bushby K, Anderson LVB, Tolvanen-Mahjneh H, Somer H. Dysferlinopathy (LGMD2B): a 23-year follow-up study of 10 patients homozygous for the same frameshifting dysferlin mutations. *Neuromuscul Disord.* 2001;11(1):20-6.

Mahmood OA, Jiang XM. Limb-girdle muscular dystrophies: where next after six decades from the first proposal (review). *Mol Med Rep.* 2014;9(5):1515-32.

Manzur AY, Muntoni, F. Diagnosis and new treatments in muscular dystrophies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2009;80(7):706-14.

McDonald CM. Clinical approach to the diagnostic evaluation of hereditary and acquired neuromuscular diseases. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2012;23(3):495-63.

McNally EM, Pytel P. Muscle Diseases: The Muscular Dystrophies. *Annu Rev Pathol.* 2007;2:87-109.

Moore SA, Shilling CJ, Westra S, Wall C, Wicklund MP, Stolle C, et al. Limb-girdle muscular dystrophies in the United States. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2006;65(10):995-1003.

Morrée A, Flix B, Bagaric I, Wang J, van den Boogaard M, Moursel LG, et al. Dysferlin Regulates Cell Adhesion in Human Monocytes. *Biol Chem.* 2013, 288(20):14147-57.

Munain AL, Urtizberea JA. Clasificación clinicogenética de las distrofias musculares. *Med Clin (Barc).* 1998;111(6):226-35.

Nalini A, Gayathri N. Dysferlinopathy: a clinical and histopathological study of 28 patients from India. *Neurol India.* 2008;56(3):379-85.

- Nguyen K, Bassez G, Krahm M, Bernard R, Laforêt P, Labelle V, et al. Phenotypic study in 40 patients with dysferlin gene mutations: high frequency of atypical phenotypes. *Arch Neurol*. 2007;64(8):1176-82.
- Nigro V, Savarese M. Genetic basis of limb-girdle muscular dystrophies: the 2014 update. *Acta Myol*. 2014;33(1):1-12.
- Nigro V, Aurino S, Piluso G. Limb girdle muscular dystrophies: update on genetic diagnosis and therapeutic approaches. *Curr Opin Neurol*. 2011;24(5):429-36.
- Nilsson MI, Laureano ML, Saeed M, Tarnopolsky MA. Dysferlin aggregation in limb-girdle muscular dystrophy type 2b/Myoshi myopathy necessitates mutational screen for diagnosis. *Muscle Nerve*. 2013;47(5):740-7.
- Oh SH, Kang SW, Lee JG, Na SJ, Kim TS, Choi YC. Clinical and pathological characteristics of four korean patients with limb-girdle muscular dystrophy type 2B. *J Korean Med Sci*. 2004;19(3):447-52.
- Passos-Bueno MR, Moreira ES, Marie SK, Bashir R, Vasquez L, Love DR, et al. Main clinical features of the three mapped autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies and estimated proportion of each form in 13 Brazilian families. *J Med Genet*. 1996;33(2):97-102.
- Pimentel LHC. Distrofias musculares progressivas de cinturas tipo 2: perfil epidemiológico no estado do Ceará. [dissertação]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará; 2008.
- Rawat R, Cohen TV, Ampong B, Francia D, Henriques-Pons A, Hoffman EP et al. Inflammasome up-regulation and activation in dysferlin-deficient skeletal muscle. *Am J Pathol*. 2010;176(6):2891-900.

- Rosales XQ, Gastier-Foster JM, Lewis S, Vinod M, Thrush DL, Astbury C, et al. Novel diagnostic features of dysferlinopathies. *Muscle Nerve*. 2010;42(1):14-21.
- Schneider I, Stoltenburg G, Deschauer M, Winterholler M, Hanisch F. Limb girdle muscular dystrophy type 2L presenting as necrotizing myopathy. *Acta Myol*. 2014;33(1):19-21.
- Seror P, Krahn M, Laforet P, Leturcq F, Maisonobe T. Complete fatty degeneration of lumbar erector spinae muscles caused by a primary dysferlinopathy. *Muscle Nerve*. 2008;37(3):410-4.
- Shin HY, Jang H, Han JH, Park HJ, Lee JH, Kim SW, et al. Targeted next-generation sequencing for the genetic diagnosis of dysferlinopathy. *Neuromuscular Disord*. 2015;25(6):502-10.
- Soares CN, Freitas MRG, Nascimento OJM, Silva LF, Freitas AR, Werneck LC. Myopathy of distal lower limbs: the clinical variant of Miyoshi. *Arq Neuropsiquiatr*. 2003;61(4):946-9.
- Sula A, Cole AR, Yeats C, Orengo C, Keep NH. Crystal structures of the human Dysferlin inner DysF domain. *BMC Struct Biol*. 2014;14(3):1-9.
- Takahashi T, Aoki M, Suzuki N, Tateyama M, Yaginuma C, Sato H, et al. Clinical features and a mutation with late onset of limb girdle muscular dystrophy 2B. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013;84(4):433-40.
- Ueyama H, Kumamoto T, Horinouchi H, Fujimoto S, Aono H, Tsuda T. Clinical heterogeneity in dysferlinopathy. *Intern Med*. 2002;41(7):532-6.
- Vainzof M, Anderson LV, McNally EM, Davis DB, Faulkner G, Valle G, et al. Dysferlin protein analysis in limb-girdle muscular dystrophies. *J Mol Neurosci*. 2001;17(1):71-80.

Vasli N, Böhm J, Le Gras S, Muller J, Pizot C, Jost B, et al. Next generation sequencing for molecular diagnosis of neuromuscular diseases. *Acta Neuropathol.* 2012;124(2):273-83.

Weiler T, Greenberg CR, Nylen E, Halliday W, Morgan K, Eggertson D, et al. Limb-Girdle Muscular Dystrophy and Miyoshi Myopathy in an Aboriginal Canadian Kindred Map to LGMD2B and Segregate with the Same Haplotype. *Am J Hum Genet.* 1996;59(4):872-8.

Wicklund MP, Kissel JT. The limb-girdle muscular dystrophies. *Neurol Clin.* 2014;32(3):729-49.

Zhao Z, Hu J, Sakiyama Y, Okamoto Y, Higuchi I, Li N, et al. DYSF mutation analysis in a group of Chinese patients with dysferlinopathy. *Clin Neurol Neurosurg.* 2013;115(8):1234-7.

Referências do Capítulo II

Abresch RT, Carter GT, Han JJ, McDonald CM. Exercise in neuromuscular diseases. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2012;23:653(3)-73.

Bakker JPJ, De Groot IJM, Beelen A, Lankhorst GJ. Predictive factors of cessation of ambulation in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Am J Phys Med Rehabil*. 2002;81(12):906–12.

Barthélémy F, Wein N, Krahn M, Lévy N, Bartoli M. Translational research and therapeutic perspectives in dysferlinopathies. *Int J Mol Biol Med*. 2011;17(9-10):875-82.

Bushby K. Diagnosis and management of the limb girdle muscular dystrophies. *Pract Neurol*. 2009;9(6):314-23.

Carvalho EV. Criação e análise de confiabilidade de escala de avaliação funcional da marcha para crianças com distrofia muscular de Duchenne. [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

Coffito. Conselho Federal de Fisioterapia e Terapia Ocupacional. Atividade de saúde, regulamentada pelo Decreto-Lei 938/69, Lei 6.316/75, Resoluções do COFFITO, Decreto 9.640/84, Lei 8.856/94. Disponível: https://www.coffito.gov.br/nsite/?page_id=2341

Cohen H. Neurociências para fisioterapeutas: incluindo correlações clínicas. São Paulo: Manole; 2001.

Díaz-Manera J, Llauger J, Gallardo E, Illa I. Muscle MRI in muscular dystrophies. *Acta Myol*. 2015;34(2-3):95-108.

Diniz G, Eryaşar G, Türe S, Akçay A, Ortaç R, Tekgül H, et al. A regional panorama of dysferlinopathies. *Turk Patoloji Derg.* 2012;28(3):259-65.

Escorcio R, Caromano FA, Hukuda ME, Fernandes, LA. Development of an evaluation scale for sitting and standing from the ground for children with Duchenne muscular dystrophy. *J Mot Behav.* 2011;43(1):31-6.

Fernandes LAY, Caromano FA, Hukuda ME, Escorcio R, Carvalho EV. Elaboration and reliability of functional evaluation on going up and downstairs scale for Duchenne muscular dystrophy. *Rev Bras Fisioter.* 2010;14(6):518-26.

Frezza RM, Silva SRN, Fagundes SL. Atualização do tratamento fisioterapêutico das distrofias musculares de Duchenne e de Becker. *Revista Brasileira em Promoção da Saúde.* 2005;18(1):41-9.

Gómez-Díaz B, Rosas-Vargas H, Roque-Ramírez B, Meza-Espinoza P, Ruano-Calderón LA, Fernández-Valverde F, et al. Immunodetection analysis of muscular dystrophies in Mexico. *Muscle Nerve.* 2012;45(3):338-45.

Guglieri M, Magri F, D'Angelo MG, Prella A, Morandi L, Rodolico C, et al. Clinical, molecular, and protein correlations in a large sample of genetically diagnosed Italian limb girdle muscular dystrophy patients. *Hum Mutat.* 2008;29(2):258-66.

Harris E, Bladen CL, Mayhew A, James M, Bettinson K, Moore U, et al. The clinical outcome study for dysferlinopathy: an international multicenter study. *Neurol Genet.* 2016;2(4):e89.

Horlings CGC, Küng UM, van Engelen BGM, Voermans NC, Hengstman GJ, van Der Kooi AJ, et al. Balance control in patients with distal versus proximal muscle weakness. *Neuroscience.* 2009;164(4):1876-86.

Hukuda ME, Escorcio R, Fernandes LAY, Carvalho EV, Caromano FA. Caracterização e tempo da atividade funcional de sentar e levantar da cadeira por meninos saudáveis. *ConScientiae Saúde*. 2010;9(3):402-6.

Hukuda ME, Escorcio R, Fernandes LAY, Carvalho EV, Caromano FA. Evaluation scale development, reliability for sitting and standing from the chair for Duchenne muscular dystrophy. *J Mot Behav*. 2013;45(2):117-26.

Illa I, Serrano-Munuera C, Gallardo E, Lasa A, Rojas-García R, Palmer J, et al. Distal anterior compartment myopathy: a dysferlin mutation causing a new muscular dystrophy phenotype. *Ann Neurol*. 2001;49(1):130-4.

Johnson LB, Florence JM, Abresch RT. Physical therapy evaluation and management in neuromuscular diseases. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2012;23(3):633-51.

Kendall FP, McCreary EK, Provance PG, Rodger MM, Romani WA. Músculos: provas e funções com postura e dor. 5a ed. São Paulo: Manole, 2007.

Klinge L, Aboumoussa A, Eagle M, Hudson J, Sarkozy A, Vita G, et al. New aspects on patients affected by dysferlin deficient muscular dystrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010;81(9):946-53.

Linssen WH, de Voogt WG, Krahn M, Bernard R, Levy N, Wokke JH, et al. Long-term follow-up study on patients with Miyoshi phenotype of distal muscular dystrophy. *Eur J Neurol*. 2013;20(6):968-74.

Mahjneh I, Marconi G, Bushby K, Anderson LVB, Tolvanen-Mahjneh H, Somer H. Dysferlinopathy (LGMD2B): a 23-year follow-up study of 10 patients homozygous for the same frameshifting dysferlin mutations. *Neuromuscul Disord*. 2001;11(1):20-6.

Mahmood OA, Jiang XM. Limb-girdle muscular dystrophies: where next after six decades from the first proposal (review). *Mol Med Rep*. 2014;9(5):1515-32.

Manzur AY, Muntoni, F. Diagnosis and new treatments in muscular dystrophies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80(7):706-14.

Martinez JA, Brunherotti MA, de Assis MR, Sobreira CF. Validation of the EK functional motor scale in the Portuguese language. *Rev Assoc Med Bras*. 2006;52(5):347-51.

Mayhew AG, Cano SJ, Scott E, Eagle M, Bushby K, Manzur A, et al. Detecting meaningful change using the North Star Ambulatory Assessment in Duchenne muscular dystrophy. *Dev Med Child Neurol*. 2013;55(11):1046-52.

Mazzone ES, Messina S, Vasco G, Main M, Eagle M, D'amico A, et al. Reliability of the North Star Ambulatory Assessment in a multicentric setting. *Neuromuscular Disord*. 2009;19(7):458-61.

McDonald CM. Clinical approach to the diagnostic evaluation of hereditary and acquired neuromuscular diseases. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2012;23(3):495-63.

Medical Research Council. Aids to the examination of the peripheral nervous system. Memorandum No. 45 (superseding War Memorandum No. 7). London [internet]. 1976. [cited 2017]. Available from: <https://www.mrc.ac.uk/research/facilities-and-resources-for-researchers/mrc-scales/mrc-muscle-scale>

Merlini L, Bertini E, Minetti, Mongini T, Morandi L, Angelini C, et al. Motor function-muscle strength relationship in spinal muscular atrophy. *Muscle Nerve*. 2004;29(4):548–52.

- Muntoni F, Torelli S, Ferlini A. Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes. *Lancet Neurol*. 2003;2(12):731-40.
- Nalini A, Gayathri N. Dysferlinopathy: a clinical and histopathological study of 28 patients from India. *Neurol India*. 2008;56(3):379-85.
- Nguyen K, Bassez G, Krahn M, Bernard R, Laforêt P, Labelle V, et al. Phenotypic study in 40 patients with dysferlin gene mutations: high frequency of atypical phenotypes. *Arch Neurol*. 2007;64(8):1176-82.
- Nigro V, Savarese M. Genetic basis of limb-girdle muscular dystrophies: the 2014 update. *Acta Myol*. 2014;33(1):1-12.
- Nigro V. Molecular bases of autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. *Acta Myol*. 2003;22(2):35-42.
- Pai YC, Patton J. Center of mass velocity-position predictions for balance control. *J Biomech*. 1997;30(4):347-54.
- Parreira SLS. Quantificação da força muscular e habilidades motoras em pacientes com distrofia muscular de Duchenne, em tratamento com corticoterapia. [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.
- Pedraz CG. Os biomarcadores são ferramentas úteis para o diagnóstico clínico. DiCYT: Agencia iberoamericana para La difusión de La ciência y la tecnologia. 2011 fev 25: [1 tela]. Disponível em: <http://www.dicyt.com/viewNews.php?newsId=207922>. Valladolid, Espanha.
- Rosales XQ, Gastier-Foster JM, Lewis S, Vinod M, Thrush DL, Astbury C, et al. Novel diagnostic features of dysferlinopathies. *Muscle Nerve*. 2010;42(1):14-21.
- Schriefer A, Carvalho EM. Biomarcadores em Medicina. *Gaz méd Bahia*. 2008;78(S1):S47-51.

Scott CC, Goodheart Jr GJ. On the reliability and validity of manual muscle testing: a literature review. *Chiropr Man Therap*. 2007;15:4.

Scott E, Eagle M, Maythew A, Freeman J, Main M, Sheehan J, et al. Development of a functional assessment scale for ambulatory boys with Duchenne muscular dystrophy. *Physiother Res Int*. 2012;17(2):101-9.

Scott E, Mawson SJ. Measurement in Duchenne muscular dystrophy: considerations in the development of a neuromuscular assessment tool. *Dev Med Child Neurol*. 2006;48(6):540-4.

Scott OM, Hyde SA, Goddard C, Dubowitz V. Quantitation of muscle function in children: a prospective study in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve*. 1982;5(4):291-301.

Seror P, Krahn M, Laforet P, Leturcq F, Maisonobe T. Complete fatty degeneration of lumbar erector spinae muscles caused by a primary dysferlinopathy. *Muscle Nerve*. 2008;37(3):410-4.

Shin HY, Jang H, Han JH, Park HJ, Lee JH, Kim SW, et al. Targeted next-generation sequencing for the genetic diagnosis of dysferlinopathy. *Neuromuscular Disord*. 2015;25(6):502-10.

Takahashi T, Aoki M, Suzuki N, Tateyama M, Yaginuma C, Sato H, et al. Clinical features and a mutation with late onset of limb girdle muscular dystrophy 2B. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013;84(4):433-40.

Ueyama H, Kumamoto T, Horinouchi H, Fujimoto S, Aono H, Tsuda T. Clinical heterogeneity in dysferlinopathy. *Intern Med*. 2002;41(7):532-6.

USJD. Unidade De Doenças Metabólicas - Hospital Sant Joan De Déu. Tipos de mutações. As Doenças Metabólicas Raras em Português, um projeto APCDG & Guia Metabólica. Tradução de M Francisca Coutinho. Porto-

Portugal: Instituto Nacional de Saúde. 2013. Disponível:
https://www.guiametabolica.org/sites/default/files/tipos_de_mutacoes_ptg.pdf.

Vainzof M, Anderson LV, McNally EM, Davis DB, Faulkner G, Valle G, et al. Dysferlin protein analysis in limb-girdle muscular dystrophies. *J Mol Neurosci*. 2001;17(1):71-80.

Vignos PJ, Archibald KC. Maintenance of ambulation in childhood muscular dystrophy. *J. Chron Dis*. 1960;12:273-89.

Wicklund MP, Kissel JT. The limb-girdle muscular dystrophies. *Neurol Clin*. 2014;32(3):729-49.

Zhao Z, Hu J, Sakiyama Y, Okamoto Y, Higuchi I, Li N, et al. DYSF mutation analysis in a group of Chinese patients with dysferlinopathy. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013;115(8):1234-7.