



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROLOGIA
MESTRADO EM NEUROLOGIA

PATRICIA BRANDÃO RECHE

**ADRENOLEUCODISTROFIA LIGADA AO X FORMA CEREBRAL INFANTIL:
ESTUDO DE CASO**

RIO DE JANEIRO
2014

PATRICIA BRANDÃO RECHE

**ADRENOLEUCODISTROFIA LIGADA AO X FORMA CEREBRAL INFANTIL:
ESTUDO DE CASO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Neurologia, área de concentração Neurociências.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regina Maria
Papais Alvarenga

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Carmen Lucia
Antão Paiva

RIO DE JANEIRO
2014

R296 Reche, Patricia Brandão.
Adrenoleucodistrofia ligada ao X forma cerebral infantil: estudo de caso /
Patricia Brandão Reche, 2014.
61 f. ; 30 cm

Orientadora: Regina Maria Papais Alvarenga.
Coorientadora: Carmen Lucia Antão Paiva.
Dissertação (Mestrado em Neurologia) – Universidade Federal do
Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

1. Adrenoleucodistrofia. 2. Fenótipo – Cérebro - Crianças.
3. Diagnóstico diferencial. 4. Doenças desmielizantes. I. Alvarenga,
Regina Maria Papais. II. Paiva, Carmen Lucia Antão. III. Universidade
Federal do Estado do Rio de Janeiro. Centro de Ciências Biológicas e da
Saúde. Curso de Mestrado em Neurologia. IV. Título.

CDD – 616.807

PATRICIA BRANDÃO RECHE

**ADRENOLEUCODISTROFIA LIGADA AO X FORMA CEREBRAL INFANTIL:
ESTUDO DE CASO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Neurologia, área de concentração Neurociências.

Aprovado em: ___/___/___.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Regina Maria Papais Alvarenga
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO

Prof^a. Dr^a. Carmen Lucia Antão Paiva
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO

Prof. Dr. Hécio Alvarenga
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Prof. Dr. Gerson Carakushansky
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Miguel e Elizabeth, razão da minha vida, pelo amor incondicional e por sempre acreditarem em mim e me apoiarem em todos os meus projetos e sonhos.

Aos meus irmãos, Eduardo e Bruno, por todo amor, carinho, amizade, incentivo.

Ao meu noivo Adrianno, pelo amor, companheirismo, amizade e incentivo em meus projetos.

A minha querida professora e orientadora Regina Maria Papais Alvarenga por ter acreditado em mim, e por dedicar sua vida a ensinar. Obrigado por todo carinho, atenção e amizade nestes quase 5 anos de estudo da neurologia.

A querida professora e co-orientadora Carmen Lúcia Antão Paiva, pela dedicação, carinho e atenção demonstrados durante todo o mestrado.

A Dra. Lúcia Morais e ao Dr. Eduardo Paradela, pela atenção e disposição em ajudar na realização de exames complementares.

Aos pacientes que aceitaram participar deste estudo e que confiaram no meu trabalho.

À Deus, pela oportunidade de poder conviver com essas pessoas extraordinárias e aprender um pouquinho com cada uma delas.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para esta conquista.

RESUMO

Introdução: Adrenoleucodistrofia ligada ao X (X-ALD) é uma doença desmielinizante, peroxissômica, genética, com herança ligada ao X, causada por mutação no gene *ABCD1*, que resulta em degradação deficiente de ácidos graxos de cadeia muito longa (AGCML) e acúmulo dos mesmos em SNC, córtex adrenal e testículos. A doença pode se apresentar em diferentes fenótipos, sendo o fenótipo cerebral infantil o mais grave deles e de ocorrência extremamente rara em crianças do sexo feminino. **Objetivo:** Este estudo visa descrever caso raro de X-ALD forma cerebral infantil em menina, do ponto de vista clínico, laboratorial, genético e de estudos neuroimagem, bem como investigar do ponto de vista clínico, laboratorial e genético os familiares diretos da paciente índice. **Metodologia:** Foi realizada análise de prontuário com levantamento de exames complementares da paciente índice desde o início dos sintomas até seu óbito. Foi realizado ainda exame clínico detalhado, dosagem de AGCML e exame de inativação do cromossomo X nos familiares diretos da paciente índice. **Resultados:** Menina branca, sem história familiar conhecida de X-ALD, iniciou aos seis anos quadro de irritabilidade, agressividade e baixo rendimento escolar, evoluindo após um mês com severa redução da acuidade visual. Realizada RNM de crânio no nono mês de evolução que evidenciou lesões hiperintensas em T2, sem restrição a difusão, com captação periférica pelo contraste na substância branca cerebral, em especial adjacente aos átrios ventriculares e cornos occipitais. Com um ano e quatro meses de evolução a paciente já se apresentava com tetraparesia espástica, déficit cognitivo e amaurose bilateral. Exame de AGCML compatível com estado de heterozigose para X-ALD. Considerando quadro clínico, evolução da doença, exame de AGCML e exames de neuroimagem, e após considerar diagnósticos diferenciais tais como ADEM, doença de Schilder, leucodistrofia metacromática, doença de Krabbe e doenças que cursam com aumento de AGCML, o diagnóstico de X-ALD forma cerebral infantil foi firmado. A avaliação dos familiares diretos evidenciou para mãe da paciente índice exame clínico normal, exame de AGCML compatível com heterozigose e exame de inativação do cromossomo X com padrão aleatório. A avaliação da meia-irmã da paciente índice evidenciou exame clínico e de ácidos graxos de cadeia muito longa normais, e exame de inativação do cromossomo X com inativação favorecendo o cromossomo X paterno. **Conclusão:** O diagnóstico de X-ALD forma cerebral infantil

em crianças do sexo feminino é extremamente raro e esta forma da doença pouco estudada. A paciente deste estudo apresenta quadro clínico, evolução, exames de AGCML e exames de neuroimagem compatíveis com X-ALD, sendo este caso o primeiro caso, em nosso entendimento, de menina com X-ALD forma cerebral infantil sem história familiar da doença.

Palavras chave: Adrenoleucodistrofia ligada ao X. Fenótipo cerebral infantil. Doença desmielinizante. Diagnóstico diferencial.

ABSTRACT

Introduction: X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD) is a demyelinating, peroxisomal, genetic disease, with X-linked inheritance, caused by a mutation in the gene **ABCD1**, which results in impaired degradation of fatty acids of very long chain (VLCFA) and its accumulation in the CNS, testis and adrenal cortex. The disease may present itself in different phenotypes, being the childhood cerebral phenotype more serious and extremely rare in female children. **Objective:** This study aims to describe a rare case of X-ALD childhood cerebral form in a girl, from the standpoint of clinical, biochemical, genetic and neuroimaging studies, and to investigate the clinical, laboratory and genetic aspects of the direct relatives of the index patient. **Methods:** We performed analysis of medical records and additional tests from the index patient from the onset of her symptoms until her death. We conducted further detailed clinical examination, measurement of VLCFA and X-chromosome inactivation test in the immediate family of the index patient. **Results:** white girl with no known family history of X-ALD, began at age six with irritability, aggressiveness and poor school performance, evolving after one month with severe reduction in visual acuity. MRI features held in the ninth month of evolution showed hyperintense lesions in T2, unrestricted diffusion, with peripheral contrast enhancement in cerebral white matter, especially adjacent to the occipital horns and ventricular atria. After a year and four months, the patient had already presented spastic quadriplegia, cognitive impairment and bilateral blindness. Examination of VLCFA was compatible with state of heterozygosity for X-ALD. Considering the clinical examination, disease progression, VLCFA examination and neuroimaging tests, and after considering differential diagnoses such as ADEM, Schilder's disease, metachromatic leukodystrophy, Krabbe disease and diseases with increased VLCFA, the diagnosis of X-ALD childhood cerebral form was made. The evaluation of the mother of the index patient revealed normal clinical exam and exam VLCFA compatible with heterozygosity. X chromosome inactivation tests showed random pattern of X inactivation. The evaluation of the half-sister of the index patient showed normal clinical and VLCFA test. X chromosome inactivation test showed inactivation favoring the paternal X chromosome. **Conclusion:** The diagnosis of X-ALD childhood cerebral form in female children is extremely rare and poorly studied. The patient in this study presented clinical symptoms, disease progression, VLCFA test and

neuroimaging compatible with X-ALD, this being the first case, in our view, of a girl with X-ALD childhood cerebral form with no family history of the disease.

Keywords: X-linked adrenoleukodystrophy. Infantile cerebral phenotype. Demyelinating disease. Differential diagnosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Critérios propostos para o diagnóstico de Doença de Schilder - 1986	27
Quadro 2	Casos descritos em literatura de Doença de Schilder em crianças	30
Figura 1	RNM realizada com 8 meses de evolução de doença, apresentando área hipointensa em T1 e hiperintensa em T2 sem restrição a difusão, com captação periférica pelo contraste, localizada na substância branca adjacente aos átrios ventriculares e cornos occipitais, porção posterior das coroas radiadas e centro semi-oval	39
Figura 2	RNM realizada aos 8 anos de idade, com 2 anos e dois meses de evolução da doença, evidenciando hipersinal em T2W no bulbo, no porção ventral da ponte e pedúnculos cerebrais	40
Figura 3	RNM realizada aos 8 anos de idade, com 2 anos e dois meses de evolução da doença, evidenciando hipersinal em T2W na substância branca dos hemisférios cerebrais, mais evidentes nas regiões parieto-occipitais e acometendo também as fibras “U” e o corpo caloso	41
Figura 4	Eletoforese capilar dos produtos de amplificação por PCR para exame de inativação do cromossomo X da meia-irmã da paciente índice, resultados preliminares. O primeiro gráfico evidencia os picos referentes aos amplicons do locus HUMARA antes da digestão por endonuclease de restrição. O segundo gráfico se refere aos amplicons obtidos após a digestão com HpaII, ficando o registro apenas da fração de cromossomos X que está inativada, pois a HpaII digere apenas os cromossomos X ativos	42
Figura 5	Eletoforese capilar dos produtos de amplificação por PCR para exame de inativação do cromossomo X da mãe da paciente índice, resultados preliminares. O primeiro gráfico evidencia os picos referentes aos amplicons do locus HUMARA no antes da digestão por endonuclease de restrição. O segundo gráfico se refere aos amplicons obtidos após a digestão com HpaII, ficando o registro apenas da fração de cromossomos X que está inativada, pois a HpaII digere apenas os cromossomos X ativos	43
Figura 6	Eletoforese capilar dos produtos de amplificação por PCR para exame de inativação do cromossomo X do pai da meia-irmã da paciente índice, resultados preliminares. O primeiro gráfico representa o cromossomo X antes da digestão e o segundo gráfico é o resultado da inativação após a digestão pela <i>HpaII</i>	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resultado do exame de ácidos graxos de cadeia muito longa da paciente índex	40
----------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCD1	Adenosine triphosphate - ATP - binding cassette subfamily D, member 1
ADEM	Encefalomielite aguda disseminada
AGCML	Ácidos graxos de cadeia muito longa
ALDP	Proteína ALD
AMN	Adrenomieloneuropatia
ASA	Arilsulfatase A
DHA	Ácido docosa-hexaenoico
ENMG	Eletroneuromiografia
GALC	Enzima Galactocerebrosidase
HUMARA	Human androgen receptor
LCR	Exame de Líquor
NAA	N-acetil-aspartato
RNM	Ressonância Nuclear Magnética
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
TC	Tomografia Computadorizada
X-ALD	Adrenoleucodistrofia ligada ao X

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
	OBJETIVO ESPECÍFICO	16
3	REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1	X-ALD FORMA CEREBRAL INFANTIL	17
3.1.1	Tratamento	18
3.2	X-ALD FORMA CEREBRAL EM MULHERES	20
3.3	X-ALD FORMA CEREBRAL EM CRIANÇAS DO SEXO FEMININO..	21
3.4	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	23
3.4.1	Doença de Krabbe	23
3.4.2	Leucodistrofia Metacromática	25
3.4.3	Doença de Schilder	27
3.4.4	ADEM	30
3.4.5	Doenças que cursam com aumento de AGCML	32
4	MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1	DESENHO DO ESTUDO	34
4.2	ANÁLISE DE PRONTUÁRIOS E EXAMES CLÍNICOS	34
4.3	EXAMES LABORATORIAIS	34
5	RESULTADOS	38
6	DISCUSSÃO	44
7	CONCLUSÕES	50
	REFERÊNCIAS	51
	APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	57
	ANEXO A - Escala de Loes	60

1 INTRODUÇÃO

Adrenoleucodistrofia é uma doença desmielinizante, peroxissômica, genética, com herança ligada ao X (MIGEON et al., 1981; MOSER; MAHMOOD; RAYMOND, 2007) causada por mutação no gene *ABCD1* (adenosine triphosphate - ATP - binding cassette subfamily D, member 1), que fica localizada no cromossomo X (Xq28) e codifica uma proteína de membrana, a ALDP (MOSSER et al., 1994).

Tais mutações levam à deficiente degradação de ácidos graxos de cadeia muito longa, reação que normalmente ocorre nos peroxissomos, e resultam no acúmulo dos mesmos em sistema nervoso, córtex adrenal e testículos (MOSSER; MAHMOOD; RAYMOND, 2007).

Até o momento já foram descritas mais de 1000 mutações capazes de dar origem à doença (www.x-ald.nl).

Segundo a literatura, a correlação genótipo-fenótipo é difícil, pois há coexistência de fenótipos distintos da doença na mesma família (BERGER et al., 1994).

A incidência da adrenoleucodistrofia ligada ao X (X-ALD) é de aproximadamente 1:21.000 em homens e 1:14.000 em mulheres heterozigóticas, e não há diferença de incidência em diferentes grupos étnicos (BEZMAN et al., 2001; MOSER; MAHMOOD; RAYMOND, 2007).

Nos homens a doença manifesta-se em oito fenótipos distintos: assintomáticos, Addison apenas, forma cerebral da infância, cerebral do adolescente, adrenomieloneuropatia (AMN), AMN cerebral, forma cerebral do adulto e olivo-ponto cerebelar (MAHMOOD et al., 2005; MOSER; MAHMOOD; RAYMOND, 2007).

O fenótipo assintomático é aquele de pacientes com teste de ácidos graxos de cadeia muito longa alterado e anormalidade genética comprovada, mas que ainda não apresentam qualquer anormalidade neurológica atribuível a X-ALD, não possuem insuficiência adrenal (mesmo que testes específicos mostrem reserva adrenal alterada) e apresentam ressonância magnética de crânio normal. É comum até os 4 anos de vida e muito raro após os 40 anos. Seu diagnóstico geralmente é feito a partir do rastreio da doença em familiares de pacientes sabidamente afetados.

O fenótipo Addison apenas é representado por pacientes com insuficiência adrenocortical primária sem evidências de anormalidades neurológicas. Mais de 50% dos casos ocorrem na infância, com início geralmente antes dos 7,5 anos de idade. Acomete cerca de 20% dos homens com X-ALD e quase todos os pacientes com este fenótipo desenvolverão, no decorrer na vida, o fenótipo AMN ou cerebral (MOSER, 2006).

A forma cerebral da infância inicia-se por definição antes dos 10 anos de idade, tendo 21 meses o mais novo paciente já estudado (MOSER, 2006). O pico de incidência se dá entre os 4 e 8 anos de idade e o desenvolvimento anterior ao início da doença é normal. Sua ocorrência gira em torno de 35% do total de homens com X-ALD sendo este o fenótipo mais grave. É caracterizada por desmielinização inflamatória cerebral com rápida progressão e a insuficiência adrenal está presente em 85% dos casos.

O fenótipo cerebral do adolescente aparece em pacientes de 11 a 20 anos. Tem apresentação semelhante à forma cerebral da infância, porém é de progressão um pouco mais lenta. Responde por 4 a 7 % dos casos de X-ALD.

A AMN é uma axonopatia distal não inflamatória dos tratos longos. Geralmente se apresenta como paraparesia espástica de progressão lenta, associada a distúrbios de sensibilidade e esfinterianos, sem evidências de anormalidades encefálicas (MOSER, 2006). Responde por 25-30% dos casos de X-ALD.

AMN cerebral é a adrenomieloneuropatia combinada com envolvimento inflamatório cerebral. Responde por 10-12% dos casos de X-ALD.

O fenótipo cerebral do adulto é caracterizado por desmielinização inflamatória no adulto anterior à AMN. Inicia-se após os 21 anos de idade e tem progressão rápida. Responde por 2% dos casos de X-ALD.

O fenótipo olivo-ponto cerebelar é caracterizado por envolvimento preferencial do cerebelo e tronco cerebral no adolescente e no adulto. Responde por 1 a 2% dos casos (MAHMOOD et al., 2005; MOSER; MAHMOOD; RAYMOND, 2007).

Aproximadamente 50% das mulheres heterozigóticas desenvolverão algum sintoma da doença no decorrer da vida. Os fenótipos reconhecidos em heterozigóticas são: assintomático, mielopatia leve, mielopatia moderada a grave,

envolvimento cerebral e insuficiência adrenal clinicamente evidente (JANGOUK et al., 2012; MOSER; MAHMOOD; RAYMOND, 2007).

As pacientes assintomáticas são aquelas em que não existem evidências de envolvimento neurológico ou adrenal.

O fenótipo mielopatia leve consiste em pacientes que apresentem hiperreflexia em membros inferiores, alterações de sensibilidade distal e discreta ou nenhuma incapacidade.

A mielopatia moderada a grave tem manifestações clínicas e patológicas mimetizando a AMN nos homens, porém mais branda e de acometimento mais tardio.

O fenótipo cerebral é raro em crianças e discretamente mais comum a partir da meia idade.

A insuficiência adrenal clinicamente evidente é rara em qualquer idade.

O diagnóstico de X-ALD é feito por meio da dosagem de ácidos graxos de cadeia muito longa (AGCML) no plasma, com concentrações elevadas de C26:0 e aumento das razões C26:0/C22:0 e C24:0/C22:0 (MOSER et al., 1999), anormalidades que já estão presentes ao nascimento, e por análise genética mutacional. Em mulheres, um exame de AGCML normal não exclui o diagnóstico de heterozigose, já que 15% das pacientes heterozigóticas apresentam resultado falso-negativo, sendo necessária a análise genética para o diagnóstico definitivo.

Existe ainda a possibilidade de diagnóstico pré-natal. Este pode ser realizado através da determinação de AGCML em cultura de células do líquido amniótico ou células provenientes de biópsia de vilos coriônicos, detecção da proteína ALDP por técnicas de imunofluorescência e análise de DNA (LAN et al., 2010; MAIER et al., 1999). A combinação de mais de uma técnica é recomendada a fim de evitar erros diagnósticos. O diagnóstico pré-implantação também já está disponível atualmente (MOSER, 2006).

A distinção dos fenótipos é feita através da história clínica, exame neurológico e exames de neuroimagem.

O fenótipo cerebral infantil, o mais grave dos fenótipos, foi originalmente descrito como de acometimento restrito a meninos. Existem porém na atualidade raros relatos de casos de acometimento deste fenótipo em crianças do sexo feminino (HEFFUNGS; HAMEISTER; ROPERS, 1980; HERSHKOVITZ et al., 2002).

Esta dissertação de mestrado está inserida na linha de pesquisa neuroepidemiologia, uma das linhas de pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Neurologia da UNIRIO, e visa descrever um caso raro de adrenoleucodistrofia forma cerebral infantil em menina, assim como realizar investigação diagnóstica nos familiares diretos da paciente índice, com o objetivo de melhor compreender o acometimento da X-ALD em mulheres.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Descrever caso de adrenoleucodistrofia forma cerebral infantil do ponto de vista clínico, laboratorial, genético e de exames de neuroimagem em menina do Rio de Janeiro.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Investigar do ponto de vista clínico, laboratorial e genético os familiares diretos da paciente índex.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 X-ALD FORMA CEREBRAL INFANTIL

O fenótipo cerebral infantil se constitui em encefalopatia progressiva na infância, em criança previamente saudável, caracterizada por deterioração cognitiva, sinais de localização encefálicos (hemi-síndromes, hemiparesias, hemi-hipoestesias, hemianopsias) ou cerebelares e amaurose progressiva.

Os sintomas iniciais mais comuns em ordem decrescente de frequência são alterações de comportamento, deterioração intelectual, déficit visual, déficit auditivo, dificuldades na fala, alterações na escrita, distúrbios de marcha, convulsões e fraqueza nos membros (BERGER; GARRTNER, 2006).

O pico de incidência se dá entre os 4 e 8 anos de idade.

Na ausência de tratamento o paciente evolui para estado vegetativo em 2 a 3 anos, com óbito ocorrendo após períodos variáveis (MOSER, 2006). Não existe relação entre idade de início dos sintomas e tempo de sobrevivência em pacientes sem tratamento (MAHMOOD et al., 2005).

Exames de neuroimagem são de fundamental importância para determinação do fenótipo, da progressão de doença e decisão terapêutica.

As alterações em ressonância nuclear magnética (RNM) de crânio geralmente precedem as alterações clínicas, o que contribui enormemente para o diagnóstico precoce (LOES et al., 2003).

São reconhecidos atualmente cinco padrões de envolvimento cerebral em RNM de crânio de acordo com a localização anatômica da lesão. O padrão 1, o mais comum deles, mais frequente em crianças, é caracterizado por lesões em substância branca parieto-occipital ou esplênio do corpo caloso. O padrão 2, de ocorrência mais comum na adolescência, consiste em lesões de substância branca frontal ou joelho do corpo caloso. No padrão 3 as lesões são em trato corticoespinal, sendo este o mais comum em adultos. O padrão 4 é caracterizado por lesões em substância branca cerebelar, sendo de acometimento preferencial em adolescentes, e o padrão 5 consiste em lesões em substância branca parieto-occipital e frontal concomitantes e de acometimento mais frequente em crianças (LOES et al., 2003). Tais padrões fenotípicos têm prognósticos diferentes, sendo o padrão 5 o mais grave deles, seguido pelos padrões 1 e 2.

Loes e colaboradores (1994) desenvolveram uma escala, Loes Score, a fim de graduar as lesões da X-ALD em exames de RNM de crânio. Esta escala consiste em um sistema de pontos baseados na extensão e localização das lesões, assim como na presença de atrofia focal e/ou global. Cada área é pontuada como 0 se normal, 0,5 para envolvimento unilateral e 1 se a lesão ou atrofia forem bilaterais. A pontuação máxima é 34 pontos e uma RNM com pontuação superior a 1 é considerada anormal. Esta escala tem importante valor preditivo de progressão de doença (LOES et al., 1994).

A captação pelo contraste nas imagens de RNM também possui valor preditivo quanto à progressão de doença, existindo forte correlação entre a presença de captação e a progressão da doença (MELHEM et al., 2000).

Outra ferramenta que contribui para determinação de progressão de doença é a ressonância com espectroscopia. De acordo com estudo elaborado por Eichler e colaboradores, em 2002, foi demonstrada que uma razão NAA/colina menor que 5 é altamente preditiva de progressão de doença (EICHLER et al., 2002).

O valor preditivo das alterações em RNM é também idade dependente. De acordo com Moser e colaboradores (2000), o risco de desenvolver a forma cerebral é maior até os 7 anos de idade, diminui aos 10 anos e tem nova queda aos 13 anos, mas nunca cessa. Sendo assim, pacientes com RNM de crânio normal aos 7 anos já passaram o período de maior risco de desenvolver tal fenótipo (MOSER et al., 2000). Existe no entanto uma pequena parcela de pacientes (em torno de 10%), que permanece estável apesar de exame de RNM estar alterado, e mesmo sem tratamento algum.

3.1.1 Tratamento

Os tratamentos disponíveis na atualidade para a X-ALD forma cerebral infantil são: reposição hormonal, dieta com óleo de Lorenzo e o transplante de medula óssea.

O tratamento com reposição hormonal é mandatório para todos os pacientes que apresentem insuficiência adrenal primária, no entanto ele não altera o status neurológico (MOSER, 2006; MOSER; MAHMOOD; RAYMOND, 2007).

O óleo de Lorenzo é uma mistura de 4:1 de trioleína e trierucina. A administração oral deste óleo, combinada com dieta é capaz de reduzir ou até normalizar os níveis de ácidos graxos de cadeia muito longa no plasma. No entanto, este tratamento não altera a progressão da doença. Atualmente, seu uso é preconizado para pacientes assintomáticos, entre 18 meses e 8 anos de idade, com diagnóstico de X-ALD, e com RNM normal, com o intuito de prevenir o desenvolvimento da forma cerebral (MOSER; MAHMOOD; RAYMOND, 2007; MOSER et al., 2005). Antes dos 12 meses de vida o tratamento é contraindicado, pois o óleo de Lorenzo pode diminuir os níveis de ácido docosa-hexaenóico (DHA), que tem papel importante no desenvolvimento da retina e do cérebro, e a suplementação de DHA pode não ser suficiente para restaurar padrões normais nesta idade crítica (MOSER et al., 2005). Após os oito anos de idade o risco de desenvolver a forma cerebral diminui substancialmente, não sendo mais indicado o tratamento profilático com óleo de Lorenzo (MAHMOOD et al., 2005).

Pacientes que recebem o óleo de Lorenzo como forma de prevenir as formas cerebrais devem ser submetidos a exame de RNM de crânio em regime semestral a fim de permitir o diagnóstico precoce possibilitando, quando indicado, o transplante de medula óssea.

O transplante de medula óssea é o único tratamento, até o momento, para X-ALD forma cerebral com bons resultados a longo prazo (AUBOURG et al., 1990; PETERS et al., 2004; SHAPIRO et al., 2000).

As indicações do transplante são restritas a: meninos e adolescentes com fenótipo cerebral em estágios iniciais; anormalidades progressivas em RNM, com LOES score < 9; anormalidades neurológicas leves ou ausentes, com teste de QI superior a 80 pontos; adultos, com ou sem AMN, que tenham envolvimento cerebral em fases iniciais (MAHMOOD et al., 2005); meninas com forma cerebral da doença, que sejam equivalentes homozigóticas (HERSHKOVITZ et al., 2002).

As contraindicações do transplante são: meninos assintomáticos com RNM normal, já que a história natural da doença indica que mais da metade destes pacientes não desenvolverão este fenótipo; fenótipo AMN, já que não existem estudos que comprovem benefício do transplante nestes pacientes; fenótipo cerebral avançado e mulheres heterozigóticas.

3.2 X-ALD FORMA CEREBRAL EM MULHERES

O primeiro caso documentado de X-ALD forma cerebral em mulheres foi descrito por Heffungs, Hameister e Ropers (1980). O caso era de uma adolescente de 14 anos cujo irmão tinha diagnóstico de X-ALD forma cerebral infantil, e que apresentou fenótipo cerebral associado a insuficiência adrenal de forma similar ao seu irmão (HEFFUNGS; HAMEISTER; ROPERS, 1980).

Matsumuro e colaboradores (1991) descreveram o caso de mulher de 51 anos, cuja mãe tinha diagnóstico de AMN, que iniciou quadro com déficit cognitivo com piora progressiva, seguido por distúrbio de marcha. A RNM de crânio apresentava áreas de hiper-intensidade difusa em substância branca (MATSUMURO et al., 1991).

Jung e colaboradores (2007) descreveram dois casos de mulheres portadoras de AMN que desenvolveram acometimento cerebral. O primeiro caso era de uma mulher de 35 anos, cujo filho havia falecido por X-ALD, que iniciou quadro de dificuldade de deambulação com piora progressiva. Aos 48 anos ela se encontrava restrita à cadeira de rodas. Após 7 anos evoluiu com déficit visual progressivo e atrofia óptica bilateral. RNM de crânio evidenciou hiper-intensidade em T2 parieto-occipital bilateral. Exame de inativação do cromossomo X demonstrou grave padrão de inativação preferencial favorecendo a expressão do X mutado. O segundo caso era de uma menina que iniciou aos 8 anos sintomas psicóticos, aos 25 anos evoluiu com paraparesia espástica e passados outros 20 anos apresentava déficit cognitivo, paraparesia espástica severa e síndrome cerebelar. A RNM de crânio evidenciava atrofia cerebelar moderada e evidente hiper-intensidade em T2 em substância branca cerebelar (Síndrome olivo-ponto cerebelar). O exame de inativação do cromossomo X revelou inativação preferencial moderada favorecendo a expressão do X mutado (JUNG et al., 2007). Em ambos os casos a AMN era o diagnóstico predominante, mas um componente cerebral também era evidente.

Fatemi e colaboradores (2003) desenvolveram estudo com objetivo de avaliar a extensão do envolvimento cerebral em mulheres heterozigóticas através de exame de RNM de crânio. Neste estudo foram avaliadas 76 mulheres heterozigóticas com idade variando entre 8 e 75 anos. Destas, 65 pacientes tinham quadro clínico compatível com AMN, com gravidade variável, duas pacientes tinham evidências clínicas de envolvimento cerebral e nove eram assintomáticas. Os

exames de RNM de crânio foram normais em 65 das 76 pacientes e anormais em onze pacientes. Das onze pacientes cujo exame de RNM era anormal apenas três apresentavam alterações em decorrência de X-ALD e destas apenas duas eram resultado de envolvimento cerebral pela X-ALD. A primeira era paciente de 14 anos que apresentava alterações de memória, déficit visual, ataxia cerebelar, diminuição de sensibilidade vibratória e insuficiência adrenal, força muscular mantida. Exame de RNM evidenciando envolvimento difuso da substância branca profunda e subcortical. A segunda era mulher de 45 anos apresentando déficit cognitivo e alterações de personalidade, associadas a paraparesia espástica com início aos 30 anos de idade. RNM apresentando atrofia significativa e hipersinal difuso em T2 em substância branca periventricular anterior e posteriormente, alterações em região subcortical e envolvendo as fibras de projeção no tronco cerebral. A terceira e última paciente com exame de RNM de crânio alterado era adolescente de 13 anos apresentando alterações em exame de RNM de trato cortico-espinhal e quadro clínico compatível com AMN associada a doença de Addison (FATEMI et al., 2003). O estudo concluiu que o envolvimento cerebral em mulheres heterozigóticas é de ocorrência rara.

3.3 X-ALD FORMA CEREBRAL EM CRIANÇAS DO SEXO FEMININO

O acometimento do fenótipo cerebral em crianças do sexo feminino é extremamente raro.

Hershkovitz e colaboradores (2002) descreveram caso de X-ALD forma cerebral em criança do sexo feminino. A paciente era uma menina de 8,5 anos, com história familiar para X-ALD, que iniciou o quadro com alterações de comportamento. Exame de RNM de crânio demonstrava envolvimento difuso da substância branca, mais evidente em regiões frontais, exame de sangue constatou aumento de ácidos graxos de cadeia muito longa e teste imunocitoquímico em cultura de fibroblastos cutâneos mostrou que a ALDP estava ausente em 99% das células da paciente em 100% das células dos familiares masculinos afetados. O cariótipo era 46X; Xdel (q27-Ter), que explica a ocorrência de tal fenótipo nesta paciente. Aos 8 anos e 9 meses ela foi submetida a transplante de medula óssea e seu estado neurológico e neuropsicológicos permaneceram estáveis após 18 meses do transplante.

Em 1961, a pesquisadora inglesa Mary Lyon propôs a hipótese de que as fêmeas mamíferas compensariam a dose dupla de genes do cromossomo X inativando um desses cromossomos. Desta forma, as células femininas se tornariam geneticamente semelhantes às masculinas, que por sua vez possuem apenas uma cópia funcional dos genes ligados ao cromossomo X. A inativação do cromossomo X ocorre ao acaso, independente dos genes que possuem, e nos blastômeros iniciais do desenvolvimento. Sendo assim, as mulheres possuem células geneticamente diferentes entre si, pois em algumas estão ativos os genes provenientes do cromossomo X materno e em outras do cromossomo X paterno. Mulheres heterozigóticas para genes ligados aos cromossomos X podem expressar o alelo dominante em algumas células e o alelo recessivo em outras.

Sendo a inativação do cromossomo X nas células somáticas das mulheres um processo aleatório, altos padrões de inativação preferencial de um cromossomo X é considerado um evento raro em mulheres normais. Na X-ALD esta inativação preferencial do cromossomo X parece ter grande influência na variabilidade fenotípica.

Em estudo desenvolvido por Maier e colaboradores (2002), com o objetivo de avaliar a relação entre a inativação preferencial do cromossomo X, concentrações plasmáticas de AGCML e sintomas clínicos, foi encontrada forte relação entre o grau de inativação preferencial e os sintomas clínicos. Não houve relação entre o padrão de inativação e os níveis de AGCML.

Existem, portanto três explicações possíveis para a ocorrência do fenótipo cerebral infantil em meninas (HEFFUNGS; HAMEISTER; ROPERS, 1980). A primeira seria em pacientes heterozigóticas em que houvesse inativação preferencial do cromossomo X normal favorecendo assim a expressão do cromossomo X mutado (MIGEON et al., 1981). A segunda seriam pacientes hemizigóticas para o locus da X-ALD e neste caso a paciente herdaria um cromossomo X mutado e, além disso, sofreria uma deleção incluindo o locus da X-ALD, fazendo desta uma equivalente homozigótica (HERSHKOVITZ et al., 2002). A terceira possibilidade seria de pacientes homozigóticas, ou seja, pacientes que herdaram o cromossomo X mutado e, além disso, sofreram mutação *de novo* no outro cromossomo X.

A hipótese de inativação preferencial do cromossomo X é a de ocorrência mais comum segundo a literatura.

A explicação mais provável para inativação preferencial do cromossomo X normal em heterozigóticas é a ocorrência de mecanismos de seleção pós-inativação.

Excepcionalmente na X-ALD estes mecanismos de seleção supostamente resultam em crescimento favorável de células expressando o alelo mutado, culminando em concentrações elevadas de AGCML e no desenvolvimento dos sintomas neurológicos em heterozigóticas (MIGEON et al., 1981).

3.4 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

3.4.1 Doença de Krabbe

Doença de Krabbe ou leucodistrofia de células globóides é uma doença rara, que envolve a substância branca do sistema nervoso central e periférico. Tem herança autossômica recessiva e é causada por mutação no gene *GALC* mapeado no cromossomo 14q31 (SANO, 2012). Mais de 60 mutações já foram identificadas. Tais mutações resultam na deficiência da enzima galactocerebrosidase responsável pela hidrólise dos galactolipídeos, encontrados quase exclusivamente na mielina, resultando no acúmulo dos mesmos (WENGER et al., 2000).

Os principais galactopeptídeos são: galactocerebrosídeos e psicossina. Os galactocerebrosídeos também são hidrolisados pela GM1-gangliosidase, o que explica o maior acúmulo da psicossina, sendo esta então a principal responsável pela destruição dos oligodendrócitos e células de Schwann, resultando em desmielinização do sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP).

O diagnóstico bioquímico da doença de Krabbe é feito através da dosagem da atividade da enzima galactocerebrosidase (enzima *GALC*) nos leucócitos isolados ou na cultura de fibroblastos da pele (WENGER et al., 2000).

Segundo a literatura existem diversas formas clínicas da doença, classificadas de acordo com o início dos sintomas. Duffner e colaboradores (2012), em trabalho recente que envolveu o estudo de 122 crianças de oito países, subdividiu as formas clínicas levando em consideração não só o início dos sintomas, mas também a sobrevivência destes pacientes em: infantil precoce (pacientes em que o início dos sintomas ocorre entre zero e seis meses, 62% dos casos deste estudo), infantil tardio (início dos sintomas entre sete e doze meses, 10% dos casos),

aparecimento tardio (início dos sintomas entre 13 meses e 10 anos, 22% dos casos), adolescente e adulto (início dos sintomas entre 11 e 20 anos e após os 20 anos respectivamente, 5% dos casos) (DUFFNER et al., 2012).

A forma de aparecimento tardio foi ainda subdividida em: início dos sintomas entre 13 e 36 meses e início dos sintomas entre 37 meses e 10 anos, já que existiram diferenças evidentes na sintomatologia e principalmente nos índices de sobrevida entre os dois grupos. Importante ressaltar que não havia neste estudo pacientes com mais de 5 anos, ficando o segundo grupo com pacientes de 37 a 60 meses. No grupo de 13 a 36 meses os sintomas iniciais mais comuns foram alterações de marcha seguido por perda dos marcos do desenvolvimento, choro excessivo, mãos cerradas e déficit visual. No grupo de 37 meses a 10 anos o sintoma inicial mais comum também foi alteração de marcha. Os sintomas mais comuns no curso da doença incluem alteração de marcha, mãos cerradas, rigidez, dificuldade de alimentação e déficit visual. No entanto, existiram diferenças marcantes entre os sintomas no decorrer da doença nos diferentes grupos tais como: déficit visual, verificado em 75% dos pacientes do grupo mais novo, enquanto nos mais velhos não houve relato; em contrapartida, hemiparesia foi evidenciada em 71% dos pacientes do grupo mais velho e não houve relato no grupo de pacientes mais jovens.

A sobrevida após o início dos sintomas também mostrou diferenças importantes. No grupo de 13 a 36 meses, a sobrevida, neste estudo, em 1, 5 e 10 anos foi de 74%, 64% e 59% respectivamente, enquanto no grupo de 37 meses a 10 anos a sobrevida foi de 100% (DUFFNER et al., 2012).

O maior estudo da forma de aparecimento tardio foi desenvolvido por Lyon e colaboradores (1991). Neste estudo foram avaliados 50 pacientes, sendo 26 do sexo masculino e 24 do sexo feminino, 42 pacientes com idade inferior a 5 anos e 8 pacientes com idade entre 5 e 10 anos. O sintoma inicial mais comum foi a alteração de marcha. Irritabilidade também foi alteração frequente no início da doença. No curso da doença 25% dos pacientes apresentaram déficit visual. As alterações mais encontradas em exame de RNM de crânio foram áreas de desmielinização parieto-occipital periventricular. O curso da doença foi muito variável, e a grande maioria dos pacientes com evoluções mais rápidas tinham idade inferior a 3 anos (LYON et al., 1991).

A forma de aparecimento tardio por ter apresentação bastante heterogênea, pode trazer importantes desafios diagnósticos.

O exame de neuroimagem é de fundamental importância para o diagnóstico e acompanhamento da doença de Krabbe. A forma de aparecimento tardio da doença tem característica de neuroimagem bem estabelecidas, onde o envolvimento do trato piramidal é achado radiológico proeminente e as lesões de substância branca são confluentes e bilaterais (BARONE et al., 1996).

Em estudo desenvolvido por Loes, Peters e Krivit (1999) foram analisados exames de imagem de 22 pacientes com diagnóstico de doença de Krabbe, sendo nove destes com a forma de aparecimento tardio, a fim de determinar padrão de acometimento da doença em exame de RNM. Dos pacientes com a forma de acometimento tardio da doença de Krabbe 100% tinham envolvimento de trato piramidal, 100% apresentavam envolvimento parieto-occipital, 89% envolvimento de corpo caloso posterior ou esplênio de corpo caloso, 0% apresentava envolvimento cerebelar, de substância cinzenta profunda ou atrofia cortical (LOES; PETERS; KRIVIT, 1999).

O estudo concluiu ainda que por conta do envolvimento típico da parte posterior do corpo caloso, trato piramidal e substância branca parietal, a forma de início tardio pode mimetizar a X-ALD (LOES; PETERS; KRIVIT, 1999).

3.4.2 Leucodistrofia Metacromática

Leucodistrofia metacromática é uma doença genética de herança autossômica recessiva, desmielinizante, causada pela deficiência da enzima lisossômica arilsulfatase A (ASA) responsável pela degradação de sulfatídeos, componente essencial da mielina. Tal deficiência resulta no acúmulo de sulfatídeos no SNC e SNP e em menor grau nos rins, fígado e bexiga. Os sintomas neurológicos resultam da desmielinização progressiva e perda axonal no SNC e SNP (RAUSCHKA et al., 2006; MAHMOOD et al., 2009).

A doença por ser subdividida em três formas clínicas de acordo com idade de início dos sintomas: infantil tardia (0.5 a 4 anos), juvenil (4 a 16 anos) e adulta (> 16 anos) (MAHMOOD et al., 2009).

A forma juvenil pode ainda ser subdividida em precoce e tardia. Na forma juvenil precoce o início dos sintomas ocorre entre 4 a 6 anos, e suas principais manifestações clínicas são anormalidades posturais e de marcha, alterações de comportamento, atrofia óptica e tetraparesia espástica progressiva. Na forma juvenil tardia o início dos sintomas ocorre entre 6 e 16 anos, e suas principais manifestações clínicas são alterações de comportamento, baixo rendimento escolar, alterações de marcha, tetraparesia espástica lentamente progressiva (VON-FIGURA; GIESELMANN; JAEKEN, 2001).

Em 2009, Mahmood e colaboradores (2009), realizaram estudo de revisão que incluiu 303 casos de leucodistrofia metacromática publicados em período de 80 anos. Destes, 98 casos de 50 estudos eram da forma infantil tardia, 78 casos de 42 estudos eram da forma juvenil e 127 casos de 69 estudos eram da forma adulta. Dos 78 casos da forma juvenil revisados por Mahmood e colaboradores (2009), 66% apresentaram como sintomas iniciais desatenção e dificuldades escolares, 26% alterações de marcha, 18% tremor ou ataxia, 13% neuropatia e 5% iniciaram a doença com convulsões. Neste grupo, 38,5% dos pacientes vieram a óbito a uma idade média de 17,4 anos, ambos os sexos foram afetados de forma semelhante e não houve diferenças de sobrevivência entre os sexos (MAHMOOD et al., 2009).

A forma insidiosa do início dos sintomas predominantemente cognitivos na forma juvenil traz importantes dificuldades no diagnóstico precoce desta forma da doença.

O diagnóstico da doença é feito através do quadro clínico, exame de neuroimagem, dosagem da atividade da enzima ASA em leucócitos do sangue periférico ou cultura de fibroblastos cutâneos e exame genético.

O exame de Ressonância Magnética de crânio é caracterizado por lesões de sinal hiperintenso em T2, envolvendo inicialmente a substância branca periventricular e central dos lobos frontal e parietal. Com a evolução da doença as lesões se tornam mais densas e passam a envolver também áreas subcorticais. O padrão tigróide, caracterizado por faixas com alteração do sinal de substância branca alternadas com faixas com substância de branca normal, é característico de doença avançada (EICHLER et al., 2009).

O envolvimento das fibras de projeção, da substância branca cerebelar e tálamo geralmente estão presentes em fases avançadas da doença.

O envolvimento do corpo caloso pode ocorrer em fases iniciais, mas não é tão proeminente como observado na X-ALD e na doença de Krabbe.

Não existe captação periférica pelo contraste nas lesões da leucodistrofia metacromática.

3.4.3 Doença de Schilder

Doença de Schilder, ou esclerose mielinoclástica difusa, é uma doença rara, desmielinizante, considerada por muitos autores com uma variante da esclerose múltipla (KRAUS; KONEN; STRAUSSBERG, 2012; POSER et al., 1986), que acomete preferencialmente crianças, de 5 a 14 anos, sem preferência por sexo (KURUL et al., 2003).

É caracterizada por anormalidades neurológicas focais de apresentação atípica para esclerose múltipla, e alterações em exames de neuroimagem que fazem diagnóstico diferencial com tumores, abscesso cerebral e outras doenças desmielinizantes.

Os critérios diagnósticos da doença de Schilder foram descritos por Poser e colaboradores em 1986 (Quadro 1).

O diagnóstico requer todos os critérios.
- Desordem mielinoclástica sub-aguda ou crônica, que resulta na formação de uma ou, mais frequentemente duas placas, simétricas, bilaterais, de ao menos 2 x 3 cm em duas ou três dimensões, envolvendo o centro semi-oval;
- Nenhuma outra lesão demonstrável pela clínica ou exames de neuroimagem;
- Sistema nervoso periférico sem alterações;
- Função adrenal sem alterações;
- Exame de ácidos graxos de cadeia muito longa normal;
- Histopatológico idêntico ao da Esclerose múltipla;

Fonte: Poser e colaboradores (1986)

Quadro 1: Critérios propostos para o diagnóstico de Doença de Schilder - 1986

O diagnóstico da doença requer, de acordo com os critérios de Poser, a biópsia cerebral, no entanto, com o aprimoramento das técnicas de neuroimagem o diagnóstico não invasivo está cada vez mais viável (BACIGALUPPI et al., 2009).

As alterações de exame de RNM de crânio são caracterizadas por: lesões desmielinizantes extensas nos hemisférios cerebrais, hipointensas em T1 e

hiperintensas em T2, com captação de contraste em anel aberto ocorrendo durante a fase aguda inflamatória da doença, associada a discreto edema peri-lesional. Efeito de massa pode ou não estar presente e geralmente não condiz com o tamanho das lesões (BACIGALUPPI et al., 2009; MASDEU et al., 2000; YILMAZ et al., 2008).

O diagnóstico requer ainda a exclusão do diagnóstico de adrenoleucodistrofia ligada ao X através de exames de ácidos graxos de cadeia muito longa e função adrenal normais.

O tratamento da doença de Schilder é realizado com altas doses de corticóide venoso, seguido geralmente por corticoterapia via oral. A imunoglobulina humana venosa constitui opção terapêutica para casos refratários (KRAUS; KONEN; STRAUSSBERG, 2012).

Bacigaluppi e colaboradores (2009) desenvolveram um estudo, em que foi realizada uma revisão de 34 casos de doença de Schilder publicados em período de dez anos (entre 1998 e 2008). Dos 34 casos revistos, 91% foram descritos como de apresentação atípica para Esclerose múltipla. Em 79% dos casos o exame de líquido (LCR) foi realizado e em 1 caso foi detectada a presença de bandas oligoclonais. Exame de AGCML foi mencionado em apenas 63% dos pacientes e em somente 12% a função adrenal foi avaliada. As lesões em neuroimagem eram bilaterais em 32% e unilaterais no restante dos casos. Com relação ao prognóstico 52% dos pacientes tiveram melhora completa, 3% permaneceram estáveis, 26% apresentaram melhora evolutiva porém persistiram com algum sintoma neurológico, 3% vieram a óbito por complicações em decorrência da corticoterapia, 16% tiveram, segundo relato, evolução da doença para esclerose múltipla, 3% apresentaram rápida progressão da doença, 3% apresentaram dois episódios de exacerbação da doença (BACIGALUPPI et al., 2009).

Relatos de casos mais recentes de doença de Schilder em crianças menores de 10 anos estão exemplificados no quadro 2.

Estudo	Idade; Gênero	Quadro clínico; exames complementares	Neuroimagem	Diagnóstico; Tratamento
Yilmaz et al., 2008	8 anos, feminino	Hemiparesia a esquerda com 4 meses de evolução; Sem história de vacinação ou infecção recente; Exame de LCR normal; ausência de bandas oligoclonais e índice de IgG; AGCML e função adrenal não mencionados;	Lesão unilateral extensa em substância branca, hipointensa em T1, hiperintensa em T2, localizada em lobo parietal direito, com captação de contraste em anel aberto.	Diagnóstico: clínico e neuro-radiológico; Tratamento: pulsoterapia com altas doses de corticóide venoso, seguido por corticoterapia oral. Resultado: melhora clínica completa; RNM de controle ao final do tratamento revelou discreta alteração de sinal sem captação de contraste;
Yilmaz et al., 2008	9 anos, feminino	Hemiparesia a esquerda associada a vômitos com 2 semanas de evolução; Sem história de vacinação ou infecção prévia; AGCML normal; Exame de LCR normal;	Lesão extensa em substância branca frontoparietal esquerda, com efeito de massa, captação de contraste em anel aberto. Segunda lesão pequena, inferomedial e adjacente ao ventrículo lateral direito com captação de contraste em anel aberto.	Diagnóstico: clínico e neuro-radiológico; Tratamento: pulsoterapia com altas doses de corticóide venoso; Resultado: melhora clínica completa; RNM de controle após 5 semanas do início do tratamento revelou significativa melhora da lesão a esquerda, e desaparecimento da lesão à direita.
Kurul et al., 2003	9 anos, feminino	Hemiparesia a esquerda, disartria, crises convulsivas tônico-clônicas, cefaléia, vômitos e febre com uma semana de evolução. Sem história de vacinação ou infecção prévia; Exame de LCR: proteínas aumentadas; presença de bandas oligoclonais; AGCML: normal	Lesões extensas, hiperintensas em T2, localizadas em substância branca subcortical dos lobos parietais bilateralmente, com captação de contraste em anel aberto; Lesão hiperintensa em joelho e esplênio do corpo caloso	Diagnóstico: clínico e neuro-radiológico; Tratamento: pulsoterapia com altas doses de corticóide venoso; Resultado: Após dois meses dos sintomas iniciais tratados com corticoterapia a paciente evoluiu com déficit visual súbito à direita. Realizado novo curso de pulsoterapia com altas doses de corticóide venoso seguido de corticoterapia oral com melhora clínica completa; RNM de controle revelou regressão de todas as lesões.

Estudo	Idade; Gênero	Quadro clínico; exames complementares	Neuroimagem	Diagnóstico; Tratamento
Riva et al., 2008	10 anos, feminino	Cefaléia, vômitos e hemiparesia à direita com piora progressiva em dias. Exame de LCR normal; ausência de bandas oligoclonais; AGCML e função adrenal não mencionados;	Extensa lesão em lobo parietal esquerdo se estendendo para o corpo caloso, com efeito de massa e captação de contraste em anel aberto.	Paciente diagnosticada com glioma e submetida a neurocirurgia. Primeira análise histopatológica confirmando glioma, reanálise descartou diagnóstico de glioma e classificou lesão como inflamatória. Tratamento: pulsoterapia com altas doses de corticóide venoso; Resultado: melhora parcial do déficit motor;

Quadro 2: Casos descritos em literatura de Doença de Schilder em crianças

3.4.4 ADEM

Encefalomielite aguda disseminada (ADEM) consiste em desordem inflamatória, desmielinizante do SNC, de evolução aguda ou subaguda, geralmente monofásica.

Davis e Boos (2003) realizaram estudo de revisão que incluiu 360 crianças com diagnóstico de ADEM a fim de melhor avaliar a história natural da doença. Neste estudo 60% das crianças eram do sexo masculino e a idade média de acometimento foi de 6,7 anos. Em 82% das crianças um evento viral, bacteriano, febre inespecífica ou até mesmo vacinação foi encontrado nas três semanas que precederam o início do quadro. Os sintomas neurológicos progrediram em período médio de 5,1 dias, e os sintomas mais comuns apresentados foram: alterações do nível de consciência, sinais motores, febre, ataxia, cefaléia, náuseas e vômitos e convulsões. Exame de RNM de crânio demonstrou alterações em 95% dos pacientes. As alterações de RNM características são lesões bilaterais, múltiplas, assimétricas, de substância branca, com diâmetro maior que 1 cm. Realce pelo contraste foi encontrado em 26% dos pacientes, e 16% apresentavam lesões com efeito de massa. O prognóstico na grande maioria dos casos é excelente com 74% dos pacientes ficando sem seqüela alguma. Nenhum paciente deste estudo foi a óbito.

Recorrências ocorreram em 14% dos casos, e estas podem ser com os mesmos sintomas ou com sintomas diferentes, caracterizando ADEM recorrente e ADEM multifásica (DAVIS; BOOSS, 2003).

Krupp, Banwell e Tenenbaum (2007) redigiram um documento de consenso a fim de firmar as definições de ADEM monofásica, recorrente e multifásica. De acordo com estas definições de consenso temos:

- ADEM monofásica: evento clínico agudo ou subagudo de causa desmielinizante, que afeta áreas multifocais do SNC. A apresentação clínica deve ser polissintomática e inclui necessariamente encefalite, que é definida como um ou mais dos seguintes sintomas: alterações de comportamento, confusão mental, irritabilidade, alteração do nível de consciência, letargia ou coma. O paciente tende a ter melhora clínica e em exame de neuroimagem, mas pode haver sequelas. Não há história de evento clínico semelhante anterior e nenhuma outra etiologia pode explicar tal evento. Exames de neuroimagem mostram lesões focais ou multifocais, grandes (> 1 a 2 cm), hiperintensas em T2, em regiões supra ou infratentoriais, envolvendo predominantemente a substância branca, podendo acometer também substância cinzenta, gânglios basais e tálamo, sem evidências radiológicas de destruição prévia da substância branca. Em casos raros, a imagem de RNM pode mostrar lesão única de 1 a 2 cm, afetando preferencialmente a substância branca. A medula espinhal pode apresentar lesões confluentes com captação variável pelo contraste, além das lesões em RNM de crânio.

Um único evento de ADEM pode envolver período de 3 meses com flutuações de sintomas e de gravidade clínica.

Infecções virais geralmente precedem a instalação da ADEM, no entanto a documentação de tal infecção e o isolamento do agente infeccioso não é necessário para o diagnóstico.

- ADEM recorrente: consiste em recorrência dos sinais e sintomas iniciais após período de 3 meses ou mais do primeiro evento de ADEM, sem envolvimento de novas áreas seja na história, exame clínico ou exame de neuroimagem. Exames de neuroimagem não possuem novas lesões, no entanto as lesões prévias podem estar aumentadas.

- ADEM multifásica: consiste em evento de ADEM seguido de novo evento clínico também com critérios de ADEM, mas envolvendo novas áreas anatômicas em SNC, confirmados pela história clínica, exame neurológico, e exames de neuroimagem. O evento subsequente ocorre pelo menos 3 meses após o primeiro evento de ADEM, e pelo menos 1 mês após completado o tratamento com corticóides. O novo evento deve incluir apresentação polissintomática, encefalopatia e sinais e sintomas neurológicos diferentes dos iniciais. Exame de RNM mostra novas áreas de lesão, mas também resolução completa ou parcial das lesões associados ao primeiro evento.

Imagens de RNM obtidos após a resolução dos eventos mostram melhora parcial ou completa das lesões.

3.4.5 Doenças que cursam com aumento de AGCML

- Pseudo ALD neonatal;
- Adrenoleucodistrofia neonatal (NALD);
- Doença de Refsum neonatal;
- Síndrome de Zellweger;
- Deficiência enzimática bifuncional.

As três primeiras ocorrem apenas em período neonatal.

Síndrome de Zellweger ou síndrome cérebro-hepatorrenal é uma doença autossômica recessiva, peroxissômica causada pela deficiência de múltiplas vias enzimáticas. Inicia-se geralmente em recém-natos e o comprometimento de múltiplos sistemas já pode estar presente ao nascimento. A apresentação clínica da doença pode incluir recém-natos flácidos e inativos, dismorfismos crânio faciais, retinopatia pigmentar e atrofia óptica, alterações hepáticas que podem chegar a cirrose, displasia cística dos rins podendo resultar em insuficiência renal, anomalias genitais e ósseas. Dentre os achados laboratoriais estão: aumento de AGCML, aumento dos níveis de ácido pipecólico e ácido fitânico, diminuição dos níveis de plasmalógenos, aumento no plasma e na urina de intermediários do metabolismo dos ácidos biliares, aumento de bilirrubinas, alterações da função hepática e aumento do ferro sérico. Exames de neuroimagem evidenciam mielinização

deficiente, atrofia cerebral, paquigiria, polimicrogiria e heterotopias neuronais. A maioria das crianças acometidas morre no primeiro ano de vida.

A deficiência enzimática bifuncional apresenta fenótipo similar ao da síndrome de Zellweger, com dismorfismos faciais e defeitos na migração neuronal.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DESENHO DO ESTUDO

O presente trabalho tratou-se de estudo observacional e descritivo.

4.2 ANÁLISE DE PRONTUÁRIOS E EXAMES CLÍNICOS

Foi feita análise de prontuário com levantamento dos exames complementares realizados pela paciente índice desde o início dos sintomas até seu óbito. Exames clínicos detalhados foram também realizados nos familiares diretos da paciente índice.

4.3 EXAMES LABORATORIAIS

Dosagem de ácidos graxos de cadeia muito longa, exame de inativação do cromossomo X e análise genética, que foram realizados a partir de sangue periférico coletado de familiares diretos da paciente índice da seguinte forma:

Dosagem de ácidos graxos de cadeia muito longa indicado para todos os familiares diretos. O exame da paciente índice foi realizado em São Paulo, no laboratório do HIAE (Hospital Israelita Albert Einstein), e os exames da mãe e meia-irmã da paciente índice foram realizados no Rio de Janeiro, no laboratório DLE.

Exame de inativação do cromossomo X, realizado na mãe e meia-irmã da paciente índice, pela Dra. Lúcia Morais do Laboratório de Citogenética do Instituto Fernandes Figueira, de acordo com o seguinte protocolo:

- Extração de DNA de células do sangue periférico

As amostras de DNA foram obtidas a partir de células do sangue periférico de mulheres normais de acordo com protocolo de Miller e colaboradores (1988). Dez

mililitros de sangue colhidos com EDTA foram diluídos em 35mL de tampão de lise de hemácias (155mM de NH_4Cl ; 10mM de KHCO_3 ; 1mM de EDTA pH: 7.4), e mantidos em gelo durante 30 minutos. As amostras foram centrifugadas a 340g por 15 minutos a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspenso em 10 mL de tampão de lise de hemácia. O material foi centrifugado novamente a 900g por 15 minutos, e o processo repetido até se obter um sedimento celular branco. Em seguida o sedimento foi diluído em 3 mL de tampão de lise de núcleo (400mM de NaCl, 10mM de Tris-HCl, 2mM de EDTA). O SDS foi adicionado a uma concentração final de 0,3%, e proteinase tipo XIV, a uma concentração final de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, seguido de incubação a 37°C durante a noite. No dia seguinte, a amostra foi tratada com 1mL de NaCl 5M, seguida de 15 segundos de agitação vigorosa. Depois foi centrifugada a 1800g por 10 minutos. O sobrenadante foi cuidadosamente retirado com pipeta Pasteur e transferido para um segundo tubo de polipropileno de 50 mL. Foram adicionados 2 volumes de etanol absoluto, procedendo-se agitação até a precipitação do DNA. O DNA foi centrifugado a 1800g por 20 minutos e lavado com etanol 70%. Em seguida, o DNA foi seco à temperatura ambiente, e ressuspenso em 500 μL de água milliQ e armazenado a 4° C. Após a extração as amostras de DNA foram quantificadas em espectrofotômetro (Nanodrop ND - 1000 Spectrophotometer).

- Determinação de inativação do cromossomo X: amplificação por PCR do locus HUMARA e identificação dos amplicons por eletroforese em gel agarose

Inicialmente, o padrão polimórfico CAG do locus *HUMARA* (human androgen receptor) localizado em Xq11-q12 foi determinado em produtos amplificados a partir de amostras de DNA genômico, através da técnica de PCR e posterior eletroforese capilar dos produtos da PCR, como descrito a seguir. Foi utilizado um par de iniciadores específicos para o polimorfismo CAG [5' - GTGCGGAAGTGATCCAGAACC -3'; 5'- TACGATGGGCTTGGGGAGAACC - 3'] sendo que o iniciador "sense" estava marcado na extremidade 5' com o fluorocromo FAM (cor azul). Para cada reação foram utilizados 200ng de DNA, 4pmoles de cada iniciador, misturados com o tampão de reação 1X [20Mm de TRIS HCL (pH 8.4), 50Mm de KCL, sem MgCL2, 1,5mM de MgCL2, 200mM de cada dNTP, 10% dimetil-sulfóxido (DMSO) e 0,15U de Taq DNA polimerase em um

volume final de 30 μ L. As condições de ciclagem utilizadas foram as descritas por Delabesse e colaboradores (1995): uma desnaturação inicial à 94°C por 5 minutos, pareamento inicial a 65°C por 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 65°C e 45 segundos a 72°C, e com incubações finais a 65°C por 5 minutos e a 72°C por 10 minutos. A eficiência de amplificação foi verificada por corrida eletroforética em gel de agarose 1,5% em tampão de corrida TBE 1X (89 mM de Tris Base, 89 mM de ácido bórico e 2mM de EDTA, contendo 0,5 μ g/ml de brometo de etídio) a 7-10V/cm, por aproximadamente 30 minutos. Como marcador de peso molecular foi utilizado o 100pb DNA *ladder* (Amersham Biosciences). Os géis foram fotografados com transluminador UV EAGLE EYE IITM (Stratagene) utilizando o programa Quantity One (BioRad Laboratories).

- Estudo do padrão de inativação do cromossomo X

O padrão de inativação dos cromossomos X foi determinado para todas as mulheres heterozigotas para a repetição CAG do locus *HUMARA*, através da análise da metilação dos sítios de restrição para a enzima HpaII situados próximos a esta repetição. O padrão de metilação foi determinado em produtos amplificados pela técnica de PCR (com iniciadores específicos para o locus *HUMARA*) de amostras de DNA, digeridas e não digeridas com a endonuclease de restrição HpaII.

- Digestão de DNA Genômico com a Endonuclease HpaII

Para a digestão, pela endonuclease HpaII, foram utilizados 200 μ g de DNA, 10 U da enzima HpaII, 1X de tampão de enzima (10X), em um volume final de 22,5 μ L. As amostras foram incubadas a 37°C por 18 horas. Para interromper a reação de digestão a mistura foi incubada durante 10 minutos a 95°C. As amostras não digeridas foram mantidas nas mesmas condições que as amostras digeridas. Os produtos do DNA digerido e do DNA não digerido foram imediatamente submetidos à reação de PCR.

- Identificação do Padrão de Metilação para o Locus *HUMARA*

Para testar cada reação de PCR foram utilizados 2 μ L do DNA digerido, o tampão de reação 1X [20Mm de TRIS HCL (pH 8.4), 50Mm de HCL, 1mM de

MgCL₂, 200mM de cada dNTP, 10% dimetil-sulfóxido (DMSO) e 0,15U de Taq DNA polimerase em um volume final de 30µL. As condições de ciclagem foram realizadas de acordo com Delabesse e colaboradores (1995), e a eficiência de amplificação foi verificada em gel de agarose 1,5% por meio de corridas eletroforéticas, como descritas anteriormente neste trabalho.

Para a investigação da inativação do X, os produtos da PCR foram inicialmente diluídos com água, em uma proporção de 1:5 e 1:9. Em seguida, 1µL do produto da PCR previamente diluído foi adicionado a 0,25µL de marcador de peso molecular MegaBACE ET 400-R (Amersham Biosciences) e 775µL de Tween 20 a 0,1%. As amostras foram desnaturadas a 95°C por 3 minutos e então submetidas à eletroforese capilar no sequenciador automático MegaBace 1000, com um sistema de genotipagem MegaBACE, utilizando tampão 1X LPA e matriz Long Read Matrix (Kit MegaBACE™ Long Read Matrix; Amersham Biosciences) com filtro GT Dye Set 2 (ET-ROX, FAM, NED, HEX), compatível com os fluorocromos utilizados. O tempo para a injeção dos capilares foi de 45 segundos a 3KV e o tempo de corrida de 75 minutos a 10KV. Os resultados foram analisados com programa Genetic Profiler 2.0 (AMERSHAM BIOSCIENCES, 2002©).

- Identificação do Padrão de Inativação do Cromossomo X

O padrão de inativação do cromossomo X foi identificado em todas as mulheres heterozigotas (com dois alelos) para o locus *HUMARA* incluídas neste estudo. Para isso, foram utilizados os dados relativos à altura de cada pico referente a cada alelo (intensidade de fluorescência de cada pico), obtidos através do programa Genetic Profiler v.20 (AMERSHAM BIOSCIENCES, 2002©). O padrão de inativação foi calculado considerando-se a soma das alturas de cada pico (100%) e calculando-se a percentagem de cada pico em relação ao somatório da altura dos dois picos na amostra digerida com HpaI.

5 RESULTADOS

Relato de Caso:

Menina branca, natural do Rio de Janeiro, primeira filha de casal não consanguíneo, sem história familiar conhecida para X-ALD, nascida de parto cesáreo, gravidez gemelar dizigótica, prematura de oito meses, pesando 1.980g e medindo 45 centímetros ao nascer. Permaneceu internada em UTI neonatal por 10 dias após o nascimento devido a baixo peso e recebeu alta hospitalar, apresentando nos anos subsequentes crescimento e desenvolvimento normais. A outra criança era uma menina, nascida com peso inferior a 1Kg, portadora de cardiopatia congênita, sendo submetida a cirurgia cardíaca e vindo a falecer com 10 dias de vida.

Aos seis anos de idade a paciente iniciou quadro de irritabilidade, agressividade e baixo rendimento escolar, seguido por estrabismo divergente à esquerda e déficit visual progressivo, restante do exame neurológico e oftalmológico sem alterações. Com oito meses de evolução, devido à piora do déficit visual, foram solicitados: potencial evocado visual, cujo resultado foi normal e TC de crânio, que evidenciou imagens densas pseudonodulares em projeção dos lobos parietais bilateralmente, associadas à área com aspecto de edema circunjacente. Parênquima cerebelar isodenso. Neste momento a paciente apresentava-se dispersa, com discreta alteração da marcha e relato de quedas frequentes. Foi solicitado ainda exame de líquido cujo resultado foi normal. No mesmo mês foi internada em UTI pediátrica por cefaléia intensa, vômitos incoercíveis e crise convulsiva seguida de coma, realizada RNM de crânio que evidenciou áreas com sinal hipointenso em T1 e hiperintensas em T2, sem restrição a difusão, com captação periférica de contraste na substância branca cerebral, em especial adjacente aos átrios ventriculares, cornos occipitais e centro semi-oval (Figura 1).

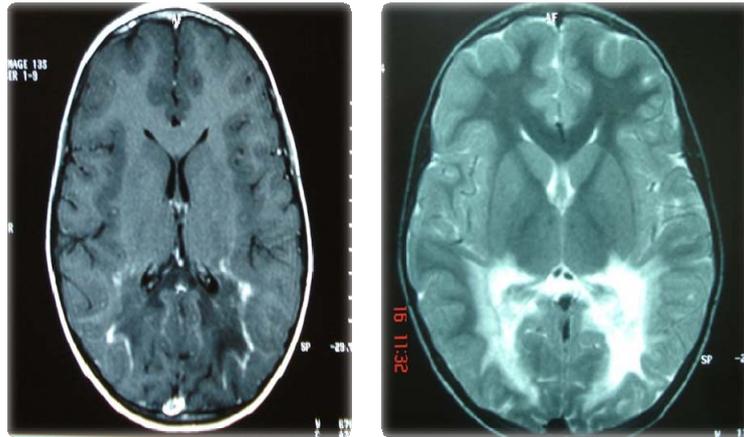


Figura 1: RNM realizada com 8 meses de evolução de doença, apresentando área hipointensa em T1 e hiperintensa em T2 sem restrição a difusão, com captação periférica pelo contraste, localizada na substância branca adjacente aos átrios ventriculares e cornos occipitais, porção posterior das coroas radiadas e centro semi-oval

Foi prescrita então pulsoterapia com metilprednisolona por três dias que resultou em melhora da cefaléia e discreta melhora do déficit visual. Foi aventada a hipótese diagnóstica de doença desmielinizante (ADEM). Após uma semana evoluiu com novo episódio de cefaléia intensa desta vez acompanhado de amaurose bilateral, sendo internada para curso com imunoglobulina venosa por três dias. Recebeu alta sem melhora alguma do déficit visual.

Solicitada nova RNM de crânio que não evidenciou alterações significativas em relação ao exame de RNM anterior. Aventada, pelo neuroradiologista, a hipótese diagnóstica de leucodistrofias: leucodistrofia metacromática ou X-ALD.

Encaminhada ao Hospital da Lagoa com nove meses de evolução, sendo evidenciada na admissão amaurose bilateral, marcha atípica, ausência de sinais de localização ao exame neurológico e respostas adequadas às solicitações verbais. Reconhecia familiares e amigos. Foi realizado novo curso de pulsoterapia com metilprednisolona sem qualquer melhora.

Com 11 meses de evolução a paciente apresentava, além da amaurose bilateral, espasticidade nos 4 membros. Após um mês evoluiu com perda auditiva neuro-sensorial leve bilateral. Neste momento a paciente reconhecia seus familiares e não apresentava déficit de força. Com 1 ano e 4 meses de evolução a paciente apresentava déficit cognitivo, dificuldade de fala e tetraparesia espástica. Reconhecia seus familiares. O exame de sangue para avaliação de ácidos graxos

de cadeia muito longa evidenciou concentrações elevadas de C24:0 e C26:0 assim como das relações C24:0/C22:0 e C26:0/C22:0. Achados compatíveis com estado de heterozigose para X-ALD (Tabela 1).

Tabela 1: Resultado do exame de ácidos graxos de cadeia muito longa da paciente índice

Ácidos Graxos de Cadeia Muito Longa		
Material: Sangue	Resultado	Valor Referencial
C22:0	64,8umol/L	0,0 a 96,3 umol/L
C24:0	94,9umol/L	0,0 a 91,4 umol/L
C26:0	2,97umol/L	0,0 a 1,3 umol/L
C24:0/C22:0	1,46 razão	0,0 a 1,39 razão
C26:0/C22:0	0,046 razão	0,0 a 0,023 razão
Ácido pristânico	0,17 umol/L	0 a 2,98 umol/L *
Ácido fitânico	2,69 umol/L	0 a 9,88 umol/L *
Ac. pristânico/Ac. fitânico	0,06 razão	0 a 0,39 razão *

• Valores para maiores de 24 meses.

Nessas amostras as concentrações de C24:0 e C 26:0 encontram-se elevadas, e as relações C24/C22 e C 26/C22 encontram-se anormais. Esse achado é sugestivo de heterozigose para adrenoleucodistrofia ligada ao X.

Foi solicitada a análise do cariótipo que evidenciou cariótipo normal 46, XX.

Com dois anos e dois meses de evolução foi realizada nova RNM de crânio que evidenciou hipersinal em T2W e FLAIR no bulbo, na porção ventral da ponte, nos pedúnculos cerebrais, na substância branca dos hemisférios cerebrais, mais evidentes nas regiões parieto-occipitais e acometendo também as fibras “U” e o corpo caloso (Figura 2 e 3). Neste momento a paciente encontrava-se acamada e sem interação com o meio.

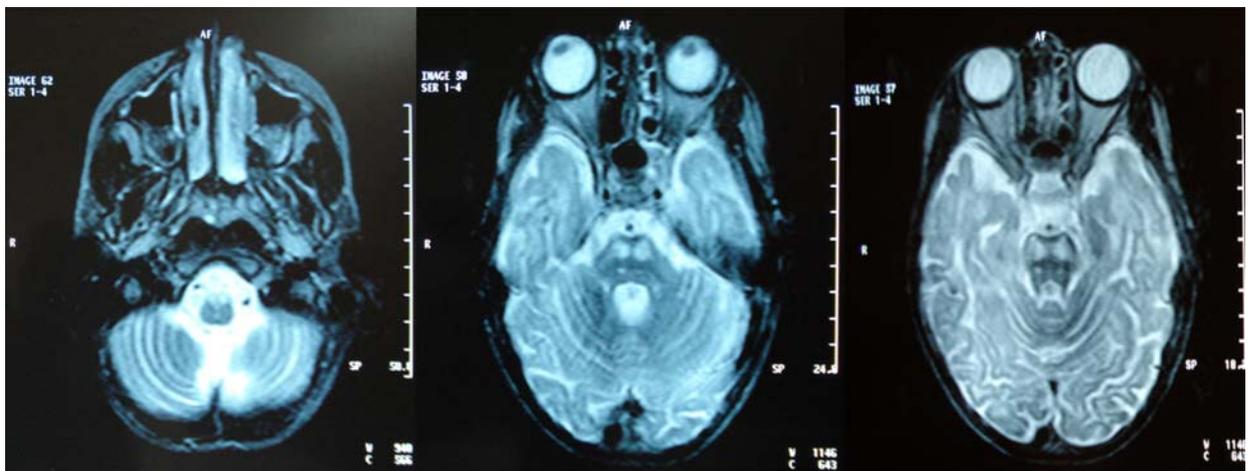


Figura 2: RNM realizada aos 8 anos de idade, com 2 anos e dois meses de evolução da doença, evidenciando hipersinal em T2W no bulbo, no porção ventral da ponte e pedúnculos cerebrais

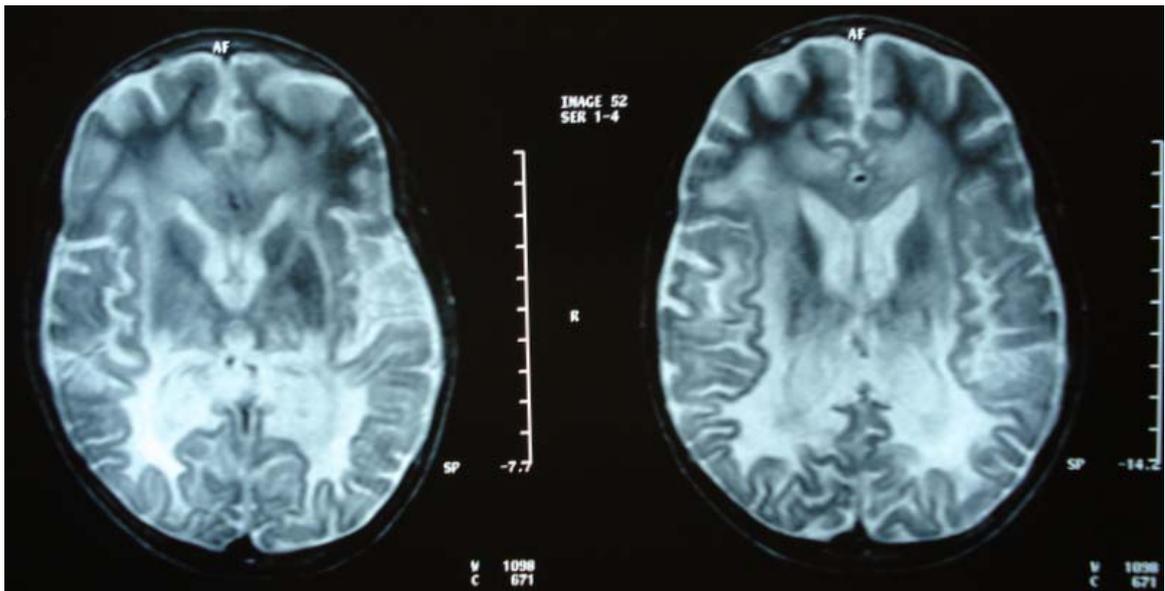


Figura 3: RNM realizada aos 8 anos de idade, com 2 anos e dois meses de evolução da doença, evidenciando hipersinal em T2W na substância branca dos hemisférios cerebrais, mais evidentes nas regiões parieto-occipitais e acometendo também as fibras “U” e o corpo caloso

Somando-se o resultado das ressonâncias, ao exame de ácidos graxos de cadeia muito longa e história clínica, foi feito o diagnóstico de adrenoleucodistrofia forma cerebral infantil.

A paciente evoluiu por fim com diversos episódios de pneumonia broncoaspirativa sendo necessárias frequentes internações hospitalares. Veio a óbito com 3 anos e 4 meses do início dos sintomas quando se encontrava restrita ao leito, sem interação com o meio, com gastrostomia e traqueostomia.

Foi iniciada então a investigação fenotípica e genotípica em seus familiares de forma a serem identificados possíveis sintomas clínicos, a mutação que deu origem à doença nesta família e o estado de heterozigose em familiares diretos, permitindo assim o diagnóstico precoce e o aconselhamento genético quando indicado.

Foi realizado inicialmente exame clínico na mãe e na meia-irmã da paciente index, de cinco anos de idade, ambas assintomáticas, que foram normais.

Seguiu-se com exame de ácidos graxos de cadeia muito longa e exame de inativação do cromossomo X em ambas. O padrão de inativação dos cromossomos X foi determinado através da análise de metilação dos sítios de restrição para a enzima *HpaII* situados próximos a repetição CAG do locus *HUMARA*. O padrão de

metilação foi determinado em produtos amplificados pela técnica de PCR (com iniciadores específicos para o locus *HUMARA*) de amostras de DNA, digeridas e não digeridas com endonuclease de restrição *HpaII*.

O exame de ácidos graxos de cadeia muito longa da mãe da paciente índice veio compatível com estado de heterozigose e os resultados preliminares do exame de inativação do cromossomo X mostrou inativação aleatória do X (52,3%) (Figura 4).

O resultado do exame de ácidos graxos de cadeia muito longa da meia irmã da paciente índice foi normal e os resultados preliminares do exame de inativação indicou ativação favorecendo o X paterno (65%), o que condiz com o estado assintomático da menina e com o resultado normal do exame de AGCML (Figura 5).

A figura 6 mostra o resultado do estudo de inativação do X do pai da meia-irmã da paciente índice. O primeiro gráfico representa o cromossomo X antes da digestão e o segundo gráfico é o resultado da inativação após a digestão pela *HpaII*. Neste não aparece pico, já que o homem tem apenas um cromossomo X que permanece ativo e conseqüentemente sofre digestão por *HpaII*. Os resultados do pai da meia-irmã são importantes para que se possa identificar o tamanho do alelo polimórfico *HUMARA* paterno e para mostrar que as técnicas utilizadas funcionaram dentro do esperado.

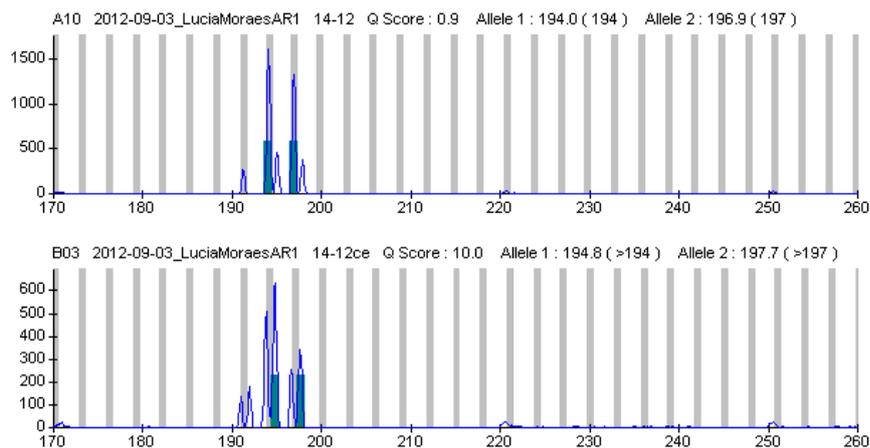


Figura 4: Eletroforese capilar dos produtos de amplificação por PCR para exame de inativação do cromossomo X da meia-irmã da paciente índice, resultados preliminares. O primeiro gráfico evidencia os picos referentes aos amplicons do locus *HUMARA* antes da digestão por endonuclease de restrição. O segundo gráfico se refere aos amplicons obtidos após a digestão com *HpaII*, ficando o registro apenas da fração de cromossomos X que está inativada, pois a *HpaII* digere apenas os cromossomos X ativos

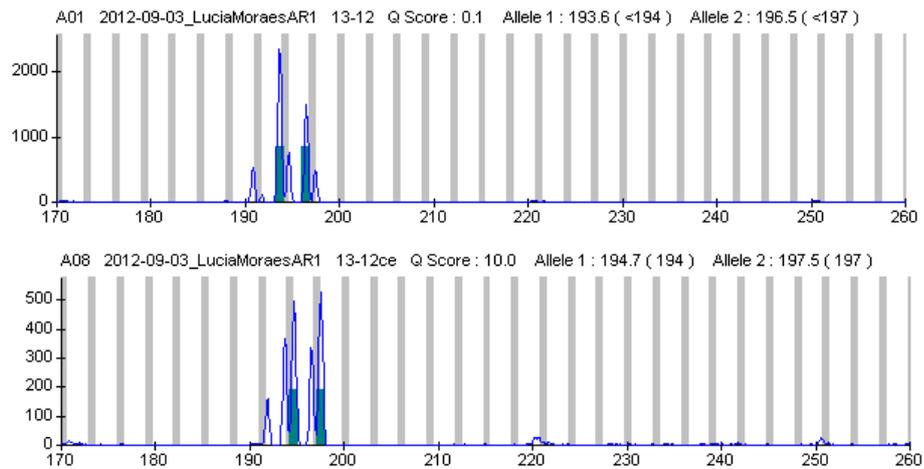


Figura 5: Eletroforese capilar dos produtos de amplificação por PCR para exame de inativação do cromossomo X da mãe da paciente índice, resultados preliminares. O primeiro gráfico evidencia os picos referentes aos amplicons do locus *HUMARA* no antes da digestão por endonuclease de restrição. O segundo gráfico se refere aos amplicons obtidos após a digestão com *HpaII*, ficando o registro apenas da fração de cromossomos X que está inativada, pois a *HpaII* digere apenas os cromossomos X ativos

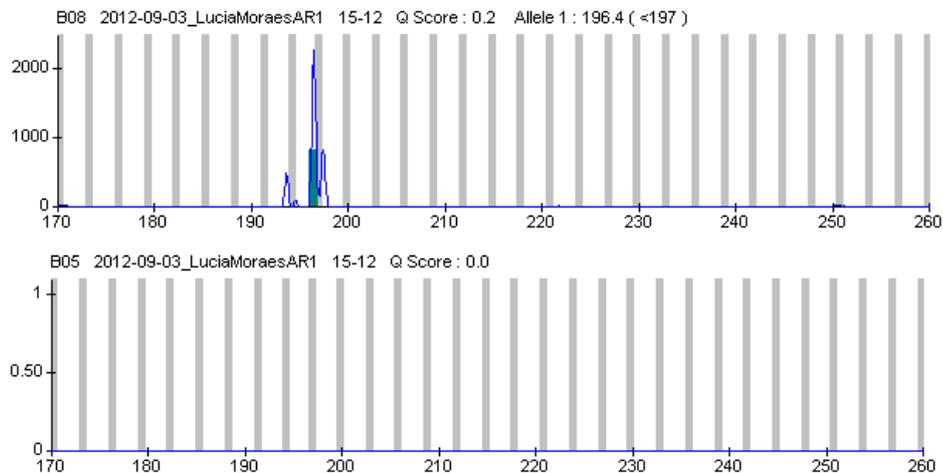


Figura 6: Eletroforese capilar dos produtos de amplificação por PCR para exame de inativação do cromossomo X do pai da meia-irmã da paciente índice, resultados preliminares. O primeiro gráfico representa o cromossomo X antes da digestão e o segundo gráfico é o resultado da inativação após a digestão pela *HpaII*

6 DISCUSSÃO

Esta dissertação descreve caso extremamente raro de menina, com história clínica, exame neurológico, exames de neuroimagem e exame de sangue compatível com X-ALD forma cerebral infantil, sendo este, em nosso entender, o primeiro relato de acometimento deste fenótipo em menina sem história familiar da doença.

As doenças que se deve levar em consideração para o diagnóstico diferencial são doença de Schilder, doença de Krabbe, leucodistrofia metacromática e outras doenças que cursam com o aumento dos ácidos graxos de cadeia muito longa.

Ainda no início da doença da paciente estudada foi aventada a hipótese de ADEM já que naquele momento, a paciente havia sido internada em unidade de terapia intensiva apresentando cefaleia, vômitos incoercíveis e crise convulsiva seguida de coma. Exame de RNM de crânio evidenciava extensa lesão desmielinizante. Desconhecendo a história prévia da paciente, que vinha apresentando quadro progressivo há aproximadamente oito meses, o diagnóstico de ADEM foi aventado.

Após alta hospitalar e iniciado o acompanhamento no Hospital da Lagoa ficou evidente o padrão insidioso de instalação da doença, com início há quase um ano, sendo então descartada a hipótese de ADEM, doença que por sua vez tem evolução benigna e prognóstico muito diferente do apresentado pela paciente do presente estudo, e iniciada investigação de doenças com curso progressivo da infância.

Outra doença aventada ainda no início do quadro da paciente do presente estudo foi a doença de Schilder. A doença de Schilder (DS) consiste em doença desmielinizante rara, de acometimento preferencial em crianças, cujos achados neuroradiológicos podem mimetizar a X-ALD. No entanto, de acordo com os critérios diagnósticos de DS, o diagnóstico só pode ser firmado após a exclusão de X-ALD através de exame de ácidos graxos de cadeia muito longa e função adrenal normais. Além disso, o prognóstico da DS tende a ser favorável após tratamento seja com corticoterapia venosa em altas doses ou com imunoglobulina humana venosa para casos refratários. De acordo com o estudo de Bacigaluppi e colaboradores (2009), em que foram revistos 34 casos da doença, 52% tiveram melhora completa, 26%

ficaram com alguma seqüela, 3% permaneceram estáveis e apenas 3% (1 paciente) tiveram rápida progressão de doença. Sendo assim, avaliando a história da doença da paciente do presente estudo, exame de ácidos graxos de cadeia muito longa alterado e a não resposta ao tratamento com corticoterapia venosa em doses altas e nem mesmo à imunoglobulina humana venosa, o diagnóstico de DS pode ser excluído.

A doença de Krabbe pode ter idade de apresentação semelhante à X-ALD forma cerebral infantil, em se tratando do fenótipo de aparecimento tardio, e apresentação clínica no início da doença também semelhantes, tendo como sintomas mais comuns alterações de marcha e alterações de comportamento. No entanto, no estudo de Duffner e colaboradores (2012), o índice de sobrevida de pacientes com este fenótipo foi 100% em 10 anos, o que difere bastante dos índices de sobrevida encontrados em pacientes com o diagnóstico de X-ALD forma cerebral infantil.

Phelps, Aicardi e Vanier (1991) relataram quatro casos da forma tardia da doença de Krabbe evidenciando a heterogeneidade da doença. Dentre os casos relatados incluíam criança de 8 anos de idade que iniciou quadro com dificuldade de deambulação e alteração de comportamento, com 2 anos de evolução apresentava-se com diplegia, deterioração intelectual importante e neuropatia periférica comprovada por eletroneuromiografia (ENMG). Outros dois casos eram de irmãos, em que mesmo com idade de início dos sintomas, exames de neuroimagem e atividade enzimática semelhantes, apresentaram evolução bem distintas, com o primeiro após 7 anos de evolução estando restrito a cadeira de rodas e com deterioração intelectual evidente e o segundo após 14 anos de evolução apresentando intelecto e vida normais, exame neurológico evidenciando apenas hiperreflexia e discreta alteração de marcha. O quarto e último caso descrito era de menina de 4 anos e nove meses que iniciou quadro com irritabilidade, evoluindo após 3 meses com déficit visual e hiperreflexia. TC de crânio evidenciava hipodensidade bilateral em substância branca adjacente aos cornos occipitais e ventrículos laterais com captação periférica de contraste no esplênio do corpo caloso. Devido a quadro clínico e exame de imagem o diagnóstico diferencial com X-ALD foi considerado. A confirmação diagnóstica foi realizada através de exame de AGCML normal e dosagem enzimática alterada confirmando doença de Krabbe (PHELPS; AICARDI; VANIER, 1991).

Outro estudo que evidencia a importância do diagnóstico diferencial da doença de Krabbe com X-ALD foi realizado por Srinvasan, Coleman e Kornberg (2008). Neste estudo é descrito caso de menino de 5 anos com quadro clínico e exame de neuroimagem compatível com adrenoleucodistrofia ligada ao X. O exame de neuroimagem evidenciava ainda captação pelo contraste em toda a lesão desmielinizante e não apenas em sua periferia (SRINVASAN et al., 2008).

Exames de neuroimagem são de grande auxílio para o diagnóstico diferencial de X-ALD com doença de Krabbe. Apesar de ambos terem acometimento preferencial de substância branca parieto-occipital periventricular, na X-ALD existe característica captação periférica de contraste peri-lesional, enquanto na doença de Krabbe existem apenas esses dois casos relatados na literatura de pacientes cujo exame de neuroimagem havia captação pelo contraste (PHELPS; AICARDI; VANIER, 1991; SRINVASAN et al., 2008). Em ambos os casos o diagnóstico diferencial foi realizado através de dosagem de AGCML que foi normal e medida da atividade da enzima GALC que estava alterada.

Considerando-se uma evolução da doença mais grave, exame de ácidos graxos de cadeia muito longa alterado e exames de neuroimagem com captação pelo contraste característica da X-ALD, o diagnóstico diferencial da paciente do presente estudo pode ser realizado, confirmando-se assim o diagnóstico de X-ALD forma cerebral infantil.

A leucodistrofia metacromática também pode ter idade de início dos sintomas, em se tratando da forma juvenil tardia, e apresentação clínica, semelhantes à X-ALD forma cerebral infantil, tendo como principais sintomas as alterações de comportamento, baixo rendimento escolar e alterações de marcha evoluindo com tetraparesia espástica, no entanto, a evolução da doença tende a ser mais lenta.

Existem ainda importantes diferenças em exame de neuroimagem entre a X-ALD e a leucodistrofia metacromática. Na última não existe captação de contraste nas lesões desmielinizantes e estados avançados da doença cursam com padrão tigróide, o que auxilia no diagnóstico diferencial. Com relação a alterações bioquímicas, a leucodistrofia metacromática não cursa com o aumento de AGCML.

O aumento dos ácidos graxos de cadeia muito longa não é, no entanto alteração patognomônica da X-ALD, existindo outras doenças que cursam com esta alteração, tais como: pseudo ALD neonatal, adrenoleucodistrofia neonatal, doença

de Refsum neonatal, síndrome de Zellweger e deficiência enzimática bifuncional. A pseudo ALD neonatal, adrenoleucodistrofia neonatal e doença de Refsum neonatal são de acometimento neonatal apenas, sendo excluída por esta razão no diagnóstico diferencial referente á paciente estudada. Já a Síndrome de Zellweger e a deficiência enzimática bifuncional cursam com apresentação clínica multissistêmica e muito diferente da X-ALD, facilitando sua exclusão no diagnóstico diferencial.

Após revisão detalhada do caso, levando-se em consideração a história clínica, exame neurológico, exames de neuroimagem, exames de AGCML tanto da paciente como de sua mãe, ambos compatíveis com heterozigose para X-ALD e após a exclusão dos diagnósticos diferenciais possíveis, foi fechado então o diagnóstico de X-ALD forma cerebral infantil em menina do Rio de Janeiro, sem história familiar prévia conhecida para a doença.

O acometimento cerebral em mulheres heterozigóticas é bastante raro, em torno de 2%, sendo que a grande maioria destes casos ocorre em mulheres adultas. A ocorrência em adolescentes é ainda mais rara e em crianças existe, em nosso entender, apenas um caso documentado em literatura. Tal caso foi descrito por Hershkovitz e colaboradores (2002). A criança era menina de 8,5 anos, com história familiar de X-ALD (dois tios com o diagnóstico), que iniciou quadro com distúrbio de comportamento e baixo rendimento escolar. Exame de neuroimagem e AGCML compatíveis com o diagnóstico de X-ALD. O cariótipo era 46XXdel (q27-ter), fazendo desta paciente hemizigótica para X-ALD. Diferente da paciente do presente estudo esta tinha história familiar conhecida para a doença e exame de cariótipo revelou deleção no locus da X-ALD.

Heffungs, Hameister e Ropers (1980) descreveram caso de acometimento cerebral em adolescente de 14 anos com história familiar para X-ALD, cuja explicação para ocorrência do caso foi a inativação preferencial do cromossomo X normal. No entanto este foi mais um relato de paciente com história familiar conhecida para a doença, e de ocorrência em adolescente, diferente da paciente do presente estudo.

No caso relatado no presente estudo, a explicação mais provável para a ocorrência do fenótipo cerebral é a inativação preferencial do cromossomo X favorecendo o X mutado, já que não foram encontradas deleções no locus da X-

ALD, e a possibilidade de homozigose é extremamente remota e nunca descrita na literatura.

De acordo com estudo desenvolvido por Maier e colaboradores (2002), a inativação preferencial do cromossomo X pode ocorrer tanto a favor do X mutado quanto do X normal (MAIER et al., 2002). No entanto, em pacientes heterozigóticas para X-ALD parece haver inativação preferencial do alelo normal, estando então ativo o cromossomo X que carrega o alelo mutado (MIGEON et al., 1981).

Após a confirmação do diagnóstico de X-ALD forma cerebral infantil em menina, partimos para investigação em seus familiares diretos (mãe e meia-irmã) através de exame clínico, exame de ácidos graxos de cadeia muito longa e exame de inativação do cromossomo X.

A mãe, assintomática, demonstrou exame clínico normal e exame de AGCML compatível com heterozigose para X-ALD. Exame de inativação do cromossomo X revelou padrão aleatório de inativação.

Já a meia-irmã da paciente índice, de 6 anos de idade, também assintomática até a conclusão deste estudo, apresentou exame clínico e exame de AGCML normais, o que não exclui estado de heterozigose. O exame de inativação do cromossomo X revelou inativação preferencial favorecendo o cromossomo X paterno, que possivelmente não carrega a mutação. Nossos resultados preliminares apontam para uma alteração genética em um dos cromossomos X maternos, e que nesta meia-irmã da paciente índice o cromossomo X materno mutado foi preferencialmente inativado, fazendo com que ela permaneça assintomática.

O acometimento do fenótipo cerebral infantil em meninas heterozigóticas é, portanto pouco conhecido e pouco estudado, dificultando o diagnóstico precoce, condição obrigatória para que sejam oferecidas possibilidades terapêuticas.

A paciente do caso relatado foi diagnosticada em fase avançada da doença, não sendo mais possível a indicação de tratamentos que não paliativos.

O maior conhecimento da doença e a implementação de técnicas de rastreio diagnóstico neonatal, já possíveis em alguns países (HUBBARD et al., 2009), seriam de grande valia para o diagnóstico precoce da X-ALD, principalmente em pacientes que não tem história familiar da doença, possibilitando assim melhores prognósticos para estes pacientes.

A partir do diagnóstico de X-ALD em um determinado paciente, deve ser realizado o rastreio dos familiares diretos a fim de serem detectados novos casos de

doença e possíveis estados de heterozigose, como ficou evidenciado na mãe da paciente do presente estudo, e permitir o tratamento precoce e o aconselhamento genético quando indicado. A investigação deve partir da história clínica e história familiar, seguida por exame clínico, exame de neuroimagem e exame de ácidos graxos de cadeia muito longa. Caso exista história familiar de paciente masculino com o diagnóstico da doença, o teste de imunocitoquímica para avaliação da expressão do ALDP pode ser realizado neste e posteriormente em pacientes heterozigóticas. Segue-se então para análise de cariótipo. Caso o cariótipo seja normal deve-se buscar por microdeleções no cromossomo X com marcadores de DNA específicos para o locus da X-ALD. A conclusão da investigação é realizada com o exame genético a fim de detectar a mutação que deu origem à doença na família afetada.

O próximo passo do trabalho será a conclusão do exame genético por meio de sequenciamento dos alelos em questão da mãe da paciente índice, sabidamente heterozigótica, e posteriormente da meia-irmã da paciente índice, a fim de se investigar a mutação que deu origem à doença nesta família e possibilitar a partir daí, o aconselhamento genético caso este resultado venha positivo.

Este estudo teve como limitações a não realização da investigação completa da paciente índice em vida.

A força deste estudo consiste na raridade do caso, avaliação da mãe e meia-irmã da paciente índice e investigação adicional do pai da meia-irmã da paciente índice possibilitando o exame de inativação do cromossomo X na mesma.

7 CONCLUSÕES

A paciente do presente estudo apresenta quadro clínico, evolução, exames de AGCML e exames de neuroimagem compatíveis com X-ALD, sendo este caso o primeiro caso, em nosso entendimento, de menina com X-ALD forma cerebral infantil sem história familiar da doença.

A investigação de seus familiares diretos evidenciou que a mãe a paciente índice, assintomática e com exame neurológico normal, era heterozigótica para a doença, apresentando exame de AGCML alterado. Exame de inativação do cromossomo X da mesma sugeriu padrão aleatório de inativação. Já a meia-irmã da paciente índice, também assintomática, apresentou exame neurológico e exame de ACGML normais, o que não exclui estado de heterozigose. Exame de inativação do cromossomo X sugeriu inativação preferencial do cromossomo X materno.

REFERÊNCIAS

- AUBOURG, P.; BLANCHE, S.; JAMBAQUÉ, I.; ROCCHICCIOLI, F.; KALIFA, G.; NAUD-SAUDREAU, C.; ROLLAND, M.O.; DEBRÉ, M.; CHAUSSAIN, J.L.; GRISCELLI, C.; FISCHER, A.; BOUGNÈRES, P.F. Reversal of early neurologic and neuroradiologic manifestations of X-linked adrenoleukodystrophy by bone marrow transplantation. *N Engl J Med.*, [S.I.], v. 322, p.1860-1866, 1990.
- BACIGALUPPI, S.; POLONARA, G.; ZAVANONE, M.L.; CAMPANELLA, R.; BRANCA, V.; GAINI, S.M.; TREDICI, G.; COSTA, A. Schilder's disease: non-invasive diagnosis? A case report and review. *Neurol Sci.*, [S.I.], v. 30, p. 421-430, 2009.
- BARONE, R.; BRÜHI, K.; STOETER, P.; FIUMARA, A.; PAVONE, L.; BECK, M. Clinical and Neuroradiological Findings in Classic Infantile and Late-Onset Globoid-Cell Leukodystrophy (Krabbe Disease). *Am J Med Genet.*, [S.I.], v. 63 p. 209-217, 1996.
- BERGER, J.; MOLZER, B.; FAÉ, I.; BERNHEIMER, H. X-linked adrenoleukodystrophy (ALD): a novel mutation of the ALD gene in 6 members of a family presenting with 5 different phenotypes. *Biochem Biophys Res Commun.*, [S.I.], v. 205, p. 1638-1643, 1994.
- BERGER, J.; GARRTNER, J. X-linked adrenoleukodystrophy: Clinical, biochemical and pathogenic aspects. *Bioch Bioph Acta.*, [S.I.], 1763, p. 1721-1732, 2006.
- BEZMAN, L.; MOSER A.B.; RAYMOND G.V.; RINALDO P.; WATKINS P.A.; SMITH K.D.; KASS N.E.; MOSER H.W. Adrenoleukodystrophy: incidence, new mutation rate, and results of extended family screening. *Ann Neurol.*, [S.I.], v. 49, p. 512-517, 2001.
- DAVIS, L.E.; BOOSS, J.; Acute Disseminated Encephalomyelitis in Children: a Changing Picture. *Concise Reviews of Pediatric Infectious Diseases*, [S.I.], p. 829-831, 2003.
- DELABESSE, E.; ARAL, S.; KAMOUN, P.; VARET, B.; TURHAN, A.G. Quantitative non-radioactive clonality analysis of human leukemic cells and progenitors using the human androgen receptor (AR) gene. *Leukemia*, [S.I.], v. 9, n. 9, p. 1578-82, 1995.

DUFFNER, P.K.; BARCZYKOWSKI, A.; KAY, D.M.; JALAL, K.; YAN, L.; ABDELHALIM, A.; GILL, S.; GILL, A.L.; CARTER, R. Later Onset Phenotypes of Krabbe Disease: Results of the World-Wide Registry. *Pediatr Neurol.*, [S.I.], v. 46, p. 298-306, 2012.

EICHLER, F.S.; BARKER, P.B.; DPHIL; COX, C.; EDWIN, D.; ULUG, A.M.; MOSER, H.M.; RAYMOND, G.V. Proton MR spectroscopic imaging predicts progression on MRI in X-linked adrenoleukodystrophy. *Neurology* [S.I.], v. 58, p. 901-907, 2002.

EICHLER, F., GRODD, W., GRANT, E., SESSA, M., BIFFI, A., BLEY, A., KOHLSCHUETTER, A., LOES, D.J., KRAEGELOH-MANN, L.; Metachromatic Leukodystrophy: A Scoring System for Brain MR Imaging Observations. *Am J Neuroradiol.*, [S.I.], v. 30, p. 1893-1897, 2009.

FATEMI, A.; BARKER, P.B.; ULUG, A.M.; NAGAE-POETSCHER, L.M.; BEAUCHAMP, N.J.; MOSER, A.B.; RAYMOND, G.V.; MOSER, H.W.; NAIDU, S. MRI and proton MRSI in women heterozygous for X-linked adrenoleukodystrophy. *Neurology*, [S.I.], v. 60, p 1301-1307, 2003.

HEFFUNGS, W.; HAMEISTER, H.; ROPERS, H.H. Addison disease and cerebral sclerosis in an apparently heterozygous girl: evidence for inactivation of the adrenoleukodystrophy locus. *Clin Genet.*, [S.I.], v. 18, p. 184-188, 1980.

HERSHKOVITZ, E.; NARKIS, G.; SHORER, Z.; MOSER, A.B.; WATKINS, P.A.; MOSER, H.W.; MANOR, E. Cerebral X-Linked Adrenoleukodystrophy in a Girl with Xq27-Ter Deletion. *Ann Neurol.*, [S.I.], v. 52, p. 234-237, 2002.

HUBBARD, W.C.; MOSER, A.B.; LIU, A.C.; JONES, R.O.; STEINBERG, S.J.; LOREY, F.; PANNY, S.R.; VOGT JR., R.F; MACAYA, D.; et al. Newborn screening for X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD): validation of a combined liquid chromatography-tandem mass spectrometric (LC-MS/MS) method. *Molec Genet Metab.*, [S.I.] v. 97, p.212-220, 2009.

JANGOUK, P.; ZACKOWSKI, K.M.; NAIDU, S.; RAYMOND, G.V. Adrenoleukodystrophy in female heterozygotes: Underrecognized and undertreated. *Molec Genet Metab.*, [S.I.], v. 105, p. 180-185, 2012.

JUNG, H.H.; WIMPLINGER, I.; JUNG, S.; LANDAU, K.; GAL, A.; HEPPNER, F.L. Phenotypes of female adrenoleukodystrophy. *Neurology*, [S.I.], v. 68, p. 960, 2007.

KRAUS, D.; KONEN, O.; STRAUSSBERG, R. Schilder's disease: Non-invasive and successful treatment with human immunoglobulins. *European Journal of Paediatric Neurology*, [S.I.], v. 16, p. 206-208, 2012.

KRUPP, L.B.; BANWELL, B.; TENEMBAUM, S. Consensus definitions proposed for pediatric multiple sclerosis and related disorders. *Neurology*, [S.I.], v. 68, n. Suppl. 2, p. S7-S12, 2007.

KURUL, S.; CAKMAKÇI, H.; DIRIK, E.; KOVANLIKAYA, A. Schilder's disease: Case study with serial neuroimaging. *J Child Neurol.*, [S.I.], v. 18, n. 1, p. 58-61, 2003.

LAN, F.; WANG, Z.; KE, L.; XIE, H.; HUANG, L.; HUANG, H.; TU, X.; ZHENG, D.; ZENG, J.; LI, H.; XIN, N.; YANG, B. A rapid and sensitive protocol for prenatal molecular diagnosis of X-linked adrenoleukodystrophy. *Clinica Chimica Acta*, [S.I.], v. 411, p. 1992-1997, 2010.

LOES, D.J.; FATEMI, A.; MELHEM, E.R.; GUPTA, N.; BEZMAN, L.; MOSER, H.W.; RAYMOND, G.V. Analysis of MRI patterns aids prediction of progression in X-linked adrenoleukodystrophy. *Neurology*, [S.I.], v. 61, p. 369-374, 2003.

LOES, D.J.; HITE, S.; MOSER, H.; STILLMAN, A.E.; SHAPIRO, E.; LOCKMAN, L.; LATCHAW, R.E.; KRIVIT, W. Adrenoleukodystrophy: a scoring method for brain MR observations. *AM J Neuroradiol.*, [S.I.], v. 15, p. 1761-1766, 1994.

LOES, D.J.; PETERS, C.; KRIVIT, W. Globoid Cell Leukodystrophy: Distinguishing Early-Onset from Late-Onset Disease Using a Brain MR Imaging Scoring Method. *AJNR AM J Neuroradiol.*, [S.I.], v. 20, p. 316-323, 1999.

LYON, G.; HAGBERG, B.; EVRARD P.; ALLAIRE, L.; VANIER, M. Symptomatology of Late Onset Krabbe's Leukodystrophy: The European Experience. *Dev Neurosci.*, [S.I.], v. 13, p. 240-244, 1991.

MAHMOOD A.; DUBEY P.; MOSER H.W.; MOSER A. X-linked adrenoleukodystrophy: Therapeutic approaches to distinct phenotypes. *Pediatr Transplantation.*, [S.I.], v. 9, n. Suppl. 7, p. 55-62, 2005.

MAHMOOD, A.; BERRY, J.; WENGER, D.A.; ESCOLAR, M.; SOBEIH, M.; RAYMOND, G.; EICHLER, F.S. Metachromatic Leukodystrophy: A case of Triplets With the Late Infantile Variant and a Systematic Review of the Literature. *J Child Neurol.*, [S.I.], v. 25, p. 572-580, 2009.

MAIER, E.M.; KAMMERER, S.; MUNTAU, A.C.; WICHERS, S.; BRAUN, A.; ROSCHER, A.A. Symptoms in carriers of adrenoleukodystrophy relate to skewed X inactivation. *Ann Neurol.*, [S.I.], v. 52, n. 5, p. 683-688, 2002.

MAIER, E.M.; ROSCHER, A.A.; KAMMERER, S.; MEHNERT, K.; CONZELMANN, E.; HOLZINGER, A. Prenatal Diagnosis of X-linked Adrenoleukodystrophy Combining Biochemical, Immunocytochemical and DNA Analyses. *Prenat. Diagn.*, [S.I.], v. 19, p. 364-368, 1999.

MASDEU, J.C.; QUINTO, C.; OLIVEIRA, C.; TENNER, M.; LESLIE, D.; VISINTAINER, P. Open-ring imaging sign: Highly specific for atypical brain demyelination. *Neurology*, [S.I.], v. 57, n. 7, p. 1427-1433, 2000.

MATSUMURO, K.; KURIYAMA, M.; YOSHIDA, Y.; OKATSU, M.; OSAME, M. Symptomatic adrenoleukodystrophy heterozygote with fluctuated neurological symptoms - a case report. *Rinsho Shinkeigaku*, [S.I.], v. 31, p. 872-874, 1991.

MELHEM, E.R.; LOES, D.J.; GEORGIADES, C.S.; RAYMOND, G.V.; MOSER, H.W. X-linked Adrenoleukodystrophy: The Role of Contrast-enhanced MR Imaging Predicting Disease Progression. *AJNR Am J Neuroradiol.*, [S.I.], v. 21, p. 839-844, 2000.

MIGEON, B.R.; MOSER, H.W.; MOSER, A.B.; AXELMAN, J.; SILLENCE, D.; NORUM, R.A. Adrenoleukodystrophy: Evidence for X linkage, inactivation, and selection favoring the mutant allele in heterozygous cells. *Proc Natl Acad Sci. USA*, [S.I.], v. 78, n. 8, p. 5066-5070, 1981.

MOSER, A.B.; KREITER, N.; BEZMAN, L.; LU, S-E.; RAYMOND, G.V.; NAIDU, S.; MOSER, H.W. Plasma very long chain fatty acids in 3,000 peroxisome disease patients and 29,000 controls. *Ann Neurol.*, [S.I.], v. 45, p. 100-110, 1999.

MOSER, H.W. Therapy of X-linked Adrenoleukodystrophy. *The Journal of the American Society for experimental Neurotherapeutics*, [S.I.], v. 3, p. 246-253, 2006.

MOSER, H.W.; LOES D.J.; MELHEM, E.R.; RAYMOND, G.V.; BEZMAN, L.; COX, C.S; SHOU-EN LU. X-Linked Adrenoleukodystrophy: Overview and Prognosis as a Function of Age and Brain Magnetic Resonance Imaging Abnormality. A Study Involving 372 Patients. *Neuropediatrics*, [S.I.], v. 31, p. 227-239, 2000.

MOSER, H.W.; MAHMOOD, A.; RAYMOND, G.V. X-Linked adrenoleukodystrophy. *Nat Clin Pract Neurol.*, [S.I.], v. 3, p.140-151, 2007.

MOSER, H.W.; RAYMOND, G.V.; SHOU-EN LU; MUENZ, L.R.; MOSER, A.B.; XU, J.; JONES, R.O.; LOES, D.J.; MELHEM, E.R.; DUBEY, P.; BEZMAN, L.; BRERETON, N.H.; ODONE, A. Follow-up of 89 asymptomatic patients with adrenoleukodystrophy treated with Lorenzo's Oil. *Arch Neurol.*, [S.I.], v. 62, n. 7, p. 1073-1080, 2005.

MOSSER, J.; LUTZ, Y.; STOECKEL, W.E.; SARDE, C.O.; KRETZ, C.; DOUAR, A.M.; LOPEZ, J.; AUBOURG, P.; MANDEL, J.L. The gene responsible for adrenoleukodystrophy encodes a peroxisomal membrane protein. *Hum Mol Genet.*, [S.I.], v. 3, n. 2, p. 265-271, 1994.

PETERS, C.; CHARNAS, L.R.; TAN, Y.; ZIEGLER, R.S.; SHAPIRO, E.A.; TODD DEFOR; GREWALL, S.S.; ORCHARD, P.J.; ABEL, S.L.; et al. Cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: The international hematopoietic cell transplantation experience from 1982 to 1999. *Blood*, [S.I.], v. 104, p. 881-888, 2004.

PHELPS, M.; AICARDI, J.; VANIER, M.T. Late onset Krabbe's leukodystrophy: a report of four cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, [S.I.], v. 54, p. 293-296, 1991.

POSER, C.M.; GOUTIÈRES, F.; CARPENTIER, M.A.; AICARD, J. Schilder's myelinoclastic diffuse sclerosis. *Pediatrics*, [S.I.], v. 77, n. 1, p. 107-112, 1986.

RAUSCHKA, H.; COLSCH, B.; BAUMANN, N.; WEVERS, R.; SCHMIDBAUER, M.; KRAMMER, M.; TURPIN, J.-C.; LEFEVRE, M.; OLIVIER, C.; et al. Late-onset Metachromatic Leukodystrophy: Genotype Strongly Influences Phenotype. *Neurology*, [S.I.], v. 67, p. 859-863, 2006.

RIVA, D.; CHIAPPARINI, L.; POLLO, B.; BALESTRINI, M.R.; MASSIMINO, M.; MILANI, N. A case of pediatric tumefactive demyelinating lesion misdiagnosed and treated as glioblastoma. *J Child Neurol.*, [S.I.], v. 23, n. 8, p. 944-947, 2008.

SANO, T.S. Doença de Krabbe: a importância do diagnóstico precoce para seu prognóstico. *Einstein*, [S.I.], v.10, n. 2, p. 233-235, 2012.

SHAPIRO, E.; KRIVIT, W.; LOCKMAN, L.; JAMBAQUÉ, I.; PETERS, C.; COWAN, M.; HARRIS, R.; BLANCHE, S.; BORDIGONI, P.; LOES, D.; ZIEGLER, R.; CRITTENDEN, M.; RIS, D.; BERG, B.; COX, C.; et al. Long-term effect of bone-marrow transplantation for childhood-onset cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *Lancet*, [S.I.], v. 356, p. 713-718, 2000.

SRINIVASAN, J.; COLEMAN, L.; KORNBERG, A.J. Juvenile Onset Globoid Leukodystrophy Masquerading as XL-adrenoleukodystrophy. *Journal of Pediatric and Child Health*, [S.I.], v. 44, p. 459-461, 2008.

VON-FIGURA, K.; GIESELMANN, V.; JAEKEN, J. Metachromatic leucodystrophy. *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*. 8^a Ed. New York: Editora McGraw-Hill; 2001, p. 3695-3724.

WENGER, D.A.; RAFI, M.A.; LUZI, P.; DATTO, J.; COSTANTINO-CECCARINI, E. Krabbe Disease: Genetic Aspects and Progress Toward Therapy. *Mol Genet Metab.*, [S.I.], v. 70, p. 1-9, 2000.

YILMAZ, Y.; KOCAMAN, C.; KARABAGLI, H.; OZEK, M. Is the brain biopsy obligatory or not for the diagnosis of Schilder's disease? Review of literature. *Childs Nerv Syst.*, [S.I.], v. 24, p. 3-6, 2008.

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa: ADRENOLEUCODISTROFIA LIGADA AO X FORMA CEREBRAL INFANTIL: ESTUDO DE CASO

I- INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Adrenoleucodistrofia é uma doença desmielinizante, peroxissômica, genética, com herança ligada ao X, causada por mutação no gene ABCD1. A doença pode se manifestar em diferentes fenótipos, sendo o fenótipo cerebral infantil o mais grave deles. Na mulheres a ocorrência deste fenótipo é extremamente raro e pouco estudado. Esta pesquisa visa o estudo de caso de adrenoleucodistrofia forma cerebral infantil em menina do Rio de Janeiro, bem como o estudo de seus familiares diretos a fim de melhor compreender o acometimento de tal fenótipo em meninas e diagnosticar novos casos de doença e/ou casos de heterozigose em seus familiares diretos, permitindo assim a indicação de tratamento de forma precoce e o aconselhamento genético quando indicado.

II- PROCEDIMENTOS

Os pacientes, familiares da paciente índice, serão submetidos a exame clínico detalhado. Amostras de sangue serão coletadas dos pacientes para realização de exame de ácidos graxos de cadeia muito longa, cariótipo e exame de inativação do cromossomo X. Posteriormente, conforme os resultados, será realizada análise genética através de técnica de seqüenciamento bi-direcional para determinação da mutação causadora da doença nesta família.

III- DESCONFORTOS, RISCOS E BENEFÍCIOS

O desconforto inerente ao estudo consiste nas coletas de sangue que deverão ser feitas para definir diagnóstico. Os riscos decorrem da necessidade de repetir um ou mais exames caso os resultados obtidos não sejam conclusivos. Benefícios, uma vez estabelecido o diagnóstico os pacientes terão acompanhamento neurológico a fim de permitir a indicação de tratamentos precoces

quando indicados, e aconselhamento genético com a finalidade de prevenir novos casos da doença na família afetada.

IV- ESCLARECIMENTOS

Todas as informações serão comunicadas, assim como quaisquer dúvidas serão esclarecidas aos participantes do estudo por mim, Dra Patrícia Brandão Reche, médica, neurologista, pelo telefone (031) 8810-1248.

Se houver alguma dúvida sobre a ética da pesquisa, deve-se entrar em contato com a Comissão de Ética do HUGG (2264-5517)

V- INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

A autorização de participação no estudo pode ser retirada a qualquer momento, sem prejuízo do paciente com relação aos exames realizados e/ou obtenção de resultados. Toda informação a respeito do participante e seus exames será mantida em sigilo com o intuito de preservar a privacidade do mesmo. As informações serão fornecidas de maneira atualizada, visando um maior esclarecimento dos familiares e até uma eventual mudança de opinião em continuar ou não participando do projeto.

VI- FORMAS DE RESSARCIMENTO

Você não será pago (a) nem mesmo receberá nenhum tipo de ajuda financeira para participar deste estudo. Não ha nenhum custo (gasto) para você por qualquer exame realizado neste estudo.

VII- COMPROMISSOS

O pesquisador responsável se compromete a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa e publicações científicas decorrentes da mesma.

Sua assinatura indica que você leu e entendeu as informações descritas neste formulário, que você teve a oportunidade de tirar suas dúvidas, e que concorda espontaneamente em participar deste estudo de pesquisa

Você confirma o recebimento de uma copia deste formulário no momento de sua assinatura ou de seu representante legal aqui colocado.

Rio de Janeiro

Nome da paciente em letra de forma:

Endereço:

Telefone:

Assinatura do paciente:

Nome do responsável legal ou representante legal:

Assinatura do responsável ou representante legal:

Nome do pesquisador em letra de forma: Patrícia Brandao Reche

Assinatura do pesquisador:

ANEXO A - Escala de Loes

Tabela: Escala de LOES

- Substância Branca Parieto-occipital (Maximo 4)
- Substância Branca Temporal Anterior (Maximo 4)
- Substância Branca Frontal (Maximo 4)
 - Periventricular
 - Central
 - Subcortical
 - Atrofia Local
- Corpo Caloso (Maximo 5)
 - Esplênio
 - Corpo
 - Genu
 - Atrofia do esplênio
 - Atrofia Genu
- Via óptica (Maximo 4)
 - Radiação
 - Alça de Meyer
 - Corpo geniculado lateral
 - Tracto óptico
- Via auditiva (Maximo 4)
 - Corpo geniculado medial
 - Braço do colículo inferior
 - Lemnisco lateral
 - Ponte
- Fibras de projeção (Maximo 2)
 - Cápsula Interna
 - Tronco cerebral
- Cerebelo (Maximo 2)
 - Substância Branca
 - Atrofia
- Núcleos da base (Maximo 1)
- Atrofia Global (Maximo 4)
 - Leve
 - Moderada
 - Severa
 - Tronco cerebral

Esta escala foi desenvolvida especificamente para X-ALD e demonstra correlação com a gravidade dos déficits neurológicos além de ser preditiva de progressão de doença. Diferentes regiões cerebrais são analisadas. Cada área é pontuada como 0 se normal, 0,5 se envolvimento unilateral e 1 se lesão ou atrofia for bilateral. A pontuação máxima da escala é de 34; uma pontuação acima de 1 é considerada anormal.

$< 0,5$ = normal

1 a 3 = anormalidade leve a moderada

> 3 = anormalidade severa