

**REUNIÃO
DE PRIMAVERA DA SPEDNM**

Sweet Atlantic Hotel & Spa
Figueira da Foz
17 e 18 de Março de 2012

**DISTROFIAS
MUSCULARES**

Livro de
Resumos

que foi inconclusivo. Foi posteriormente realizado estudo genético para distrofia de Becker, que foi negativa. Após período sem seguimento por Neurologia, é observado em 2009 na nossa consulta, tendo sido objectivada tetraparésia de predomínio distal nos membros inferiores, escápula alada bilateralmente e hipertrofia dos gémeos bilateralmente. Na avaliação por EMG apresentava um padrão miopático e estimulação repetitiva sem sinais de disfunção da placa motora. Foi repetida a biópsia de músculo, que mostrou imunorreactividade normal para Dys 1 e Dys 2 e um pouco ténue para Dys 3 e diminuição marcada para adalina, sarcoglicano β , γ e δ . O estudo genético mostrou uma duplicação em homozigotia de 32 nucleotídeos do gene SGCB.

Conclusão

Este caso ilustra a dificuldade de diagnóstico das sarcoglicanopatias, sobretudo nos casos de início tardio, sendo necessário um elevado grau de suspeição, sendo fundamental a correlação clínica e anatomopatológica na orientação do(s) estudo(s) de genética molecular.

NOVA ABORDAGEM NO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE DOENTES PORTUGUESES COM LGMD2A (OU CALPAINOPATIA)

Márcia E. Oliveira¹, Nuno Maia¹, Emília Vieira¹, Teresinha Evangelista², Manuel Melo Pires³, Fernando Peixoto Silveira⁴, Rosário Santos¹

1- Unidade de Genética Molecular, Centro de Genética Médica Dr. Jacinto de Magalhães, INSA, 2- Unidade de Neuropatologia, Hospital de Santa Maria, CHLN, 3- Unidade de Neuropatologia, Hospital de Santo António; 4- Serviço de Neurologia e Neurofisiologia, Hospital de S. João, Porto

Introdução

A Distrofia Muscular das Cinturas tipo 2A (*Limb girdle muscular dystrophy type 2A*, LGMD2A) ou Calpainopatia é umas das formas mais frequentes de Distrofia Muscular das Cinturas (LGMD), de transmissão autossómica recessiva. Clinicamente, os doentes afectados com LGMD2A são caracterizados por fraqueza progressiva dos músculos das cinturas escapular e pélvica [1]. Recentemente, foram descritos casos de LGMD2A com apresentação autossómica dominante [2].

Mutações no gene *CAPN3* são responsáveis pela LGMD2A, que codifica a proteína muscular Calpaína-3 (CAPN3), uma protease de cisteína dependente de iões cálcio. Esta proteína é predominantemente expressa no músculo esquelético, onde se encontra associada à titina (uma proteína muscular "gigante" envolvida na contracção-relaxamento muscular) [3]. Além da sua função proteolítica, a CAPN3 apresenta também actividade autolítica. Diversos estudos realizados têm vindo a demonstrar que o mecanismo de autólise da CAPN3 é fundamental para a activação e regulação da sua actividade proteolítica [4].

A análise proteica muscular dos doentes LGMD2A tem revelado que a maioria destes apresenta alterações na abundância da CAPN3 muscular (ausência/diminuição da abundância) por comparação com amostras controlo, através de análise por *western-blotting*. Paralelamente, verifica-se também a existência de um pequeno grupo de doentes com abundância normal da CAPN3 no músculo, mas cujas mutações no gene

CAPN3 surpreendentemente se encontram associadas à perda da função autolítica da proteína [5].

Objectivos

Dado o largo espectro de mutações detectadas nos doentes com diagnóstico molecular de LGMD2A realizado na Unidade de Genética Molecular do CGMJM, com este trabalho pretendeu-se complementar o estudo molecular num pequeno grupo de doentes LGMD2A Portugueses, na tentativa de estabelecer correlações genótipo/fenótipo.

Materiais e Métodos

Amostras de biópsia muscular de 9 doentes LGMD2A diagnosticados molecularmente e de controlos foram sujeitas a análise das proteínas musculares para estudo de abundâncias e teste da função autolítica, por *western-blotting* e densitometria. Adicionalmente, foram realizados estudos de expressão do gene *CAPN3* por PCR em tempo real quantitativo.

Resultados e Discussão

A *CAPN3* não foi observada em 5 amostras musculares (5 em 9) após *immunoblotting*, sugerindo alterações ao nível da pós-transcrição da proteína nestes doentes.

O teste da função autolítica da *CAPN3* foi efectuado nos doentes que apresentaram abundância "normal" nas biópsias musculares (3 em 9). Os resultados obtidos sugerem que 2 destes doentes perderam a actividade autolítica da *CAPN3*. Uma vez que apenas um alelo mutado foi detectado num destes 2 doentes após o seu estudo molecular, este teste foi importante para confirmar o diagnóstico de LGMD2A neste doente.

A técnica de PCR em tempo real quantitativo foi realizada para avaliar diferenças nos níveis de expressão do gene *CAPN3* entre os doentes e amostras musculares controlo. Surpreendentemente, nenhuma redução na expressão do gene *CAPN3* foi observada nas amostras analisadas (num total de 5). Adicionalmente, duas delas (relativas a doentes com apenas 1 alelo mutado identificado) apresentaram aumento da expressão do gene *CAPN3* muito superior (~3,5 a 5,5 vezes) aos controlos, sugerindo a exclusão do diagnóstico de LGMD2A nestes doentes.

Conclusões Finais

Com esta nova abordagem de estudo foi possível:

- i) confirmar ou excluir o diagnóstico de LGMD2A em casos com resultados inconclusivos;
- ii) atribuir um defeito quantitativo ou funcional dos doentes com LGMD2A;
- iii) sugerir outras causas de envolvimento (outros factores que não a *CAPN3*), principalmente em doentes não confirmados molecularmente.