

Fernando Freua

**Investigação clínica e genética das paraplegias
espásticas hereditárias**

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

Programa de Neurologia

Orientador: Prof. Dr. Fernando Kok

**São Paulo
2022**



Fernando Freua

**Investigação clínica e genética das paraplegias
espásticas hereditárias**

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

Programa de Neurologia

Orientador: Prof. Dr. Fernando Kok

**São Paulo
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Freua, Fernando
Investigação clínica e genética das paraplegias
espásticas hereditárias / Fernando Freua. -- São
Paulo, 2022.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Neurologia.
Orientador: Fernando Kok.

Descritores: 1.Paraparesia espástica 2.Genética
3.Neurologia 4.Neurogenética 5.Aspectos clínicos
6.Paraplegia espástica hereditária

USP/FM/DBD-023/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Para a minha amada esposa ***Karina Freua*** que verdadeiramente sempre acreditou em mim. Pelo seu carinho e incentivo: Obrigado!

Agradecimentos

Agradeço ao meu amigo e orientador **Prof. Dr. Fernando Kok** por todo suporte, incentivo e paciência e, principalmente, pelos inestimáveis ensinamentos tanto na medicina quanto para a vida. Você é um grande exemplo de ser humano!

Agradeço à **Prof^a. Dr^a. Lucia Ines Macedo Souza** pela inestimável ajuda nos momentos mais críticos, pelos seus ensinamentos em genética molecular e pela sua presença ativa na tese. Obrigado por tudo.

Agradeço ao meu tutor, que me ensinou a dar os primeiros passos na neurologia, **Dr. Getúlio Daré Rabello** (*in memoriam*). Seus ensinamentos estão fixados na minha mente.

Agradeço aos meus colegas do **Ambulatório de Neurogenética**, a todos os colaboradores que direta ou indiretamente ajudaram a conduzir esse projeto.

Agradeço ao **Dr. Anderson Rodrigues Brandão de Paiva** pela inestimável ajuda na condução desta pesquisa, por ter sido a porta de abertura de nosso acordo com Londres e, também, pelos bons momentos de risada.

Agradeço ao grupo de Neurogenética da Universidade de Londres, em nome do seu chefe, **Prof. Henry Houlden** e também do **Dr. David Lynch** que tanto ajudou na condução deste estudo.

Agradeço aos **pacientes** que, de forma altruísta, ofereceram parte de si próprio em prol desta pesquisa.

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

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

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

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

Sumário

Lista de Abreviaturas	
Lista de Figuras	
Lista de Tabelas	
Resumo	
Abstract	
1	Introdução 1
2	Objetivos
	2.1 Objetivo Primário..... 4
	2.2 Objetivos secundários..... 4
3	Revisão da Literatura
	3.1 Histórico..... 5
	3.2 Epidemiologia..... 6
	3.3 Bases moleculares das doenças genéticas..... 7
	3.4 Fisiopatologia..... 9
	3.5 HSPs conforme padrão de herança
	3.5.1 HSPs autossômicas dominantes (HSP-AD)..... 14
	3.5.2 HSPs autossômicas recessivas (HSP-AR)..... 14
	3.5.3 HSPs ligadas ao X (HSP-X)..... 15
	3.5.4 HSPs com herança mitocondrial..... 15
	3.6 HSPs que foram identificadas nesta investigação
	3.6.1 <i>SPAST/SPG4</i> (Spastic paraplegia 4, AD, OMIM # 182601)..... 15
	3.6.2 <i>SPG11/SPG11</i> (Spastic paraplegia 11, AR, OMIM # 604360)..... 16
	3.6.3 <i>SPG7/SPG7</i> (Spastic paraplegia 7, AR, OMIM # 607259)..... 17
	3.6.4 <i>CYP7B1/SPG5A</i> (Spastic paraplegia 5A, AR, OMIM # 270800)..... 18
	3.6.5 <i>ZFYVE26/SPG15</i> (Spastic paraplegia 15, AR, OMIM # 270700)..... 18
	3.6.6 <i>PLP1/SPG2</i> (Spastic paraplegia 2, X-linked, OMIM # 312920)..... 19
	3.6.7 <i>CAPN1/SPG76</i> (Spastic paraplegia 76, AR, OMIM # 616907)..... 19
	3.6.8 <i>ATP13A2/SPG78</i> (Spastic paraplegia 78, AR, OMIM # 617225)..... 20
	3.6.9 <i>AAAS/Triplo A</i> (Achalasia-addisonianism-alacrimia syndrome, AR, OMIM # 231550)..... 20
	3.6.10 <i>KLC2/SPOAN</i> (Spastic paraplegia, optic atrophy, and neuropathy, AR, OMIM # 609541)..... 21

3.6.11	ARG1/Argininemia (Argininemia, AR, OMIM # 207800).....	22
3.6.12	CYP27A1/Xantomatose cerebrotendínea (Cerebrotendinous xanthomatosis, AR, OMIM # 213700).....	23
3.6.13	EIF2B2/Leucoencefalopatia com substância branca evanescente (Leukoencephalopathy with vanishing white matter, AR, OMIM # 603896).....	25
3.6.14	SQSTM1 (Sequestosome 1, OMIM # 601530).....	26
4	Métodos	
4.1	Desenho do estudo.....	27
4.2	Local do estudo.....	27
4.3	Amostra	
4.3.1	Critérios de inclusão.....	27
4.3.2	Critérios de exclusão.....	28
4.4	Procedimentos de investigação	
4.4.1	Avaliação Clínica.....	29
4.4.2	Avaliação Laboratorial.....	29
4.4.3	Avaliação Neurofisiológica.....	30
4.4.4	Avaliação de neuroimagem por ressonância magnética.....	32
4.5	Aspectos éticos.....	32
4.6	Análise estatística.....	33
5	Resultados	34
6	Discussão	57
7	Conclusões	64
8	Anexos	66
9	Referências	83

Lista de Abreviaturas

AAA	ATPase Associada a diversas Atividades celulares
AD	Autossômico Dominante
ADNPM	Atraso do desenvolvimento neuropsicomotor
ALS	<i>Amyotrophic Lateral Sclerosis</i> . Esclerose lateral amiotrófica
AR	Autossômico Recessivo
CMT	Doença de <i>Charcot-Marie-Tooth</i>
CNV	<i>Copy Number Variation</i> – Variação do número de cópias
CTX	Xantomatose cerebrotendínea
DNM	Doença do neurônio motor
EEG	Eletroencefalograma
ENMG	Eletroneuromiografia
HSP	<i>Hereditary Spastic Paraplegia</i> . Paraplegias espásticas hereditárias
LCR	Líquido cefaloraquiano
NBIA	<i>Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation</i> – Neurodegeneração com acúmulo cerebral de ferro
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i> . Sequenciamento de nova geração
OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
PMD	<i>Pelizaeus-Merzbacher Disease</i> – Doença de Pelizaeus-Merzbacher
RE	Reticulo endoplasmático
RM	Ressonância Magnética
SPG	<i>Spastic Gait</i> . Marcha espástica
SPOAN	<i>Spastic paraplegia, Optic atrophy and Neuropathy</i> – Paraplegia espástica, atrofia óptica e neuropatia
SPRS	<i>Spastic Paraplegia Rating Scale</i>
VWMD	Doença com substância branca evanescente
WES	Whole Exome Sequencing (Sequenciamento completo do exoma)
WGS	<i>Whole Genome Sequencing</i> (Sequenciamento completo do genoma)
XLD	Ligado ao X Dominante
XLR	Ligado ao X Recessivo

Lista de Figuras

Figura 1	Principais mecanismos patológicos celulares nas HSP com os respectivos principais genes.....	11
Figura 2	Fluxograma de inclusão de pacientes no estudo.....	35
Figura 3	Genes identificados na amostra.....	38
Figura 4	Última SPRS (média e IC 95%) segundo a presença de corpo caloso afilado.....	45
Figura 5	Sinal da "orelha de lince" e corpo caloso afilado (setas) em paciente com SPG11 confirmada neste estudo.....	46
Figura 6	Ressonância magnética de encéfalo (sequência FLAIR) de paciente deste estudo com diagnóstico de SPG5A, evidenciando as alterações de substância branca periventriculares, comumente confundidas com lesões de substrato desmielinizantes.....	47
Figura 7	Ressonância magnética de encéfalo (sequencia FLAIR) de paciente com diagnóstico molecular de Síndrome de Kuffor-Rakeb (SPG78) evidenciando atrofia do globo pálido externo e interno.....	47
Figura 8	Ressonância magnética de encéfalo (sequência FLAIR) de paciente deste estudo com diagnóstico de SPG2, evidenciando leucopatia periventricular bilateral simétrica, achado de imagem comumente encontrado.....	48

Lista de Tabelas

Tabela 1	Características clínicas da amostra.....	37
Tabela 2	Características sociodemográficas da amostra (N = 39).....	40
Tabela 3	SPRS segundo características selecionadas.....	41
Tabela 4	Anormalidades em ressonâncias magnéticas dos pacientes.....	43
Tabela 5	Características genéticas da amostra (N = 39).....	44
Tabela 6	Variantes patogênicas da amostra.....	45
Tabela 7	SPRS estratificada pela presença de corpo caloso afilado..	45
Tabela 8	SPRS categorizado estratificado pela presença de corpo caloso afilado.....	45
Tabela 9	Resumo dos achados clínicos.....	53
Tabela 10	Resumo dos achados moleculares	55

Resumo

Freua F. *Investigação clínica e genética das paraplegias espásticas hereditárias* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

O presente estudo realizou análise retrospectiva e parcialmente prospectiva de pacientes com diagnóstico de paraplegia espástica hereditária que são acompanhados no ambulatório de Neurogenética (NCL6500) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Apresenta como objetivo principal descrever os aspectos clínicos, genéticos, laboratoriais, de neuroimagem e eletrofisiológicos destes pacientes e como objetivo secundário visa identificar características no exame clínico, nos estudos laboratoriais e eletrofisiológicos e nas diferentes técnicas de neuroimagem, além de dados epidemiológicos, que contribuam para a definição etiológica, além de relacionar achados clínicos e laboratoriais com possíveis padrões genéticos. Os pacientes incluídos foram avaliados clinicamente por meio da versão brasileira da escala SPRS (*Spastic Paraplegia Rating Scale*) e também com avaliação cognitiva através do mini-exame do estado mental (quando aplicável) e submetidos a estudo de ressonância magnética de encéfalo e eletrofisiológicos (quando aplicáveis), além da realização da investigação genética com técnicas diversas, inclusive por meio do sequenciamento completo do exoma. Entre os 70 sujeitos incluídos na pesquisa, o estudo genético foi conclusivo em 39. Nos casos confirmados foi realizada a descrição clínica e sociodemográfica detalhada e realizado comparação entre os resultados por meio de análise estatística descritiva. Foi realizada ainda análise estatística inferencial que revelou relação entre achado de neuroimagem de corpo caloso afilado com gravidade da escala SPRS. Conclui-se por este estudo que a apresentação demográfica dos pacientes com paraplegia espástica hereditária é fenotípica e geneticamente variável, sendo o padrão autossômico recessivo o mais encontrado nesta amostra, com destaque para *SPG11*. Identificamos ainda casos habitualmente não classificados entre as paraplegias espásticas hereditárias, tais como a deficiência de arginase ou que representam uma expansão fenotípica, como a forma autossômica recessiva de paraplegia espástica associada a *SQSTM1*.

Descritores: Paraparesia espástica; Genética; Neurologia; Neurogenética; Aspectos clínicos; Paraplegia espástica hereditária.

Abstract

Freua F. *Clinical and genetic investigation of hereditary spastic paraplegia* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2021.

The present study performed a retrospective and partially prospective analysis of all patients diagnosed with hereditary spastic paraplegia followed in the Neurogenetics Outpatient Service (NCL6500) at Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. Its main objective is to describe the clinical, genetic, laboratorial, neuroimaging and electrophysiological aspects of these patients and as a secondary objective it aims to identify characteristics in the clinical examination, laboratorial and electrophysiological studies and in the different neurological imaging techniques, in addition to epidemiological data that contribute for the etiological definition, as well to relate clinical and laboratory findings with possible genetic patterns. Included patients were clinically evaluated using the SPRS (Spastic Paraplegia Rating Scale) Brazilian version and a cognitive assessment through the mini mental state exam (when applicable). Additionally brain magnetic resonance imaging and whenever applicable, electrophysiological studies were done. Different techniques for genetic analysis were performed, including whole exome sequencing. Of the 70 patients included in the survey, a conclusive genetic result was achieved in 39. In confirmed cases, a detailed clinical and sociodemographic description was performed and a comparison between the results was carried out through descriptive statistical analysis. Inferential statistical analysis was also carried out, which revealed a relationship between the neuroimaging finding of the thin corpus callosum and the severity of the SPRS scale. This study concludes that the demographic presentation of patients with hereditary spastic paraplegia is phenotypic and genetically variable, with the autosomal recessive pattern being the most common in the sample and the pathogenic variants in the *SPG11* gene the most prevalent. We also identified cases not habitually classified as hereditary spastic paraplegia, as arginase deficiency and a phenotypic expansion, as *SQSTM1*-related autosomal recessive spastic paraplegia.

Descriptors: Paraparesis, Spastic; Genetics; Neurology; Neurogenetics; Clinical aspects; Spastic paraplegia, hereditary.

1 Introdução

As paraplegias espásticas hereditárias (HSP) formam um grupo heterogêneo de doenças cujo ponto marcante é a ocorrência de graus variáveis de espasticidade e fraqueza em membros inferiores. Quando os sintomas se iniciam na idade adulta, tendem a apresentar evolução lenta e progressiva, ao passo que quando se manifestam na primeira infância, as HSP podem ser confundidas com paralisia cerebral pois os sintomas podem se mostrar estáveis ou ter progressão muito lenta.

O movimento voluntário, em seres humanos, ocorre por meio dos neurônios da chamada via piramidal. Trata-se de longa e sinuosa via multi sináptica de comunicação que se estende desde o córtex motor até as junções neuromusculares, responsáveis pela inervação dos músculos esqueléticos. A longa distância percorrida por estes neurônios, que pode alcançar até cerca de um metro de comprimento, faz com que eles se tornem vulneráveis aos mais variados tipos de agressão ou disfunção celular. Mecanismos celulares complexos são necessários para classificar, embalar e distribuir proteínas, constituintes do citoesqueleto, lipídios, organelas e outras moléculas que trafegarão bidirecionalmente essas longas distâncias, criando vulnerabilidades que podem se manifestar como disfunção motora em distúrbios neurológicos específicos, tal como ocorre nas HSP.

O mecanismo fisiopatológico para as HSP sugerido por Blackstone, 2012; Fink, 2014, Klebe et al., 2015 e Tesson et al., 2015 atribui a processos patológicos de etiopatogenia variada, levando a axonopatia dos longos nervos do trato córtico-espinhal, manifestando-se clinicamente com espasticidade e fraqueza de membros inferiores.

Segundo Harding, 1983, o exame neurológico de pacientes com HSP é típico e os achados mais comuns incluem variados níveis de comprometimento bilateral do tônus muscular levando à espasticidade, principalmente nos grupamentos musculares isquiotibiais, quadríceps, gastrocnêmios e músculos adutores; fraqueza principalmente nos grupamentos do ileopsoas, nos isquiotibiais e nos músculos tibiais anteriores; hiperreflexia patelar, dos adutores e aquileus; discreta redução da sensibilidade vibratória distal; resposta cutâneo-plantar em extensão e marcha espástica.

Historicamente as HSP são divididas em dois subgrupos (Harding, 1983):

- Formas não complicadas, também chamadas de “puras”, nas quais o déficit neurológico é limitado a fraqueza espástica de membros inferiores, leve comprometimento de esfíncter urinário (tal como hipertonia do detrusor) e discreta diminuição da sensibilidade vibratória de membros inferiores.

- Formas complicadas, nas quais além dos achados observados nas formas não complicadas de HSP existem outras alterações, sistêmicas ou neurológicas, tais como ataxia, epilepsia, sinais extrapiramidais, comprometimento cognitivo, amiotrofia, neuropatia periférica, demência, ictiose e catarata, sempre na ausência de outra causa presumível para estes achados adicionais.

Esta classificação histórica perdeu relevância com os avanços dos estudos genéticos, principalmente graças as técnicas de sequenciamento massivo e paralelizado do DNA, no que é conhecido como sequenciamento de nova geração (NGS). A classificação histórica é subjetiva, complexa e dificultada pela frequente ocorrência de comorbidades em pacientes com HSP. Por este motivo, recomenda-se atualmente utilizar a classificação genética para diferenciar os tipos específicos de HSPs.

Tendo em vista o pouco conhecimento sobre dados epidemiológicos e sociodemográficos, características clínicas e também a ausência de conhecimento sobre possíveis relações entre dados clínicos e as respectivas variantes patogênicas, fez-se necessário a realização desta pesquisa, visando preencher uma lacuna presente na literatura vigente.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Primário

Descrever os aspectos clínicos, genéticos, laboratoriais, de neuroimagem e eletrofisiológicos de uma série de pacientes com HSP.

2.2 Objetivos Secundários

Identificar características no exame clínico, nos estudos laboratoriais e eletrofisiológicos e nas diferentes técnicas de imagem neurológica, além de dados epidemiológicos, que contribuam para a definição etiológica, além de relacionar achados clínicos e laboratoriais com possíveis padrões genéticos, como tipos de variantes patogênicas.

Investigar a contribuição das novas técnicas de investigação genética, particularmente do sequenciamento de nova geração, na definição diagnóstica.

3 Revisão da Literatura

3.1 Histórico

Em 1880 o neurologista de origem alemã nascido na Letônia, Adolf Strümpell, publicou os dois primeiros casos descritos de HSP, na qual dois irmãos iniciaram sintomas de espasticidade aos 37 e 56 anos de idade. Tratava-se de HSP "pura", sendo que ao óbito de um dos irmãos, estudo anátomo-patológico evidenciou degeneração do fascículo grácil e dos trato córtico-espinhal lateral e espinocerebelar, sendo este último menos intenso. Após oito anos do primeiro relato de Strümpell, o neurologista francês Maurice Lorrain publicou um estudo anátomo-patológico mais detalhado sobre as HSPs. A partir desta publicação, a doença passou a ser conhecida como síndrome de *Strümpell-Lorrain*. (Strümpell, 1880). Mais recentemente, em meados da década de 90, os estudos em pacientes com HSPs, conduzidos pela Professora Anita Elizabeth Harding, realizados na Universidade de Londres, agregaram dados clínicos e epidemiológicos quanto ao conhecimento desta doença quando foi proposto o primeiro sistema de classificação (Harding, 1983).

Considerando os conhecimentos e bases fisiopatológicas atuais que justificam a ocorrência desta síndrome geneticamente heterogênea, o epônimo *Strümpell-Lorrain* deixou de ser empregado. Atualmente, utiliza-se o termo paraplegia espástica hereditária (HSP) para se referir a todas as formas geneticamente determinadas da doença e emprega-se ainda a sigla SPG (de *spastic gait*) para se referir aos *loci* gênicos das HSPs. Até o momento final da

redação deste texto, haviam sido descritos 84 *loci* de SPG, que foram numerados de forma crescente, de acordo com a data de sua publicação, de SPG1 até SPG83 (<http://www.omim.org>; acessado em 16 de dezembro de 2021). Na maior parte dos casos, os genes relacionados a estes *loci* já foram identificados e algumas vezes recebem o mesmo nome do seu *locus*; no entanto, até hoje permanecem lacunas neste conhecimento, com vários *loci* ainda sem um gene reconhecido. Há ainda formas HSPs que não seguem esta regra e permanecem classificadas à parte: é o que ocorre com a deficiência de arginase, cujo principal manifestação clínica é a paraplegia espástica, a adrenomieloneuropatia ligada ao X e a síndrome SPOAN, forma complicada de paraplegia espástica identificada originalmente no Brasil. O número de HSPs tem crescido de forma exponencial, particularmente nos últimos cinco anos, graças ao uso mais intensivo do NGS para a realização de painéis de genes e do sequenciamento completo do exoma (WES) e do genoma (WGS).

3.2 Epidemiologia

A prevalência média global das HSP é de 1,8 para cada 100.000 habitantes (Ruano *et al.*, 2014), havendo, contudo, uma grande variabilidade regional. Um estudo norueguês encontrou prevalência de 7,8/100.000 habitantes (Erichsen *et al.*, 2009), enquanto investigação realizada em Portugal a estimou em 4,1/100.000 habitantes (Coutinho *et al.*, 2013).

Cerca de 70-80% das HSP autossômicas dominantes apresentam a forma não complicada da doença; destes, mais de 40% têm variantes patogênicas em *SPAST* (SPG4) e cerca de 10% em *ATL1* (SPG3A), sendo esta a apresentação

mais comum de início precoce, antes dos 15 anos de idade. Mutações em *REEP1* (SPG31) ocorrem em cerca de 5 a 10% e em *KIF5A* (SPG10) em aproximadamente 3% dos indivíduos (Blackstone, 2012; Klebe *et al.*, 2015; Tesson *et al.*, 2015).

No caso das HSPs autossômicas recessivas, a prevalência maior ocorre em regiões geográficas onde existe maior ocorrência de consanguinidade. A prevalência de formas AR de HSP na Noruega é de 0,6/100.000 habitantes, enquanto na Tunísia é estimada em 5,7/100.000 habitantes (Erichsen *et al.*, 2009). Variantes patogênicas bialélicas em *SPG11* são responsáveis pela forma mais frequente de SPG-AR, seguida por *ZFYVE26* (SPG15) (Ruano *et al.*, 2014).

As paraplegias espásticas ligadas ao cromossomo X e de herança mitocondrial são bastante raras, não existindo dados a respeito de sua prevalência.

Atualmente cinco formas de HSPs ligadas ao X foram descritas e dentro delas, três formas com genes identificados: *L1CAM* (SPG1), *PLP1* (SPG2) e *SLC16A2* (SPG22). Também incomum é a apresentação de HSPs relacionadas a mutações mitocondriais. Em uma única família descrita, diversos indivíduos apresentaram paraplegia espástica progressiva de início tardio além de alterações bioquímicas sugestivas de doença mitocondrial. Esta família apresentava mutação em *MT-ATP6* (m.9176T>C) (Vermy *et al.*, 2011).

3.3 Bases moleculares das doenças genéticas

O genoma humano consiste em duas partes: um genoma nuclear constituído por 24 tipos diferentes de moléculas de DNA dupla fita (cromossomos

lineares), com cerca de 20 mil genes que codificam RNA mensageiro, e um genoma mitocondrial formado por uma molécula de DNA dupla fita (cromossomo circular), com apenas 13 genes que codificam RNA mensageiro. Os genes mitocondriais são bastante simples compostos basicamente por uma região regulatória e uma porção codificante, isto é, um segmento de DNA que servirá como molde para síntese de uma molécula de RNA correspondente a sequência de aminoácidos de um polipeptídeo. O genoma nuclear por sua vez, é formado por moléculas de DNA associadas as histonas, formando a cromatina, cujo nível de compactação está relacionado a estrutura dos cromossomos e ao nível de expressão gênica. A maior parte do genoma é constituída por DNA repetitivo, como as regiões satélites, centroméricas, teloméricas, e os elementos móveis (transposons e retrotransposons). Na porção restante encontramos os genes e segmentos de função desconhecida (Strachan, 2013).

Por definição, genes são sequências de DNA que servem de molde para transcrição de uma molécula de RNA funcional, podendo ou não codificar uma proteína (Strachan, 2013). No entanto, as doenças genéticas hereditárias são, em sua maioria, causadas por mutações patogênicas em genes que codificam proteínas. A estrutura desses genes é bastante complexa e compreende uma região regulatória e uma unidade de transcrição, formada por éxons (sequências expressas) e íntrons (sequências intervenientes), que serão removidos no RNA mensageiro por um processo denominado *splicing* e, portanto, ausentes no RNA maduro que será traduzido no citoplasma por ribossomos.

Dessa forma, variantes patogênicas podem ocorrer na região regulatória, comprometendo a transcrição; nos íntrons, alterando o *splicing*; nos éxons

codificantes, levando a substituição simples de aminoácido (variante *missense*), trocando um aminoácido por um códon de parada (variante *nonsense*), deletando ou inserindo aminoácidos (variante *inframe*), ou ainda mudando o quadro de leitura (*frameshift*) e assim levando a alteração sequencial de vários aminoácidos até o surgimento de um códon de parada prematuro ou mesmo estendendo a tradução proteica para além do códon habitual de parada. Mais raramente, as variantes podem localizar-se nas regiões exônicas não traduzidas (5'UTR e 3'UTR). Quando essas alterações levam a produção de proteínas não funcionais ou proteínas tóxicas, dizemos que a patologia molecular se caracteriza por perda ou ganho de função.

Nas formas de transmissão recessiva das paraplegias espásticas, ligadas ao X ou autossômicas, é necessário que o gene seja haplosuficiente, ou seja que a existência de apenas uma cópia funcional impeça a ocorrência da doença. Nas formas dominantes, também ligadas ao X ou autossômicas, observa-se haploinsuficiência, que pode ser por perda ou por ganho de função, que não é tolerada e leva ao aparecimento dos sintomas.

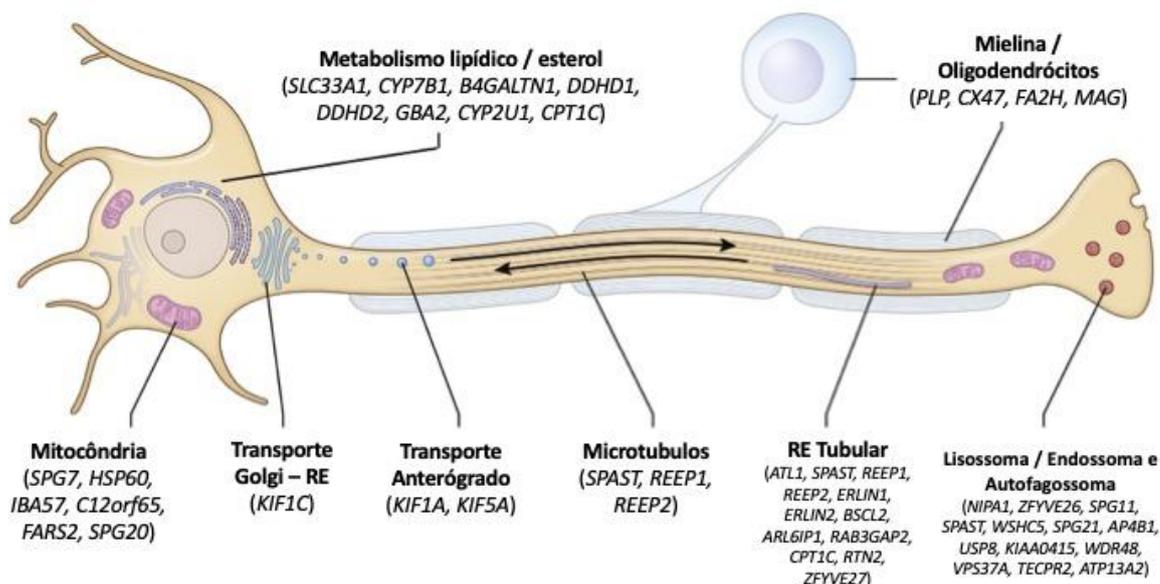
3.4 Fisiopatologia

O mecanismo fundamental de lesão e processo neuropatológico das HSPs ocorre pela chamada lesão do tipo *dying back*, termo cunhado para a degeneração axonal distal e com caráter ascendente (DeLuca *et al.*, 2004), que ocorre em longos neurônios como os do trato córtico-espinhal e das fibras sensitivas longas ascendentes da coluna dorsal (fascículos grácil e cuneiforme) e, de forma menos intensa, da via espinocerebelar.

A base deste mecanismo de lesão justifica o achado clínico clássico das HSPs, a fraqueza muscular e espasticidade com maior intensidade em membros inferiores, uma vez que as fibras motoras iniciam sua degeneração a partir das regiões mais distais do corpo neuronal e, também, o achado de imagem que ocorre em algumas HSPs como a decorrente de variantes em *NIPA1* (SPG6) e a *WASHC5* (SPG8), em que podemos encontrar afilamento da coluna dorsal em exame de ressonância magnética.

Os mecanismos celulares implicados no processo lesivo das HSPs podem ser divididos em 6 grandes grupos de interferência nos processos celulares (Blackstone, 2018) e estão resumidos esquematicamente na Figura 1:

- Transporte transmembrana, modelagem e biogênese de organelas;
- Regulação da função mitocondrial;
- Mielinização e modificação lipídica e de esteróis;
- Sinalização axonal;
- Metabolismo de nucleotídeos;
- Outros mecanismos lesivos e os desconhecidos



Adaptado de Blackstone, 2018

Figura 1 - Principais mecanismos patológicos celulares nas HSP com os respectivos principais genes

O mecanismo fisiopatológico que é responsável pela maior parte dos casos de HSP é o que afeta o transporte celular, estando envolvido com formas autossômica dominantes *SPAST* (SPG4), *ATL1* (SPG3A) e *REEP1* (SPG31) e recessivas *SPG11* e *ZFYVE26* (SPG15), que conjuntamente correspondem a mais de 50% dos casos de HSP.

SPAST (SPG4) codifica a espastina, uma ATPase hexamérica que regula as funções celulares dependentes de microtúbulos. A sua porção C-terminal abriga domínios necessários para ligação seletiva aos microtúbulos, incluindo o domínio AAA ATPase. A porção N-terminal medeia as interações com proteínas que recrutam a espastina para os compartimentos celulares, como retículo endoplasmático (RE), endossoma e organelas intermediárias. Uma isoforma da espastina, denominada M87, está, provavelmente, envolvida no mecanismo

fisiopatológico que envolve a abscisão e ruptura de microtubulos durante a citocinese. Embora o comprometimento da função do microtúbulo seja amplamente postulado como o principal fator associado a SPG4, ela pode não explicar todas as suas manifestações clínicas. Outra possibilidade é a neurotoxicidade da proteína mutada, particularmente da sua isoforma principal (M1) que liga ao RE liso outras proteínas comumente envolvidas nas HSP tais como atlastina-1 e REEP1. A atlastina 1, a proteína codificada por *ATL1*, é uma GTPase que está presente no RE e que atua na fusão de microtúbulos. O prejuízo de sua função interfere com o alongamento axonal e leva a SPG3A.

Inúmeras proteínas localizam-se no RE liso e interagem entre si em várias combinações para criar as características distintivas da rede tubular do RE. Isso inclui as proteínas previamente discutidas, espastina e atlastina1, bem como os produtos dos genes *REEP1* (SPG31, a terceira HSP mais comum), *RTN2* (SPG12), *ARL6IP1* (SPG61), *RAB3GAP2* (SPG69), *ZFYVE27* (SPG33) e *REEP2* (SPG72), sendo que essas proteínas participam de mecanismos celulares inter-relacionados que governam a arquitetura heterogênea do RE.

Uma função chave do RE liso é a síntese, metabolismo e distribuição de lipídios e esteróis, aproveitando os mecanismos vesiculares e não veiculares. As gotículas lipídicas formadas a partir do RE são as principais formas de armazenamento de gordura nas células eucarióticas. Sabidamente variantes que levem perda de função da atlastina desencadeiam não apenas alterações na morfologia do RE, mas também uma redução no tamanho das gotículas lipídicas do tecido, sendo este também um mecanismo fisiopatológico estabelecido compartilhado por outras HSP como a SPG20, SPG17 e também

de forma indireta a SPG42, por meio da perda de regulação do transportador de acetil-coenzima-A.

Os produtos de *SPG11* (espastacsina) e *ZFYVE26* (espastizina) atuam de forma conjunta na reforma autofágica lisossomal, que vai gerar novos lisossomos. A autofagia permite que as células se adaptem às mudanças em seu ambiente, coordenando a degradação e a reciclagem dos componentes celulares. Os lisossomos são críticos para interromper a autofagia por meio da fusão com autofagossomos maduros para gerar autolisossomos que degradam os materiais autofágicos. Desta forma, a manutenção do *pool* lisossômico é essencial para a depuração celular dependente de autofagia. Assim, na *SPG11* (*SPG11*) e *SPG15* (*ZFYVE26*) ocorre depleção de lisossomos livres competentes para se fundir com autofagossomos e há um acúmulo de autolisossomos, refletindo falhas na reforma autofágica lisossomal.

Suspeita-se ainda que defeitos nos eventos de modelagem da membrana dentro do axônio, talvez necessários para funções como plasticidade sináptica ou transporte eficiente do axônio, estejam relacionadas a fisiopatogenia das HSPs. Outra possibilidade é que esses defeitos da membrana afetem outros processos, como o tráfego de receptores que controlam as vias de sinalização importantes para a função do axônio (Blackstone, 2018).

Outros mecanismos patogênicos incluem as disfunções mitocondriais por defeito de fosforilação oxidativa como ocorre em *SPG7* e em *HSPD1* (*SPG13*) ou disfunção na montagem do complexo ferro-sulfuroso mitocondrial, como no se dá na *SPG74* (*IBA57*) ou mesmo na tradução proteica na mitocôndria como ocorre na *SPG77* (*FARS2*).

No caso de várias HSP o mecanismo fisiopatológico encontra-se em moldar e posicionar organelas, vesículas e outras moléculas adequadamente dentro de neurônios altamente polarizados e que dependem de proteínas que garantem, dentre outras coisas, este transporte dentro da célula. Como exemplo deste mecanismo temos *KIF5A* (SPG10), *KIF1A* (SPG30) e *KIF1C* (SPG58).

Outras vias fisiopatológicas menos conhecidas foram descritas como as relacionadas a metabolismo de nucleotídeos, as relacionadas ao processo de mielinização, as de sinalização proteica, as relacionadas a localização axonal dentre outras.

3.5 HSPs conforme padrão de herança

3.5.1 HSPs autossômicas dominantes (HSP-AD)

As HSPs AD compreendem o subgrupo mais comum de HSPs, sendo responsável por até 75% dos casos na maior parte das séries. Uma relação das formas AD de HSP encontra-se no Anexo A.

3.5.2 HSPs autossômicas recessivas (HSP-AR)

Trata-se do subgrupo mais heterogêneo e numeroso de HSP. Muitas novas causas de HSP AR são muito raras e podem estar limitadas até o presente a uma única família ou até a um único indivíduo. A frequência é aumentada em populações com maior frequência de uniões consanguíneas, tal como ocorre por exemplo ocorre no Oriente Médio e em certas regiões do Brasil.

Este subgrupo corresponde na maior parte das séries a cerca de 25% a 30% dos casos de HSP. A relação das principais HSPs AR está apresentada Anexo B.

3.5.3 HSPs ligadas ao X (HSP-X)

As HSP ligadas ao cromossomo X são formas raras e já bem estabelecidas de paraplegias espásticas hereditárias.

As principais formas e manifestações clínicas de HSP-X encontram-se no Anexo C.

3.5.4 HSPs com herança mitocondrial

Apenas uma forma de HSP foi descrita com padrão de herança mitocondrial decorrente de mutação em MT-ATP6 e leva a uma forma complicada de HSP, de início no adulto, cursando com cardiomiopatia, diabetes e polineuropatia sensitiva (Verny *et al*, 2011).

3.6 HSPs que foram identificadas nesta investigação

3.6.1 SPAST/SPG4 (Spastic paraplegia 4, AD, OMIM # 182601)

Variantes patogênicas em *SPAST* correspondem a 40-50% das HSP AD. O gene codifica uma AAA ATPase intimamente envolvida na dinâmica de microtubulos celulares. Já foram descritos todos os tipos de variantes no gene, incluindo variações do número de cópias (CNV). A idade de início dos sintomas

é amplamente variável, cursando desde o nascimento até os 63 anos com idade média de início dos sintomas ao redor dos 29 anos (Murphy *et al*, 2009; Chelban *et al*, 2017; Solowska *et al*, 2017).

O quadro clínico, na maioria das vezes, é não complicado, cursando com paraplegia espástica, dores lombares e comprometimento esfinteriano vesical. Contudo, um estudo recente com uma coorte grande de pacientes com SPG4 identificou quadro polineuropático axonal em cerca de 25% dos indivíduos, anormalidades na RM de crânio em 15% dos indivíduos e quadro psiquiátrico com espectro autista de comportamento em 10% dos indivíduos (Chelban *et al*, 2017). Estes achados desafiam o conceito de que a SPG4 é uma forma de HSP pouco variável e essencialmente não complicada.

3.6.2 SPG11/SPG11 (Spastic paraplegia 11, AR, OMIM # 604360)

Variantes patogênicas bialélicas em *SPG11* são responsáveis pela forma mais comum de HSP AR, correspondendo a cerca de 30 - 40% de todos os casos de HSP AR em diferentes séries. O ponto marcante consiste no achado de corpo caloso afilado na ressonância magnética de encéfalo com o sinal conhecido como “orelhas de lince”, comprometimento cognitivo, parkinsonismo precoce e, em alguns casos, ataxia cerebelar e anormalidades retinianas, além do achado padrão de paraplegia espástica progressiva. (Hanein *et al.*, 2008; Stevanin *et al.*, 2008; Guidubaldi *et al.*, 2011). Classicamente os sintomas desenvolvem-se na adolescência, agravada até ao redor dos 20 anos de idade sendo que o transtorno de movimento (habitualmente parkinsonismo e distonia) pode apresentar alguma resposta sustentada à levodopa.

As mutações do tipo *frameshift* e *nonsense* são as mais comuns e podem acontecer em homozigose ou heterozigose composta (Paisan-Ruiz *et al*, 2008).

O gene *SPG11* codifica a espatacsina, que desempenha um papel na autofagia. Embora o trabalho em células humanas não tenha mostrado um déficit autofágico convincente, modelo de camundongo que recapitula o fenótipo humano com fidelidade, mostrou alterações com acúmulo de lipídios nos lisossomos e diminuição da renovação lipídica (Branchu *et al*, 2017).

3.6.3 SPG7/SPG7 (Spastic paraplegia 7, AR, OMIM # 607259)

Corresponde à segunda mais frequente causa de HSP AR. A variabilidade fenotípica é muito grande e na sua apresentação clássica a idade de início ocorre um pouco mais tardiamente que o habitual nas HSP AR. O quadro clínico pode variar de uma intensa espasticidade atáxica até uma ataxia evidente com leve espasticidade. Quadro extrapiramidal e oftalmoplegia externa progressiva também são descritos como constelação de sinais e sintomas participantes da síndrome.

SPG7 codifica a paraplegina, uma protease localizada na membrana mitocondrial interna, sendo estas proteases essenciais no processamento e controle de qualidade de um grande número de proteínas mitocondriais (Pfeffer *et al*, 2014)

3.6.4 CYP7B1/SPG5A (Spastic paraplegia 5A, AR, OMIM # 270800)

As variantes que levam a perda de função em *CYP7B1* são responsáveis por 5-10% das HSP AR. Caracteriza-se clinicamente por levar a uma forma não complicada de HSP, com início na adolescência e ocasionalmente até a quarta ou quinta décadas de vida. Uma minoria de pacientes desenvolve HSP complicada, geralmente após uma longa duração da doença, com a ocorrência de ataxia, amiotrofia distal e neuropatia axonal. A RM de crânio evidencia alteração do sinal da substância branca periventricular, o que pode levar ao diagnóstico e tratamento como uma doença desmielinizante imunologicamente mediada. O produto do gene *CYP7B1* está envolvido no metabolismo de esteróides, colesterol e outros lipídios (Goizet *et al*, 2009).

3.6.5 ZFYVE26/SPG15 (Spastic paraplegia 15, AR, OMIM # 270700)

A SPG15 tem apresentação clínica muito semelhante à observada na *SPG11* e caracteriza-se pela ocorrência precoce de paraplegia espástica complicada com comprometimento cognitivo e neuropatia periférica, acompanhada de afilamento de corpo caloso na RM de crânio. Quando adicionalmente observa-se retinose pigmentar, ela recebe o nome de síndrome de Kjellin. Khundadze *et al*, 2013 postularam, ao estudar modelo animal transgênico, que na SPG15 há um defeito no tráfego de membrana endolisossômico.

3.6.6 *PLP1/SPG2* (Spastic paraplegia 2, X-linked, OMIM # 312920)

Variantes patogênicas em *PLP1*, localizado no cromossomo X, estão associadas à síndrome de Paelizaeus-Merzbacher (PMD) e também a *SPG2*. sendo que variações no fenótipo podem ser encontradas até dentro de uma mesma família. Habitualmente a *SPG2* inicia-se nos primeiros 5 anos de vida, mas pode se manifestar somente após a terceira e quarta décadas de vida. O quadro clínico é de uma paraplegia espástica complicada, com disfunção autonômica, nistagmo, ataxia e grau variável de comprometimento cognitivo. Habitualmente o exame de neuroimagem para pacientes com PMD evidencia hipomielinização, que nos casos de *SPG2* também pode estar presente.

3.6.7 *CAPN1/SPG76* (Spastic paraplegia 76, AR, OMIM # 616907)

A *SPG76* é decorrente de variantes patogênicas bialélicas em *CAPN1*, sendo caracterizada por ter início em adultos jovens que apresentam quadro pareto-espástico comprometendo de forma mais grave, mas não exclusiva, os membros inferiores, sendo por vezes acompanhada de disartria e deformidades articulares em membros inferiores

CAPN1 codifica a proteína calpaina 1, que é uma protease intracelular dependente de cálcio. Gan-or *et al*, 2016 demonstraram que variantes patogênicas bialélicas em *CAPN1* provocam degeneração de neurônios motores gabaérgicos, culminando com anormalidades axonais e níveis elevados celulares de tubulina acetilada, propondo que este seja o mecanismo fisiopatológico da doença.

3.6.8 *ATP13A2*/SPG78 (Spastic paraplegia 78, AR, OMIM # 617225)

A SPG78 é uma forma de paraplegia espástica complicada de início na idade adulta que pode estar acompanhada de sinais cerebelares, disartria, distúrbios oculomotores e comprometimento cognitivo, causada por variantes patogênicas bialélicas em *ATP13A2*, ela é alélica à síndrome de Kufor-Rakeb (OMIM # 606693), que tem início mais precoce e parkinsonismo proeminente como a principal característica clínica. No entanto, ela pode ter alguma sobreposição com a clínica de SPG78.

ATP13A2 codifica uma proteína de 1180 aminoácidos cuja expressão é predominantemente cerebral e se localiza em compartimentos vesiculares intracelulares em neurônios, incluindo lisossomos e endossomos.

Variantes patogênicas em *ATP13A2*, que gerem perda de função proteica, resultam em um espectro multidimensional de características neurológicas inferindo lesão em várias regiões do sistema nervoso, incluindo córtex, trato piramidal e extrapiramidal, tronco cerebral, cerebelo e nervo periférico (Estrada-Cuzcano *et al.*, 2017)

3.6.9 *AAAS*/Triplo A (Achalasia-addisonianism-alacrimia syndrome, AR, OMIM # 231550)

Variantes patogênicas bialélicas em *AAAS* causam a síndrome Triplo A (Alacrimia, Acalasia e insuficiência Adrenal). Esta doença não é classificada habitualmente como uma forma de HSP.

AAAS codifica uma proteína de 547 aminoácidos denominada aladin que pertence a uma família de proteínas regulatórias (WD-r). A expressão do gene

em estruturas neuroendócrinas e cerebrais é a justificativa pelo qual alterações deste produto proteico manifesta clínica anormal nestas estruturas.

Os primeiros relatos da síndrome datam de 1978, quando houve a descrição de 4 indivíduos (2 pares de irmãos sendo 3 do sexo masculino e 1 do sexo feminino) cuja característica clínica dava-se por insuficiência adrenal e acalasia e alacrimia ocorrendo em 3 dos pacientes reportados (Allgrove *et al*, 1978). A apresentação clínica é muito heterogênea, devendo conter o achado clássico da síndrome, podendo ou não estar adicionado a diversos outros sintomas, como disautonomia, atraso do desenvolvimento, disartria dentre outros.

3.6.10 KLC2/SPOAN (Spastic paraplegia, optic atrophy, and neuropathy, AR, OMIM # 609541)

Em 2005 foi relatado uma grande família consanguínea brasileira, da região de Serrinha dos Pintos, região geograficamente isolada do Rio Grande do Norte, na qual 25 membros tinham um distúrbio neurológico caracterizado por atrofia óptica congênita, paraplegia espástica progressiva de início precoce e neuropatia periférica axonal distal motora e sensorial (SPOAN de *Spastic Paraplegia, Optic Atrophy and Neuropathy*). Os pacientes afetados apresentaram discreto atraso no desenvolvimento motor no início da vida, com perda da deambulação independente aos 10 anos de idade; 3 pacientes nunca alcançaram deambulação. A maioria dos pacientes tinha reflexos proximais presentes e reflexos distais ausentes, bem como hipoestesia e hipopalestesia distal, assim como disartria e amiotrofia distal em pacientes acima de 20 anos de idade. Sobressalto ao som esteve presente desde a infância em todos os pacientes. Doze pacientes tinham escoliose, 5 dos quais foram gravemente

afetados. Nenhum paciente apresentou ataxia, distonia, incontinência ou prejuízo cognitivo. Os estudos de eletromiografia (EMG) foram consistentes com uma neuropatia axonal sensitiva e motora, e a biópsia do nervo sural mostrou diminuição do número de fibras mielinizadas e amielínicas (Macedo-Souza *et al.*, 2005). Os dois casos constantes neste estudo já foram relatados na literatura médica e são de uma mesma família (um paciente do sexo masculino, irmão da outra paciente, do sexo feminino).

Na descrição inicial, dos 73 pacientes brasileiros e 2 irmãos de ascendência egípcia com paraplegia espástica, atrofia óptica e neuropatia, foi identificado uma deleção homozigótica de 216 pares de bases na região promotora de *KLC2*. Esta deleção foi inicialmente identificada apenas pelo sequenciamento completo do genoma, uma vez que a variante se encontrava fora da região codificante de *KLC2*. Fibroblastos e células-tronco pluripotentes do paciente induzidas em neurônios motores mostraram aumento da expressão de *KLC2* (aumento de 48 a 74% em comparação aos controles). Os autores observaram que a ocorrência de ganho de função em uma doença autossômica recessiva é algo sem precedentes na literatura médica (Melo *et al.*, 2015).

3.6.11 ARG1/Argininemia (Argininemia, AR, OMIM # 207800)

ARG1 codifica a proteína arginase, que é uma das enzimas que fazem parte do ciclo da uréia, sendo a responsável pela sua última etapa, a hidrólise da arginina em uréia e ornitina. A sua deficiência leva a argininemia que não é habitualmente designada como uma HSP, contudo, sua apresentação clínica admite este diferencial.

A deficiência de arginase em indivíduos não tratados é caracterizada por hiperamonemia episódica de grau variável, que muitas vezes não chega a ser reconhecida clinicamente. Os sintomas surgem de forma indolente, e incluem a desaceleração do crescimento entre um e três anos de idade, seguido por desenvolvimento de espasticidade, estagnação do desenvolvimento e subsequente perda de marcos de desenvolvimento. Se não tratada, a deficiência de arginase geralmente progride para espasticidade grave, perda de deambulação, e disautonomia. Pode ocorrer epilepsia, mas ela é em geral facilmente controlada com o uso de fármacos anticrise.

Por se tratar de uma forma potencialmente tratável de paraplegia hereditária, o seu diagnóstico deve sempre ser lembrado frente a pacientes com o quadro clínico compatível.

O tratamento engloba controle da epilepsia, restrição proteica e suplementação com fórmula de aminoácidos essenciais sem arginina, além de administração oral de drogas eliminadoras de amônia, em casos de hiperamonemia recorrente, tais como benzoato de sódio e fenilbutirato de sódio. O transplante de fígado é também considerado uma alternativa terapêutica.

3.6.12 CYP27A1/Xantomatose cerebrotendínea (Cerebrotendinous xanthomatosis, AR, OMIM # 213700)

Variantes patogênicas bialélicas em *CYP27A1* estão associadas a xantomatose cerebrotendinosa que é uma doença do metabolismo de lipídios. Ela se caracteriza clinicamente por diarreia de início na infância, catarata juvenil, xantomas cutâneos e dos tendões e disfunção neurológica progressiva de início na vida adulta, incluindo demência, distúrbios psiquiátricos, espasticidade, sinais

cerebelares, distonia, parkinsonismo, neuropatia periférica e epilepsia. A xantomatose cerebrotendínea é causada pela deficiência da enzima mitocondrial esterol 27-hidroxilase, com resultante acúmulo de colesterol e colestanol em praticamente todos os tecidos.

A elevação do colestanol sérico é um marcador bioquímico bastante específico da doença, mas este é um exame pouco disponível na prática clínica. Os achados de neuroimagem são típicos e incluem hiperintensidade bilateral dos núcleos dentados cerebelares e substância branca cerebral, atrofia cerebral e cerebelar difusa evidenciados pela ressonância magnética além de a espectroscopia de prótons evidenciar elevação de lactato e queda do n-acetilaspartato e pico lipídico.

A xantomatose cerebrotendínea não é classicamente designada como uma forma de HSP. Pode tornar-se um desafio diagnóstico uma vez que existe grande variabilidade fenotípica, incluindo alguns casos que não cursam com o achado de xantomas tendinosos.

O tratamento recomendado para esta condição, porém de disponibilidade muito restrita, é a administração oral de ácido quenodesoxicólico na dose para adultos de até 750mg ao dia. Essa medicação normaliza a síntese de ácidos biliares (levando ao desaparecimento de metabólitos anormais do soro, bile e urina), normaliza a concentração de colestanol no plasma e no LCR pela supressão da biossíntese de colestanol além de promover melhora dos achados neurofisiológicos.

3.6.13 *EIF2B2*/Leucoencefalopatia com substância branca evanescente (Leukoencephalopathy with vanishing white matter, AR, OMIM # 603896)

Classicamente as variantes patogênicas bialélicas em *EIF2B2* são relacionadas com a leucoencefalopatia com substância branca evanescente e não com as HSPs. A síndrome, habitualmente de início na infância, mas que pode se manifestar a partir da vida adulta, é caracterizada por ataxia, espasticidade de membros inferiores e graus variados de atrofia óptica podendo também ocorrer comprometimento cognitivo e menos frequentemente outros achados neurológicos como distonia e parkinsonismo. O declínio neurológico progressivo pode ser exacerbado durante doenças febris ou após traumatismo craniano ou até por grandes procedimentos cirúrgicos.

Os achados típicos de neuroimagem através de ressonância magnética incluem alterações simétricas e difusas da substância branca encefálica sendo que parte da substância branca anormal apresenta uma intensidade de sinal próxima ou igual ao LCR em T1, T2 e na sequência FLAIR. As anormalidades de imagem estão presentes em todos os indivíduos afetados, independentemente da idade de início e até mesmo em irmãos afetados assintomáticos de um probando. Casos muito iniciais podem ter alterações frustras de sinal na substância branca encefálica ou até mesmo imagem normal.

Mulheres portadoras da doença podem apresentar falência ovariana prematura ou amenorreia secundária.

3.6.14 SQSTM1 (Sequestosome 1, OMIM * 601530)

Variantes patogênicas em *SQSTM1* estão associadas a formas autossômicas dominantes de: A. demência frontotemporal e/ou esclerose lateral amiotrófica (OMIM # 616437); B. Miopatia distal com vacúolos marginados (OMIM # 617158); C. Doença óssea de Paget (OMIM # 167250) e a uma condição de herança autossômica recessiva, a neurodegeneração com ataxia, distonia e paralisia do olhar (OMIM # 617145)

SQSTM1 codifica uma proteína que regula uma variedade de processos biológicos, dentre eles, processos de sinalização celular, apoptose, regulação da transcrição e autofagia mediada por ubiquitina.

Variantes patogênicas recessivas em *SQSTM1* não foram previamente relacionadas a qualquer forma de HSP.

4 Métodos

4.1 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo clínico retrospectivo e parcialmente prospectivo.

Os dados retrospectivos serão originários de pacientes já diagnosticados e que se encontram em seguimento no Ambulatório de Neurogenética da Clínica Neurológica do Hospital das Clínicas. O caráter prospectivo do estudo permite avaliar os pacientes com diagnóstico recente além daqueles já em seguimento que não tiverem completado a investigação.

4.2 Local do estudo

O estudo foi realizado na Clínica Neurológica do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, no ambulatório referenciado NCL6500 (Ambulatório de Neurogenética), atualmente composto de 421 pacientes cadastrados.

4.3 Amostra

4.3.1 Critérios de Inclusão

- Foram incluídos pacientes do sexo masculino e feminino, maiores de 14 anos por ocasião da avaliação, com início de sintomas em qualquer idade que apresentassem dados de anamnese e exame

físico compatível com a hipótese de HSP, conforme critérios definidores de HSP constantes no início deste texto.

4.3.2 Critérios de Exclusão

- Pacientes com diagnóstico estabelecido de outras doenças degenerativas de qualquer etiologia (eg. esclerose múltipla, degeneração combinada subaguda);
- Pacientes com diagnósticos confirmados de outras doenças neurogenéticas que assumem diagnóstico diferencial com as HSPs (eg. ataxias espinocerebelares);
- Pacientes com diagnóstico firmado de doenças neuro-infecciosas que assumem diagnóstico diferencial com as HSPs (eg. paraparesia espástica tropical pelo vírus HTLV, Sífilis e HIV);
- Pacientes que apresentem contraindicações absolutas à coleta de sangue, realização de eletroneuromiografia ou ressonância magnética;
- Pacientes que se recusaram a entrar no protocolo por qualquer motivo.
- Pacientes com diagnóstico já firmado de adrenomieloneuropatia foram excluídos deste estudo uma vez que foram objeto de outro estudo desta mesma instituição.

4.4 Procedimentos de investigação

4.4.1 Avaliação Clínica

Avaliação clínica constitui: anamnese, exame físico geral e exame neurológico.

Na anamnese foram valorizados dados como: início dos sintomas, característica de progressão dos sintomas, sintomas relacionados, histórico familiar e a presença ou não de consanguinidade. No exame físico geral foram avaliados sistema cardiorrespiratório, sistema osteoarticular, sistema digestório, pele e anexos e a presença de dismorfismos.

A avaliação neurológica incluiu a aplicação do mini exame do estado mental, avaliação de equilíbrio, marcha, coordenação, força, sensibilidade superficial e profunda, tônus e análise de nervos cranianos.

Foi utilizado a escala de classificação de paraplegia espástica (SPRS) na sua versão brasileira (constante no Anexo D e traduzida por Servelhere *et al*, 2016), de maneira a padronizar análise comparativa motora entre os indivíduos incluídos no projeto de pesquisa.

4.4.2 Avaliação Laboratorial

As avaliações laboratoriais foram realizadas de maneira individualizada considerando a hipótese clínica do paciente, exame físico e exames complementares já realizados.

Foram realizados estudos genético-moleculares em pacientes que não apresentavam o diagnóstico molecular quando do início do estudo ou que havia

algum primeiro teste negativo, mas com alta suspeição clínica. Os estudos genético-moleculares foram realizados no *Department of Molecular Neuroscience, University College of London*. Os pacientes incluídos realizaram o sequenciamento de todo o exoma, usando a plataforma HiSeq (Illumina), conforme protocolo recomendado pelo fabricante seguido de análise bioinformática dos genes avaliados, apresentando a limitação de análise de variações de número de cópias.

4.4.3 Avaliação Neurofisiológica

Os exames de EEG e ENMG foram realizados conforme julgamento clínico individualizado para cada paciente.

Pacientes que necessitavam EEG ou ENMG, contudo, já haviam realizado exame, ainda que antigo, mas elucidativo, não foram submetidos a novo exame. Pacientes que já haviam realizado o exame mas não havia sido elucidativo no primeiro momento, foram submetidos a novo exame conforme protocolo abaixo:

- **Eletroencefalograma:** realizado no departamento de EEG do Hospital das Clínicas da USP com aparelho digital Nihon Kohden, modelo 1200 de 32 canais, com implantes de eletrodos conforme o sistema internacional 10-20, com filtro de aquisição de alta frequência de 70Hz, constante de tempo de 0,3 segundos, tempo de registro de 20-45 minutos, incluindo, sempre que possível, registro de vigília e sono espontâneo, provas de atividade como fechamento dos olhos, fotoestímulo e, nos colaborativos, hiperpnéia. Dois eletroencefalografistas experientes e

independentes avaliaram o traçado classificando o resultado como normal ou anormal, sendo as anormalidades classificadas pelo ritmo de base (carência de ritmos, sincronia, avaliação dos elementos fisiológicos e alentecimento da atividade elétrica), anormalidades não epileptiformes (ondas lentas contínuas ou em surtos ou atividades periódicas) e anomalias epileptiformes (paroxismos epileptiformes), descrevendo a localização como focal ou generalizada, quando focal, ocorrendo a descrição topográfica (temporal, frontal, parietal, occipital ou transições).

- Eletroneuromiografia: realizado pelo departamento de ENMG do Hospital das Clínicas da USP com aparelho portátil da marca VIASYS – Nicolet, Madison, Winsconsin, EUA, modelo Viking Quest versão 7.5, com amplificador de 2 canais. Foram realizados estudos de condução nervosa motora (velocidade de condução, tempo de latência proximal e distal, amplitude dos potenciais evocados motores e onda F) e sensitivas (velocidade de condução, amplitude dos potenciais evocados sensitivos, reflexo H no nervo tibial posterior), e eletromiografia (músculos proximais e distais de membros inferiores na contração voluntária e repouso, ao menos um dimídio e musculatura paravertebral). O protocolo mínimo incluiu a avaliação dos nervos mediano, ulnar, tibial e sural.

4.4.4 Avaliação de neuroimagem por ressonância magnética

Pacientes que já apresentavam exame de neuroimagem elucidativa (externa ou não), ainda que antiga, não foram submetidos a novo exame. Pacientes com exames em aparelhos com menos de 1,5 Tesla foram submetidos a nova imagem.

As sequências mínimas na avaliação da imagem cerebral por ressonância deveriam contemplar as sequencias axial T1 pré e pós infusão de gadolínio, axial T2, axial FLAIR, difusão e T2*.

Foi utilizado, para finalidade descritiva, o exame que melhor contribuiu para o diagnóstico do paciente, no caso de pacientes com mais de um exame realizado (decisão arbitrariamente escolhida pelos pesquisadores).

4.5 Aspectos éticos

A pesquisa foi aprovada pela CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da FMUSP em 11 de janeiro de 2017 sob o parecer número 1.888.852 (Anexo E).

Todos os pacientes do estudo receberam informações amplas e irrestritas sobre em que consiste o estudo, objetivos, metodologia, riscos e benefícios em participar. Após a explicação oral, o paciente ou responsável leu e assinou o termo de consentimento livre e esclarecido também aprovado pela CAPPesq (Anexo F).

4.6 Análise estatística

As variáveis categóricas foram descritas pelas frequências absolutas e relativas e comparadas através do teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher, conforme aplicabilidade. As variáveis contínuas foram avaliadas quanto à normalidade através dos valores de assimetria (*skewness*) e curtose (*kurtosis*). Todas as variáveis contínuas apresentaram distribuição normal e foram descritas por médias e desvios-padrão e comparadas pelo teste T de Student ou *one-way* ANOVA.

Todos os testes foram bicaudados e foram considerados significativos valores finais de $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software SPSS (IBM Corp. SPSS Statistics para Windows, versão 24.0. Armonk, NY).

Os principais resultados foram apresentados por gráficos e tabelas.

5 Resultados

Após minuciosa revisão de prontuários do ambulatório NCL6500, realizada de 2013 a início de 2017, e, após isso, prospectivamente, selecionando pacientes passíveis de inclusão até março de 2019, foram identificados 81 possíveis pacientes com paraparesia espástica hereditária (75 famílias) com possibilidade de inclusão neste estudo (contemplando a análise retrospectiva e prospectiva), conforme os critérios acima descritos. Destes, 11 pacientes foram automaticamente excluídos por falta de seguimento no ambulatório com impossibilidade de contato ou óbito, restando assim, 70 pacientes incluídos no estudo (Figura 2).

Dos 70 pacientes incluídos no estudo, 7 pacientes já apresentavam diagnóstico molecular antes do início do estudo, conforme análise de prontuário sendo dois irmãos com SPG11, um paciente com variante patogênica em homozigose em AAAS (associado a síndrome Addison, acalasia, alacrimia), dois irmãos com SPOAN, um paciente com SPG7 e um paciente com SPG4.

Dos 63 pacientes restantes a análise molecular confirmou presença de variantes patogênicas em 32 pacientes que justificavam o quadro clínico, sendo que nos demais indivíduos o estudo não foi conclusivo, restando assim, 31 pacientes sem diagnóstico molecular. Dos 39 pacientes com diagnóstico molecular 10 pacientes apresentaram recorrência familiar, resultando, ao todo, em 34 famílias.

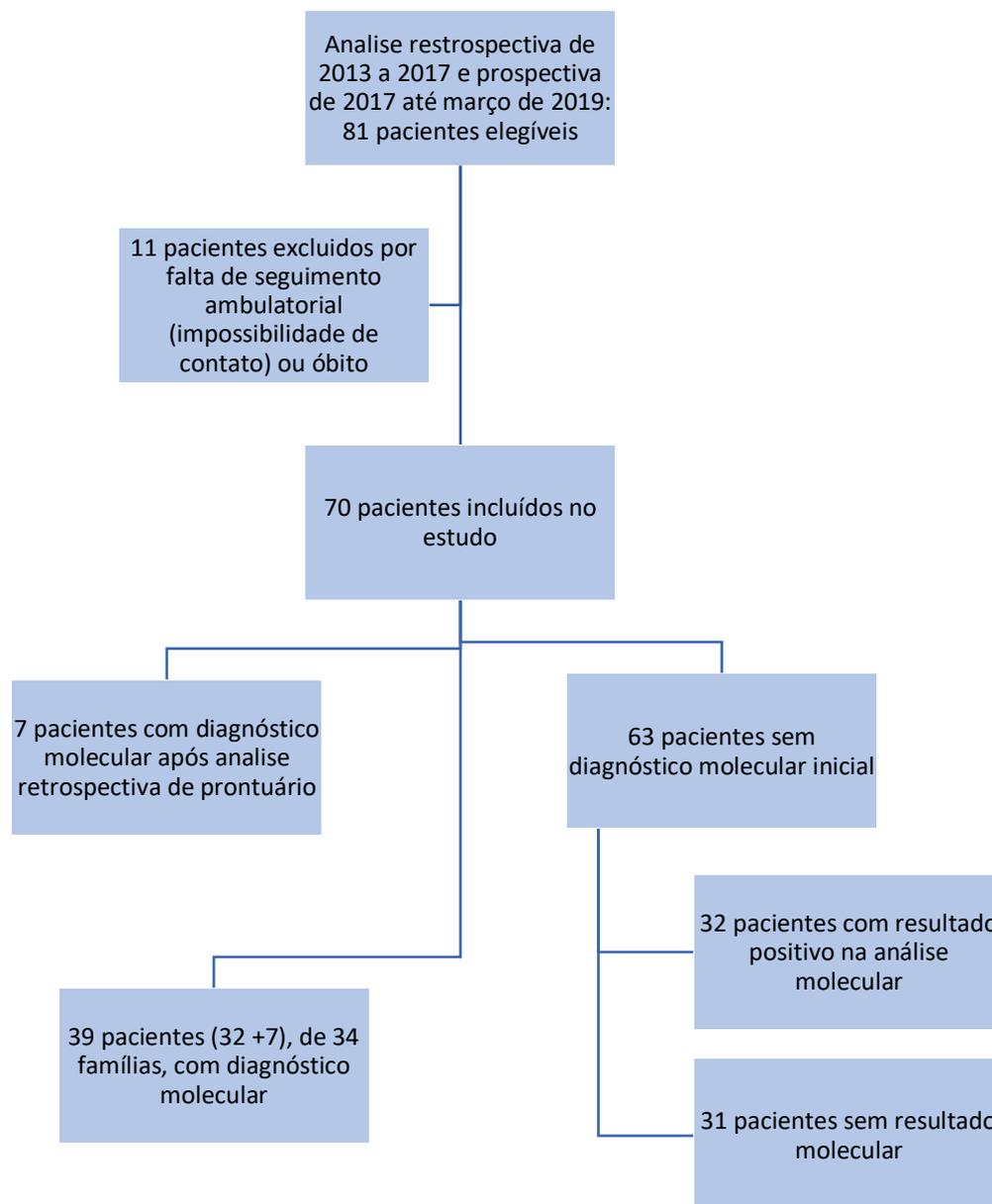


Figura 2 - Fluxograma de inclusão de pacientes no estudo

A Tabela 1 mostra as características clínicas dos pacientes com diagnóstico molecular, também sua distribuição em número percentual ou média (desvio padrão). Na Tabela também consta a distribuição dos diagnósticos firmados através da análise molecular e o percentual de distribuição de cada doença. A distribuição dos genes encontrados é apresentada no Figura 3.

Tabela 1 - Características clínicas da amostra

Variável	Valor
Idade de início	19 (12.6)
Mínimo	1
Máximo	50
Percentil 25	9.5
Mediana	18
Percentil 75	26
Idade de início – Categorizada	
Infância	12 (30.8%)
Adolescência	9 (23.0%)
Adulto	18 (46.2%)
Duração da doença (em anos)	22 (9.4)
Consanguinidade	22 (56.4%)
Caso isolado	16 (41.0%)
HSP não complicada	5 (12.8%)
Diagnóstico	
Complexo DFT/ELA (ELA familiar 3)	1 (2.6%)
Def Arginase	4 (10.2%)
SPG78	2 (5.1%)
SPG11	10 (25.6%)
SPG15	1 (2.6%)
SPG2	2 (5.1%)
SPG4	3 (7.7%)
SPG5A	3 (7.7%)
SPG7	5 (12.8%)
SPG76	3 (7.7%)
SPOAN	2 (5.1%)
Triplo A	1 (2.6%)
VWMD	1 (2.6%)
Xantomatose Cerebrotendínea	1 (2.6%)
Uso de dispositivo auxiliar	35 (92.1%)
Idade de início do uso	25 (13.1)
Duração do uso (em anos) até cadeirante exclusivo	6 (5.2)
Cadeirantes (exclusivo e não exclusivo)	21 (55.3%)
Idade em que necessitou cadeira de rodas	33 (14.9)
Tempo que é cadeirante (em anos)	15 (6.6)
Mini Mental – Estratificado por idade de início	
Infância (até 12 anos)	18.3 (6.0)
Adolescência (13 a 18 anos)	17.0 (5.2)
Adulto (acima de 18 anos)	22.0 (7.0)

continua

Tabela 1 - Características clínicas da amostra (conclusão)

Variável	Valor
Mini Mental – Estratificado por escolaridade	
Analfabeto	14.0 (NA)
Ensino fundamental completo	16.6 (7.7)
Ensino fundamental incompleto	15.0 (2.8)
Ensino médio completo	23.1 (5.0)
Ensino médio incompleto	26.0 (NA)
Ensino superior completo	28.0 (NA)
Ensino superior incompleto	NA (NA)
Pacientes em reabilitação	25 (65.8%)
Frequência semanal de reabilitação	
1	2 (8.0%)
2	19 (76.0%)
3	3 (12.0%)
4	1 (4.0%)
Ataxia cerebelar	21 (55.3%)
Síndrome extrapiramidal (Coréia, parkinsonismo, distonia)	11 (28.9%)
Síndrome bulbar	8 (21.1%)
Disartria	33 (86.8%)
Disfagia	24 (63.2%)
Neuropatia periférica	21 (55.3%)
Doença do neurônio motor inferior	3 (7.9%)
Presença de deformidades (artropatia de Charcot, cifose, escoliose, retrações tendíneas ou pés cavus)	15 (39.5%)
Epilepsia	2 (5.3%)

Valores mostrados como média (desvio padrão) ou N (%)

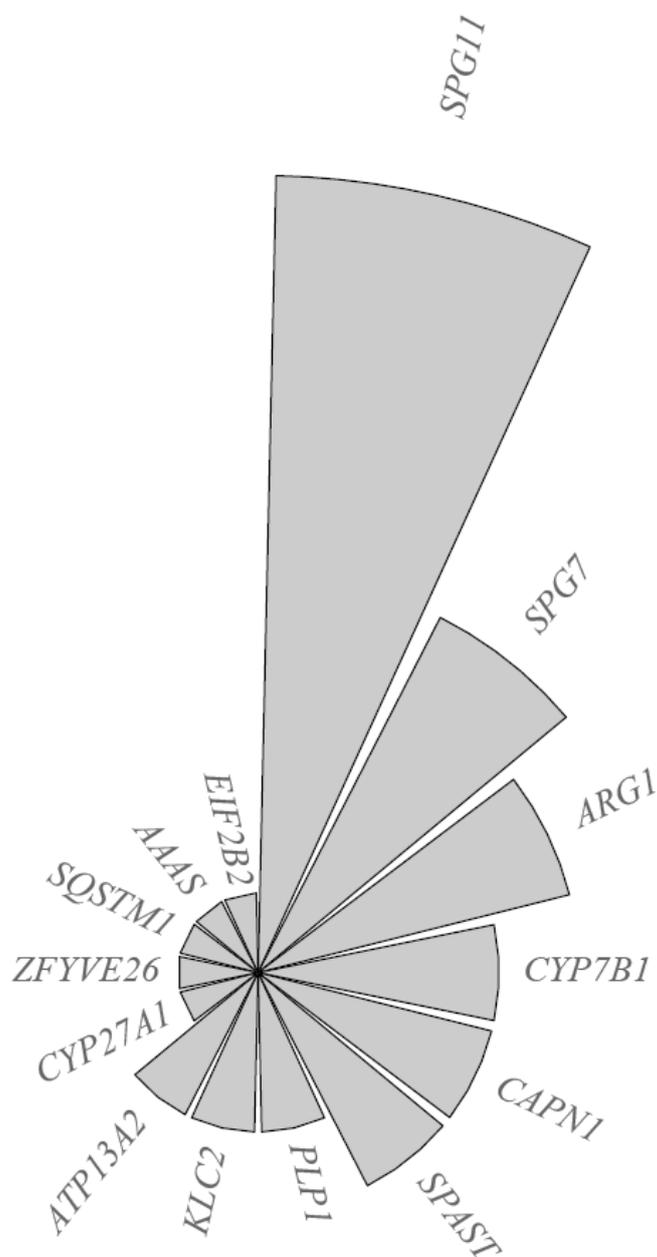


Figura 3 - Genes identificados na amostra

As características sociodemográficas da amostra são apresentadas na Tabela 2, evidenciando a distribuição das variáveis em número percentual ou média (desvio padrão).

Tabela 2 - Características sociodemográficas da amostra (N = 39)

Variável	Valor
Idade	41.4 (11.8)
Sexo masculino	22 (56.4%)
Etnia autodeclarada	
Branca	26 (66.7%)
Pardo	13 (33.3)
Escolaridade	
Analfabeto	4 (10.3%)
Ensino fundamental completo	6 (15.4%)
Ensino fundamental incompleto	12 (30.8%)
Ensino médio completo	12 (30.8%)
Ensino médio incompleto	1 (2.6%)
Ensino superior completo	3 (7.7%)
Ensino superior incompleto	1 (2.6%)
Profissão	
Gerente administrativo	1 (2.6%)
Agricultor	1 (2.6%)
Assistente administrativo	4 (10.3%)
Assistente geral	1 (2.6%)
Digitador	1 (2.6%)
Do lar	3 (7.7%)
Metalúrgico	1 (2.6%)
Não trabalha	21 (53.8%)
Operador de gráfica	2 (5.1%)
Operadora de caixa	1 (2.6%)
Policia militar	1 (2.6%)
Radialista	1 (2.6%)

Valores mostrados como média (desvio padrão) ou N (%)

Foi aplicado, como parte da avaliação deste estudo, a escala de funcionalidade para pacientes com HSP, denominada escala SPRS (versão traduzida para o Português). Os resultados estratificados da SPRS segundo características selecionadas são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - SPRS segundo características selecionadas

Variável	Média (Desvio Padrão)	Valor p
Idade de início		
Infância	32.5 (8.9)	0.50
Adolescência	30.5 (10.5)	
Adulto	28.2 (8.9)	
Sexo		
Masculino	28.9 (9.4)	0.445
Feminino	31.4 (9.1)	
Escolaridade		
Analfabeto	33.0 (7.6)	0.085
Ensino fundamental incompleto	34.5 (7.0)	
Ensino fundamental completo	31.6 (9.5)	
Ensino médio incompleto	18.0 (NA)	
Ensino médio completo	25.9 (8.7)	
Ensino superior incompleto	13.0 (NA)	
Ensino superior completo	29.0 (15.6)	
Consanguinidade		
Sim	29.8 (10.3)	0.816
Não	30.5 (7.4)	
HSP Não complicada		
Sim	30.5 (13.4)	0.945
Não	30.0 (9.2)	
Uso de dispositivo auxiliar		
Sim	29.9 (8.7)	0.705
Não	32.5 (20.5)	
Cadeira		
Sim	33.9 (8.0)	0.002
Não	24.4 (8.0)	
Ataxia cerebelar		
Sim	27.7 (9.6)	0.059
Não	33.6 (7.6)	

continua

Tabela 3 - SPRS segundo características selecionadas *(conclusão)*

Variável	Média (Desvio Padrão)	Valor p
Síndrome extrapiramidal		
Sim	30.4 (8.7)	0.896
Não	29.9 (9.6)	
Síndrome bulbar		
Sim	34.6 (11.4)	0.111
Não	28.7 (8.2)	
Disartria		
Sim	29.4 (9.3)	0.214
Não	35.5 (6.8)	
Disfagia		
Sim	30.1 (9.1)	0.979
Não	30.0 (9.7)	
Neuropatia periférica		
Sim	31.6 (9.3)	0.224
Não	27.7 (8.8)	
Doença do neurônio motor inferior		
Sim	36.0 (6.6)	0.248
Não	29.5 (9.3)	
Deformidades		
Sim	31.1 (9.2)	0.622
Não	29.5 (9.4)	
Epilepsia		
Sim	23.0 (NA)	0.445
Não	30.3 (9.3)	

Valores exibidos como média (DP), Teste T ou One-Way ANOVA usados para comparar médias

Foi realizado ainda análise descritiva dos principais achados de imagem, através de ressonância magnética, cujo resultado é apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Anormalidades em ressonâncias magnéticas dos pacientes

Variável	Valor
Corpo caloso afilado	11 (28,9%)
Leucodistrofia	3 (7,9%)
Acúmulo de ferro	1 (2,6%)
Atrofia de cerebelo	2 (5,3%)
Atrofia difusa	6 (15,8%)
Hipersinal subcortical	1 (2,6%)
Afilamento de medula cervical	1 (2,6%)

Valores mostrados como N (%)

Com finalidade didática, as variantes patogênicas foram divididas em 3 grupos segundo mecanismo envolvido. O Grupo 1 inclui as variantes que levam a perda de função da proteína, tais como *frameshift*, *nonsense*, *start loss*, as variações em número de cópias (CNV) e as deleções *inframe* e as que afetam sítios de *splicing*. No Grupo 2 foram incluídas as variantes patogênicas cujo função no produto proteico final é desconhecida, podendo ser perda ou ganho de função, nesse grupo foram incluídas as variantes patogênicas *missense* e, finalmente, no Grupo 3 foram consideradas as variantes patogênicas com ganho de função que, no caso deste estudo, foi incluída as variantes patogênicas em região regulatória.

Seguindo esta distribuição a Tabela 5 apresenta as características genéticas da amostra, incluindo percentual de distribuição dos genes, padrão de herança, qual método de análise molecular foi realizado, consanguinidade e distribuição por grupos.

Tabela 5 - Características genéticas da amostra (N = 39)

Variável	Valor
Consanguinidade	22 (56.4%)
Herança	
Autossômica dominante	3 (7.7%)
Autossômica recessiva	34 (87.2%)
Ligada ao X	2 (5.1%)
Método usado no exame molecular	
NGS Exoma	35 (89.7%)
Sequenciamento Sanger	4 (10.3%)
Gene	
AAAS	1 (2.6%)
ARG1	4 (10.2%)
ATP13A2	2 (5.1%)
CAPN1	3 (7.7%)
CYP27A1	1 (2.6%)
CYP7B1	3 (7.7%)
EIF2B2	1 (2.6%)
KLC2	2 (5.1%)
PLP1	2 (5.1%)
SPAST	3 (7.7%)
SPG11	10 (25.6%)
SPG7	5 (12.8%)
SQSTM1	1 (2.6%)
ZFYVE26	1 (2.6%)
Grupo da mutação (n. de alelos)	
Grupo 1	44 (60.3%)
Grupo 2	25 (34.2%)
Grupo 3	4 (5.5%)

Valores mostrados como média (desvio padrão) ou N (%)

Foi também considerado na distribuição dos grupos acima pacientes com variantes monoalélicas e pacientes com variantes bialélicas. A distribuição de cada caso é apresentada na Tabela 6 onde também foi avaliado a distribuição de ocorrências em conjunto em cada grupo.

Tabela 6 - Variantes patogênicas da amostra

Monoalélico (N = 5)		Bialélico (N = 34)	
Variante patogênica	Variante única	Variante 1	Variante 2
Grupo 1	3 (60.0%)	21 (61.8%)	20 (58.8%)
Grupo 2	2 (40.0%)	11 (32.4%)	12 (35.3%)
Grupo 3	0 (0.0%)	2 (5.9%)	2 (5.9%)

Dados apresentados como N (%)

Na análise estatística inferencial foi encontrado relação entre o corpo caloso afilado e o grau da escala SPRS conforme apresentado na Tabela 7. Também foi considerado na análise estratificada, arbitrariamente, pacientes classificados como grave os que pontuaram mais de 30 pontos na escala SPRS (versão brasileira) e como não grave os que pontuaram menos que 30 pontos, sendo o resultado apresentado na Tabela 8.

Tabela 7 - SPRS estratificada pela presença de corpo caloso afilado

Variável	Média (Desvio Padrão)	Valor p
Corpo Caloso Afilado		0.001
Sim	37.30 (6.83)	
Não	27.16 (8.48)	

Valores exibidos como média (DP), Teste T usado para comparar médias

Tabela 8 - SPRS categorizado estratificado pela presença de corpo caloso afilado

Variável	Grave (N = 15)	Não Grave (N = 20)	Valor p
Corpo Caloso Afilado	8 (53.3%)	2 (10.0%)	0.008

Valores exibidos como n (%), teste exato de Fisher usado para comparar proporções

A Figura 4 evidencia os achados acima descritos.

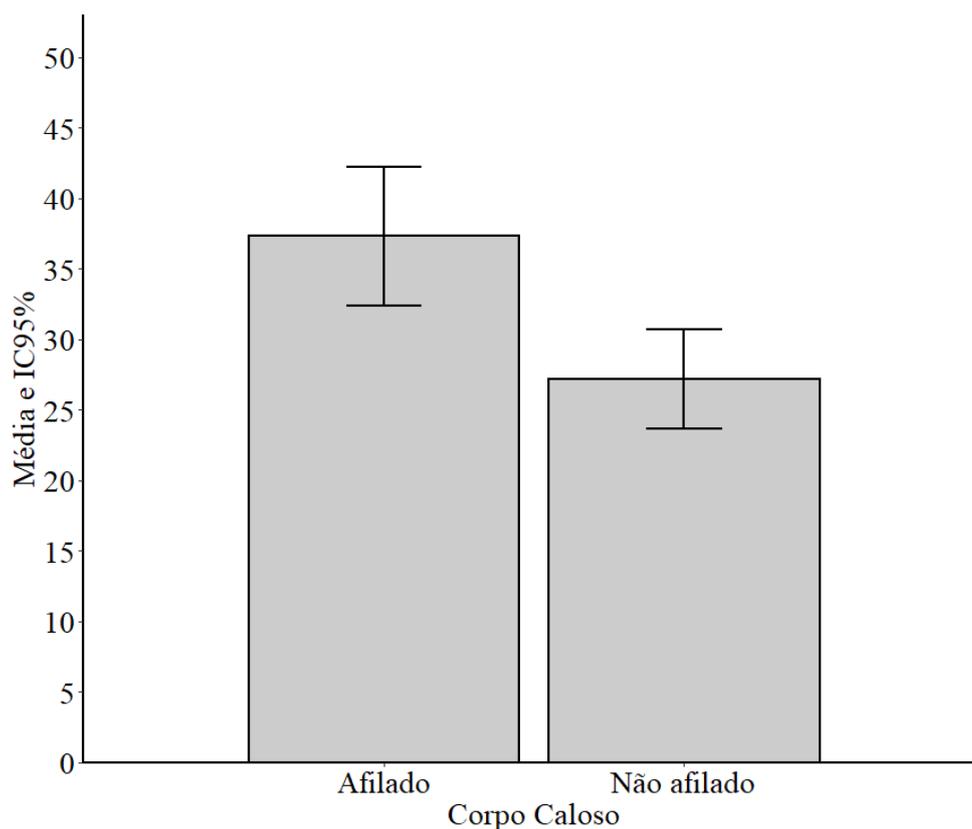


Figura 4 - Última SPRS (média e IC 95%) segundo a presença de corpo caloso afilado

Como exemplo dos achados de neuroimagem dos pacientes com diagnóstico molecular deste estudo, é apresentado o achado clássico de afilamento de corpo caloso encontrado na SPG11 também na composição de imagem pode ser visto o chamado sinal da “Orelha de Lince” (Figura 5). Na sequência, é apresentada imagem de paciente com diagnóstico de SPG5A com alterações de imagem que, anterior ao diagnóstico, foram identificadas como possíveis lesões de natureza desmielinizante (paciente foi tratada como portadora de esclerose múltipla) (Figura 6). Também é apresentado achado de imagem do paciente com diagnóstico molecular de síndrome de Kuffor-Rakeb (SPG78) (Figura 7) e achados classicamente descritos em pacientes com variantes patogênicas em *PLP1* (SPG2), onde é possível identificar alterações

de substância branca periventriculares e ligeiro afilamento de corpo caloso (Figura 8).

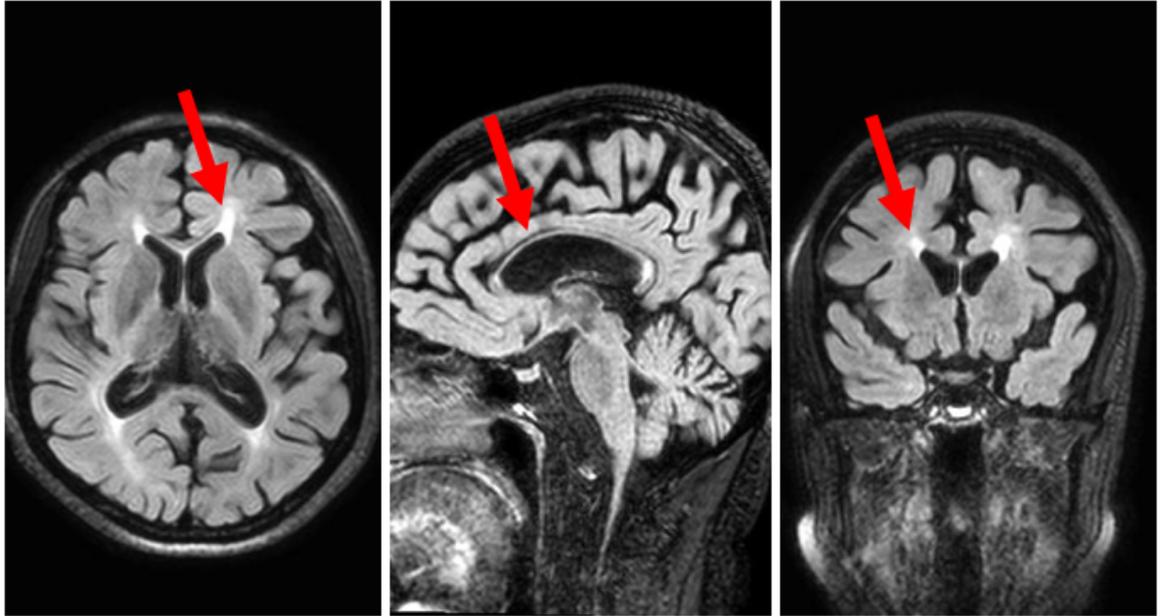


Figura 5 - Sinal da "orelha de lince" e corpo caloso afilado (setas) em paciente com SPG11 confirmada neste estudo

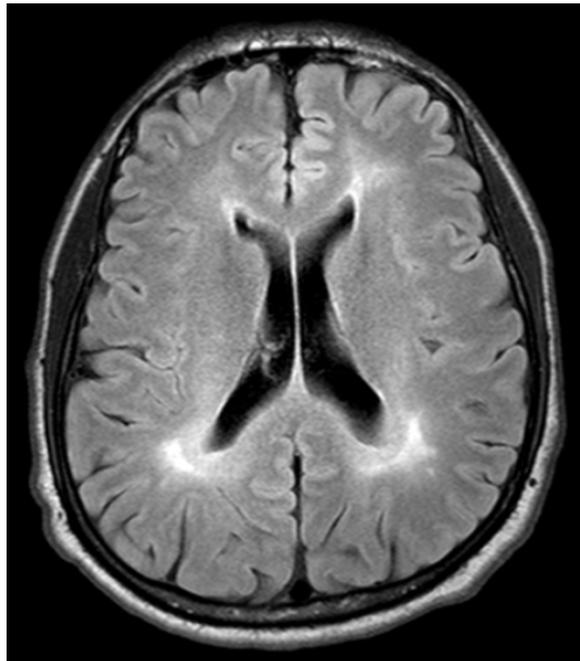


Figura 6 - Ressonância magnética de encéfalo (sequência FLAIR) de paciente deste estudo com diagnóstico de SPG5A, evidenciando as alterações de substância branca periventriculares, comumente confundidas com lesões de substrato desmielinizantes

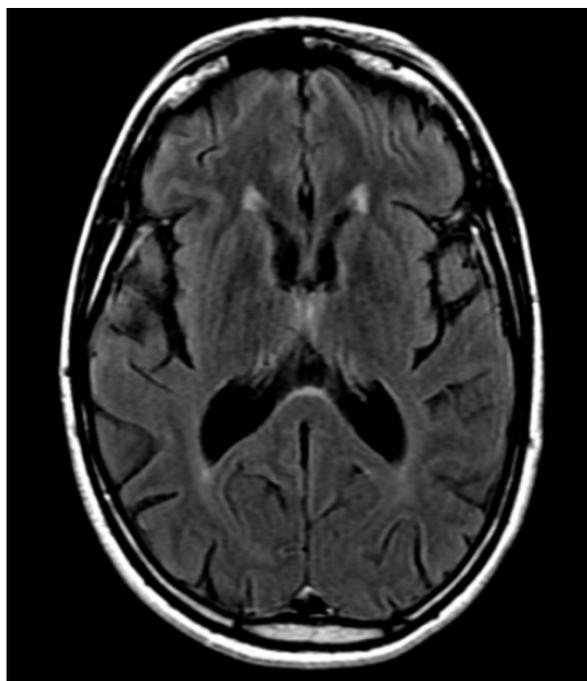


Figura 7 - Ressonância magnética de encéfalo (sequencia FLAIR) de paciente com diagnóstico molecular de Síndrome de Kuffor-Rakeb (SPG78) evidenciando atrofia do globo pálido externo e interno

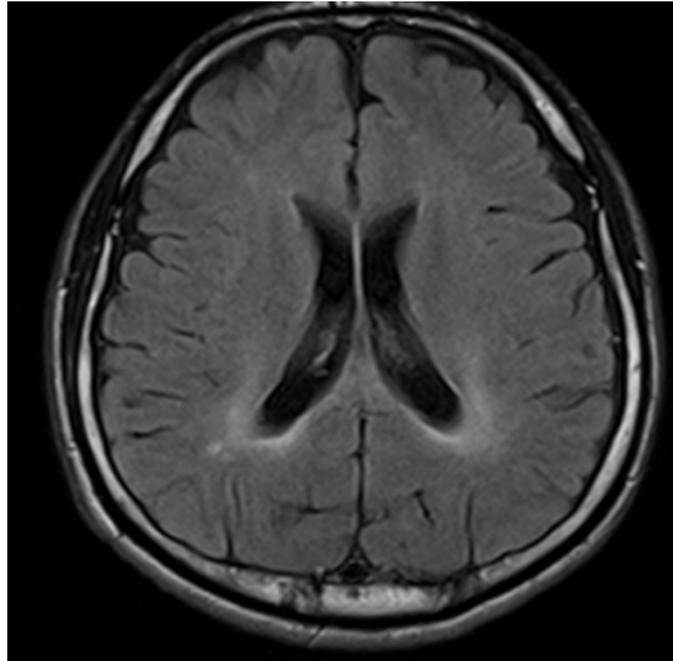


Figura 8 - Ressonância magnética de encéfalo (sequência FLAIR) de paciente deste estudo com diagnóstico de SPG2, evidenciando leucopatia periventricular bilateral simétrica, achado de imagem comumente encontrado

No presente estudo também foi identificado um paciente com síndrome triplo A que apresentava paraplegia crural espástica, acompanhada de disartria com padrão piramidal e polineuropatia sensitivo-motora mista (axonal e desmielinizante), além de acalasia e alacrimia, porém sem alterações clínicas ou laboratoriais sugestivas de doença de Addison.

Um dos pacientes incluídos nesta pesquisa foi diagnosticado com variante bialélica em *SQSTM1* e tinha como manifestação clínica quadro paraparético complicado, de início ao redor dos 50 anos, acompanhado de leve comprometimento cerebelar apendicular, mas sem alterações clínicas na motilidade ocular extrínseca e sem evidências de comprometimento do neurônio motor inferior e, também, sem comprometimento cognitivo. Neste caso uma investigação adicional com eletroneuromiografia de 4 membros e da língua não evidenciou comprometimento de ponta anterior e ressonância magnética de

encéfalo com a sequência de transferência de magnetização mostrou comprometimento dos primeiros neurônios motores. O quadro foi interpretado como expansão de fenótipo.

Seguindo um dos objetivos secundários deste estudo, que seria determinar novas entidades ainda não classificadas ou descritas, foi identificada uma possível nova forma de apresentação de HSP relacionada a variante bialélica em homozigose em *EEFSEC* em um indivíduo incluído no estudo, contudo, não computado como resultado positivo.

A selenocisteína (Sec), aminoácido proveniente da modificação de cisteína, é um resíduo crítico em pelo menos 25 proteínas humanas essenciais para a defesa antioxidante e a sinalização redox nas células. Sec é inserido nas proteínas durante a tradução pela recodificação de um códon de término da tradução UGA para um códon Sec. Nos eucariotos, esse evento de recodificação requer vários fatores especializados, incluindo um fator de alongamento específico e específico para Sec chamado eEFSec, que liga o Sec-tRNA^{Sec} com alta especificidade e o entrega ao ribossomo para produção de selenoproteína. Ao contrário da maioria dos fatores de tradução, o eEFSec é encontrado rapidamente no núcleo das células de mamíferos e nas vias existentes entre os compartimentos citoplasmático e nuclear. O significado funcional da localização nuclear do eEFSec permanece incerto. Acredita-se que existam dois conjuntos distintos de eEFSec na célula, onde o pool citoplasmático participa da incorporação de Sec e o pool nuclear pode estar envolvido em uma função ainda desconhecida (Dubey *et al*, 2016).

Em análise colaborativa com grupo de pesquisa da Universidade de Londres, acreditamos que a variante patogênica deste gene pode ser responsável por uma forma ainda não descrita de HSP. Até o momento da redação final deste texto, encontra-se em curso um estudo de análise funcional visando determinar a hipótese levantada.

Até o momento final da escrita desta tese, encontra-se em ajustes finais texto científico relatando a expansão de fenótipo do gene *SQSTM1* e, já submetido para publicação, uma série de casos de variantes patogênicas em *ARG1*, sugerindo uma reclassificação da doença como uma forma distinta de HSP complicada.

Os artigos já publicados, fruto desta tese, assim como o capítulo de livro escrito pelo autor podem ser encontrados como segue:

1. A identificação de pacientes deste estudo com mutação no gene *PLP1*, em colaboração com estudo adicional de leucoencefalopatias desta mesma instituição e colaboração internacional com grupo de estudos de leucoencefalopatias hereditárias, culminou com publicação de artigo científico intitulado “*Clinical and genetic characterization of leukoencephalopathies in adults*” (DOI: 10.1093/brain/awx045).
2. Artigo foi publicado relatando novas variantes patogênicas em *CAPN1* além de relato também dos achados clínicos de uma série de casos. “*Clinical aspects of hereditary spastic paraplegia 76 and novel CAPN1 mutations*” (DOI: 10.1111/cge.13428).
3. Artigo relata imagem de paciente, diagnosticado neste estudo com SPG11, apresentando grave afilamento de corpo caloso. “*Brain or*

spinal cord MRI in the investigation of hereditary spastic paraplegia? Brain first!” (DOI: 10.4103/0028-3886.284384).

4. Uma série de casos de HSP de início na infância foi publicado, através de estudo colaborativo com outros centros de neurogenética. “*Clinical and molecular characterization of a large cohort of childhood onset hereditary spastic paraplegias*” (DOI: 10.1038/s41598-021-01635-2).
5. Capítulo “Paraparesias espásticas hereditárias” do livro “Neurologia – Manual do médico residente do Hospital das Clínicas da faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021”.
6. Submetido para publicação artigo relatando uma série de casos de deficiência de arginase, sugerindo classificação desta doença como uma forma complicada de HSP.

As Tabelas 9 e 10 mostram, respectivamente, um resumo dos achados clínicos e genéticos dos pacientes incluídos nesta tese. Na Tabela 9 é possível verificar os dados demográficos e achados semiológicos de cada caso positivo e na Tabelas 10 é possível verificar as variantes patogênicas identificadas em cada paciente incluído com sua respectiva classificação.

Tabela 9 - Resumo dos achados clínicos

Indivíduo	Nascimento	Sexo	Etnia	Escolaridade	Início dos Sintomas [^]	Consanguinidade?	Caso Isolado?	Tipo HSP	Diagnóstico	Escala SPRS na última avaliação	Idade da última SPRS [^]	Utiliza dispositivo auxiliar?	Idade de início dispositivo auxiliar [^]	Cadeirante?	Idade de início cadeirante [^]	Último MEEM	Quadro clínico	Em reabilitação?	Achados de neuroimagem
1	14/04/1954	M	Branca	Ensino médio completo	27	N	S	não complicada	SPG4	NC	NC	S	30	N	NA	NC	7	N	
2	07/04/1954	M	Branca	Ensino superior completo	30	N	N	não complicada	SPG4	40	64	S	48	S	60	NC	4,6,7	S	
3	18/08/1972	M	Branca	Ensino médio completo	18	N	N	não complicada	SPG4	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
4	22/02/1986	M	Branca	Ensino médio completo	20	S	N	complicada	Tripla A Def Arginase	12	47	S	25	N	NA	26/30	1,3,4,5,6	S	
5 - I	02/02/1975	F	Parda	Analfabeto	1	S	N	complicada	Def Arginase	40	43	S	4	S	12	NC	1,3,4,5	N	
5 - II	03/05/1991	F	Parda	Analfabeto	2	S	N	complicada	Def Arginase	25	28	S	5	S	10	NC	1,4,5	N	
6	11/05/1977	F	Branca	Ensino médio completo	9	S	N	complicada	Def Arginase	41	41	S	14	S	20	23/30	1,4,5,6,7	S	1
7	18/08/1994	M	Branca	Ensino fundamental incompleto	4	S	S	complicada	Def Arginase	23	23	S	20	N	NA	16/30	1,4,5,6,8	S	
8	17/01/1978	M	Branca	Analfabeto	25	S	S	complicada	SPG78	39	36	S	29	S	33	14/30	1,2,4,6	N	5
9	21/09/1983	F	Branca	Ensino fundamental incompleto	17	S	S	complicada	SPG78	26	30	S	26	S	31	18/30	2,4,5,6	N	4,5,6
10	21/10/1980	F	Branca	Ensino médio completo	22	S	S	não complicada	SPG76	21	37	S	35	N	NA	29/30	7	S	
11 - I	20/11/1970	F	Parda	Ensino fundamental completo	20	N	N	complicada	SPG76	23	47	S	35	S	47	NC	1,4	S	
11 - II	25/02/1965	M	Parda	Ensino fundamental incompleto	35	N	N	complicada	SPG76	28	53	S	38	N	NA	NC	1,4	S	
12	05/01/1972	M	Branca	Ensino fundamental incompleto	30	S	S	complicada	CTX	36	44	S	36	S	40	12/30	1,4,7	S	6
13	29/12/1980	M	Branca	Ensino medio completo	19	S	N	complicada	SPG5A	17	38	S	22	S	37	NC	1,4,5	N	

continua

Tabela 9 - Resumo dos achados clínicos (continuação)

Indivíduo	Nascimento	Sexo	Etnia	Escolaridade	Início dos Sintomas [^]	Consanguinidade?	Caso Isolado?	Tipo HSP	Diagnóstico	Escala SPRS na última avaliação	Idade da última SPRS [^]	Utiliza dispositivo auxiliar?	Idade de início dispositivo auxiliar [^]	Cadeirante?	Idade de início cadeirante [^]	Último MEEM	Quadro clínico	Em reabilitação?	Achados de neuroimagem
14	18/01/1972	F	Branca	Ensino médio completo	29	S	N	complicada	SPG5A	26	46	S	31	S	45	26/30	1,4,5,6,7	N	3,5
15	18/08/1988	F	Branca	Ensino superior completo	10	S	S	complicada	SPG5A	18	29	S	28	N	NA	28/30	1,4,5,7	S	
16	23/02/1983	F	Parda	Ensino fundamental completo	13	N	N	complicada	VWMD	47	37	N	NA	S	29	8/30	3,4,5	N	1,2,3
17 - I	16/06/1986	M	Branca	Ensino fundamental incompleto	2	S	N	complicada	SPOAN	37	32	S	4	S	20	NC	6,9	S	
17 - II	21/01/1985	F	Branca	Ensino fundamental incompleto	2	S	N	complicada	SPOAN	42	33	S	5	S	18	NC	6,9	S	
18 - I	23/10/1984	M	Parda	Ensino fundamental incompleto	17	N	N	complicada	SPG11	27	33	S	18	N	NA	14/30	2,4,5,10	S	1,2
18 - II	16/11/1983	M	Parda	Ensino fundamental incompleto	13	N	N	complicada	SPG11	40	34	S	15	N	NA	18/20	1,2,4,5,6,10	S	1,2
19	28/12/1973	M	Branca	Ensino médio completo	33	N	S	complicada	SPG11	29	49	S	40	S	45	16/30	2,4,5,6,9	S	
20	07/08/1993	F	Parda	Ensino fundamental completo	12	N	S	complicada	SPG11	NC	NC	S	27	N	NA	15/30	4,5,8	N	1,2
21	09/09/1981	M	Branca	Ensino fundamental incompleto	7	N	S	complicada	SPG11	33	39	S	18	S	30	12/30	4,5,6	S	1,2
22	19/03/1993	F	Branca	Ensino médio completo	17	N	N	complicada	SPG11	28	26	S	22	N	NA	19/30	3,4,5,6,7,10	S	
23 - I	19/07/1977	F	Parda	Ensino fundamental incompleto	23	S	N	complicada	SPG11	38	42	S	26	S	37	NC	2,3,4,5,6,7	N	1,2,5

continua

Tabela 9 - Resumo dos achados clínicos (conclusão)

Indivíduo	Nascimento	Sexo	Etnia	Escolaridade	Início dos Sintomas [^]	Consanguinidade?	Caso Isolado?	Tipo HSP	Diagnóstico	Escala SPRS na última avaliação	Idade da última SPRS [^]	Utiliza dispositivo auxiliar?	Idade de início dispositivo auxiliar [^]	Cadeirante?	Idade de início cadeirante [^]	Último MEEM	Quadro clínico	Em reabilitação?	Achados de neuroimagem
23 - II	09/07/1971	F	Parda	Ensino fundamental incompleto	22	S	N	complicada	SPG11	40	40	S	26	S	30	NC	2,3,4,5,6,7	N	1,2,5
24	19/08/1996	M	Branca	Ensino fundamental completo	18	N	S	complicada	SPG11	26	24	S	21	N	NA	17/30	6	S	1,2
25	12/02/1999	F	Branca	Ensino médio completo	15	S	S	complicada	SPG11	37	21	S	16	N	NA	25/30	6	N	1,2
26	19/03/1956	M	Branca	Ensino fundamental completo	50	S	N	complicada	SPG7	34	64	S	57	S	62	14/30	1,2,4,5	S	
27	20/11/1965	F	Branca	Ensino médio completo	40	N	N	complicada	SPG7	22	52	S	48	N	NA	28/30	1,2,4,5,6,10	S	5
28	19/11/1965	F	Branca	Ensino fundamental completo	34	S	N	complicada	SPG7	28	52	S	40	S	44	29/30	1,4,5,6,7	S	7
29	28/08/1986	M	Branca	Ensino superior completo	23	N	S	não complicada	SPG7	NC	NC	N	NA	N	NA	NC	4,7	S	
30	08/10/1993	M	Branca	Ensino superior incompleto	18	S	N	complicada	SPG7	13	24	S	19	N	NA	NC	1,2,4,6	S	
31	14/11/1962	M	Branca	Ensino médio incompleto	50	S	S	complicada	ALS3	18	53	N	NA	N	Na	26/30	1,4,7	S	
32	18/08/1988	M	Parda	Ensino fundamental incompleto	7	S	N	complicada	SPG15	44	30	S	18	S	30	NC	1,3,4,5,6,7	S	1,2
33	23/01/1986	M	Parda	Analfabeto	5	N	S	complicada	SPG2	28	30	S	15	N	NA	NC	1,3,4,5,6	N	
34	22/03/1988	M	Parda	Ensino médio completo	4	N	S	complicada	SPG2	26	30	S	4	S	9	16/30	1,2,4,5,7	S	3,7

Quadro clínico: 1 - Ataxia cerebelar / 2- Distúrbio do Movimento / 3- Sintomas bulbares / 4- Disartria / 5- Disfagia / 6- Neuropatia periférica* / 7- Deformidades*** / 8- Epilepsia / 9- Doença do neurônio motor / 10 – Disautonomia

Achados de neuroimagem: 1- Afilamento de corpo caloso / 2- Sinal da orelha de Lince / 3- Leucodistrofia / 4- Acúmulo de ferro cerebral / 5- Atrofia difusa / 6- Atrofia ou alteração de sinal núcleos da base / 7 - Atrofia de cerebelo

Legenda: NC: não consta; NA: não se alicia; CTX: Xantomatose cerebrotendínea; CNV: variação de número de cópias; VUS: variante de significado incerto; P: patogênico; LP: provavelmente patogênico; PMID: PubMed Identificador; NGS: Sequenciamento de nova geração

* Foi considerado neuropatia periférica exame clínico compatível ou a presença de eletroneuromiografia evidenciando o quadro

** Foi considerado deformidade: pés cavus; pé equino; cifose; escoliose; artropatia de Charcot e retrações tendíneas

[^] medida em anos

Tabela 10 - Resumo dos achados moleculares

Caso	Herança	Gene	Transcrito ENST	Variante 1							Variante 2							Método de análise e local
				Posição cromossômica (GRCh37)	Variante 1	Produto protéico	Tipo	ACMG	ClinVar	PMID	Posição cromossômica (GRCh37)	Variante 2	Produto protéico	Tipo	ACMG	ClinVar	PMID	
1	AD	SPAST	00000315285	2: 32361677 C>T	c.1291C>T	p.Arg431*	Ns	P	188179	31594988		NC	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
2	AD	SPAST	00000315285	2:32362232 CAA>C	c.1469_1470del	p.Gln490Argfs*3	Fs	P	801663	NC		NC	NA	NA	NA	NA	NGSEB	
3	AD	SPAST	00000315285	NC	Duplicação dos exons 10 a 12	p.?	CNV	P	NC	17895902		NC	NA	NA	NA	NA	SB	
4	AR	AAAS	00000209873	12: 53702802 A>G	c.938T>C	p.Val313Ala	Ms	LP	202169	12752575		Homozigose	NA	NA	NA	NA	SB	
5 - I	AR	ARG1	00000368087	6: 131902457 C>T	c.428C>T	p.Thr135Ile	Ms	P	802268	29726057		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
5 - II	AR	ARG1	00000368087	6: 131902457 C>T	c.428C>T	p.Thr135Ile	Ms	P	802269	29726057		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
6	AR	ARG1	00000368087	6: 131894425 G>A	c.3G>A	p.Met1?	SI	P	645245	22959135		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
7	AR	ARG1	00000368087	6: 131902457 C>T	c.428C>T	p.Thr135Ile	Ms	P	802268	29726057		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
8	AR	ATP13A2	00000326735	1:17328599 C>T	c.636-1G>A	p.?	Sp	P	NC	NC		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
9	AR	ATP13A2	00000326735	1: 17322503 G>C	c.1495G>C	p.Gly504Arg	Ms	LP	1221	17485642		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
10	AR	CAPN1	00000279247	11: 64972164 G>A	c.1176G>A	p.Trp392*	Ns	P	802687	33486633		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
11 - I	AR	CAPN1	00000279247	11:64953725 C>A	c.675C>A	p.Tyr225*	Ns	P	NC	NC		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
11 -II	AR	CAPN1	00000279247	11:64953725 C>A	c.675C>A	p.Tyr225*	Ns	P	NC	NC		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
12	AR	CYP27A1	00000258415	2: 219647146A>G	c.245A>G	p.His81Arg	Ms	VUS	NC	NC		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
13	AR	CYP7B1	00000310193	8:65528273 A>T	c.825T>A	p.Tyr275*	Ns	P	6105	28832565		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
14	AR	CYP7B1	00000310193	8:65528273 A>T	c.825T>A	p.Tyr275*	Ns	P	6106	28832565		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
15	AR	CYP7B1	00000310193	8: 65517396 G>T	c.1076C>A	p.Ala359Asp	Ms	VUS	NC	NC	8: 65528273 A>T	c.825T>A	p.Tyr275*	Ns	P	6105	28832565	NGSEL
16	AR	EIF2B2	00000266126	14:75471499 A>G	c.473A>G	p.Ile165Val	Ms	VUS	NC	NC	14:75471490 A>T	c.484A>	p.Asn162Tyr	Ms	VUS	NC	NC	NGSEL
17 - I	AR	KLC2	00000417856	NC	c.-451_-235del	p.?	Del	P	NC	NC		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
17 -II	AR	KLC2	00000417856	NC	c.-451_-235del	p.?	Del	P	NC	NC		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
18 - I	AR	SPG11	00000535302	15:44859617C>CTC	c.6754+3_6754+4dup	p.?	Sp	P	534883	26556829	15:44941193CAG>C	c.1471_1472del	p.Leu491Aspfs*66	Fs	P	41273	27217339	NGSEL
18 -II	AR	SPG11	00000535302	15:44859617C>CTC	c.6754+3_6754+4dup	p.?	Sp	P	534883	26556829	15:44951410 AAATAT>A	c.1471_1472del	p.Leu491Aspfs*67	Fs	P	41274	27217339	NGSEL
19	AR	SPG11	00000535302	15: 44951272G>A	c.667+5C>T	p.?	Sp	P	466560	17576681		c.529_533del	p.Ile177fs	Fs	P	1110	26556829	NGSEL

Tabela 10 - Resumo dos achados moleculares (conclusão)

Caso	Herança	Gene	Transcrito ENST	Variante 1							Variante 2							Método de análise e local
				Posição cromossômica (GRCh37)	Variante 1	Produto protéico	Tipo	ACMG	ClinVar	PMID	Posição cromossômica (GRCh37)	Variante 2	Produto protéico	Tipo	ACMG	ClinVar	PMID	
20	AR	SPG11	00000535302	15:44865850 G>A	c.6100C>T	p.Arg2034*	Ns	P	1109	27959697		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
21	AR	SPG11	00000535302	15:44865850 G>A	c.6100C>T	p.Arg2034*	Ns	P	1109	27959697		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
22	AR	SPG11	00000535302	15:44914417 C>T	c.2444+1G>C	p.?	Sp	P	948762	NC		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
23-I	AR	SPG11	00000535302	NC	p.Asp244fs /x2	p.?	Fs	P	NC	NC		Homozigose	NA	NA	NA	NA	SB	
23-II	AR	SPG11	00000535302	NC	p.Asp244fs /x2	p.?	Fs	P	NC	NC		Homozigose	NA	NA	NA	NA	SB	
24	AR	SPG11	00000535302	15:44889140 AC>A	c.4002delG	p.Arg1334Serfs*12	Fs	P	NC	NC	15:44951410 AAATAT>A	c.529_533del	p.Ile177Serfs*2	Fs	P	1110	NC	NGSEL
25	AR	SPG11	00000535302	15:44889140 AC>A	c.4002delG	p.Arg1334Serfs*12	Fs	P	NC	NC		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
26	AR	SPG7	00000341316	16:89529489 GTG>G	c.773_774del	p.Val258Glyfs*30	Fs	P	504920	9635427		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
27	AR	SPG7	00000341316	16:89598499 G>GG	c.1075dupG	p.Ala359Glyfs*37	Fs	P	NC	NC	16:89620279 G>A	c.2014G>A	p.Gly672Arg	Ms	LP	533739	30747022	NGSEL
28	AR	SPG7	00000341316	16:89529489 GTG>G	c.773_774del	p.Val258Glyfs*30	Fs	P	504920	9635427	16:89620279 G>A	c.2014G>A	p.Gly672Arg	Ms	LP	533739	30747022	NGSEL
29	AR	SPG7	00000341316	NC	Deleção dos éxons 2 e 3	p.?	CNV	P	NC	NC	NC	c.1454_1462del	p.Arg485_Glu487del	In	P	411680	30533525	NGSEB
30	AR	SPG7	00000268704	16:89620279 G>A	c.2014G>A	p.Gly672Arg	Ms	P	533739	30747022		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
31	AR	SQSTM1	00000389805	5:179263547 C>T	c.1277C>T	p.Ala426Val	Ms	VUS	844068	NC		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
32	AR	ZFYVE26	00000347230	14:67783509CTAAGTGTGG C>C	c.3642_3643insCCACACTTAG	p.Ala1215Profs*22	Fs	P	989053	NC		Homozigose	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
33	LX	PLP1	00000395872	X:103041590 C>T	c.388C>T	p.His130Tyr	Ms	P	235599	NC		NC	NA	NA	NA	NA	NGSEL	
34	LX	PLP1	00000395872	X:103042890 T>G	c.617T>C	p.Met206Arg	Ms	P	496683	NC		NC	NA	NA	NA	NA	NGSEL	

Legenda: NC: não consta; NA: não se alica; CTX: Xantomatose cerebrotendínea; CNV: variação de número de cópias; VUS: variante de significado incerto; P: patogênico; LP: provavelmente patogênico; PMID: PubMed Identificador; NGS: Sequenciamento de nova geração; AR: Autossômico recessivo; AD: Autossômico dominante; LX: Ligado ao X; Ms: Missense; Ns: Nonsense; Fs: Frameshift; Sp: Sítio de Splicing; Sl: Start loss; In: Deleção Inframe; Del: Deleção em região regulatória; CNV: Variação de número de cópias; NGSEB: Exoma realizado no Brasil; NGSEL: Exoma realizado em Londres; SB: Sanger realizado no Brasil

6 Discussão

Em desacordo com a literatura vigente, na qual as HSP-AD compõe as formas mais frequentes em estudos populacionais, este estudo encontrou uma frequência muito maior de HSP-AR (87,2%) sendo que de todos os casos, 56,4% apresentavam consanguinidade parental. Dezesesseis pacientes (42%) foram casos isolados, sem recorrência familiar e apenas cinco pacientes (12,8%) apresentavam como manifestação clínica uma HSP não complicada. Do total de 39 pacientes com diagnóstico firmado, 22 eram do sexo masculino (56,4%) e a média de idade foi 41.1 anos +/- 11.8.

Quanto à idade de início, considerando início dos 0 aos 12 anos tendo sido categorizado como infância, dos 12 aos 17 categorizado como adolescência e acima dos 18 anos como adulto, os resultados foram próximos, somando 53,8% dos casos iniciando os sintomas entre 0 e 18 anos (infância e adolescência).

A escala SPRS foi avaliada de acordo com características específicas, como sexo, idade do paciente, a presença ou ausência de manifestações clínicas como ataxia, disartria, deformidades, neuropatia periférica, doença do neurônio motor inferior, deformidades, epilepsia, sintomas extrapiramidais, síndrome bulbar e disfagia, mas sem encontrar relação de agravamento do resultado da escala com estes sintomas. Foi visto, por outro lado, o que já seria esperado, que pacientes cadeirantes apresentam relação direta e

estatisticamente relevante com mais grave valor na escala SPRS. Tendo sido considerado ponto de corte como gravidade, valores acima de 30 pontos na escala SPRS traduzida para o português.

Nas HSPs complicadas, a manifestação clínica adicional mais prevalente foi a disartria, na qual 86,8% dos pacientes apresentavam tal achado, seguido de disfagia com 24 pacientes (63,2%), neuropatia periférica com 21 pacientes assim como ataxia cerebelar também com 21 pacientes (55,3%), presença de deformidades como artropatia de Charcot, cifose, escoliose, retrações tendíneas ou pés *cavus* em 15 pacientes (39,5%), distúrbios do movimento como coréia, parkinsonismo e distonia em 11 pacientes (28,9%), sintomas bulbares em 8 pacientes (21,1%), doença do neurônio motor inferior em 3 pacientes (7,9%) e, por fim, apenas 2 pacientes com epilepsia, computando 5,3% dos casos.

Ainda quanto às características clínicas, alguns pacientes conseguiam, funcionalmente, caminhar com apoio, mas, também, faziam uso de cadeira de rodas para algumas situações especiais. Estes pacientes foram computados tanto quanto a idade de início do uso do dispositivo auxiliar da marcha e tempo de duração, como também quanto à idade de início do uso da cadeira de rodas e o tempo de duração. Foi identificado que 35 dos 39 pacientes faziam uso de dispositivo auxiliar para a marcha (92,1%) e a idade média de início do uso de dispositivo auxiliar foi de 25 anos +/- 13.1. A duração média do uso de dispositivo auxiliar até tronar-se cadeirante exclusivo foi de 6 anos +/- 5.1. A quantidade de pacientes cadeirantes (exclusivos ou os não exclusivos, ou seja, que eventualmente utilizam dispositivo auxiliar) é de 21 pacientes (55,3%) e a idade média em que o paciente sentiu necessidade do uso de cadeira de rodas foi de

33 anos +/- 14.9 sendo o tempo médio de duração deste auxílio de 15 anos +/- 6.6.

Dos 39 pacientes diagnosticados, 21 não trabalhavam e, curiosamente, 1 dos pacientes era policial militar, atividade que requer esforço físico e bom condicionamento muscular, sendo que, este paciente em questão não sentia interferência da doença na prática de sua atividade laboral. Os demais, de modo geral, trabalhavam com ocupações que não exigiam grande esforço físico, como atividades administrativas e outra grande parte (53,8%) não exercia nenhuma atividade laboral.

De forma arbitrária e, apenas para tornar a compreensão mais didática, os tipos de variantes patogênicas foram subdivididas em grupos de acordo com a funcionalidade final do produto protéico, sendo o Grupo 1 as variantes patogênicas que geram perda de função da proteína, no Grupo 2 as variantes patogênicas cuja função do produto proteico final é desconhecida (nesse grupo foram incluídas todas as variantes *missense*) e, finalmente, no Grupo 3, a única variante patogênica deste estudo que gerou um ganho de função no produto protéico final sendo que nesse grupo foi incluído apenas os pacientes com variante patogênica em *KCL2*. A quantidade de alelos foi incluída em cada grupo, o Grupo 1 fez composição com o maior número de alelos (44 alelos, 60,3%), seguida do Grupo 2 com 25 alelos (34,2%) e o Grupo 3 com 4 alelos (5,5%)

O achado de corpo caloso afilado foi o mais prevalente nos quesitos de neuroimagem avaliadas, estando presente em 11 pacientes (28,9%), fato este convergente com os 10 pacientes diagnosticados com SPG11 e o único paciente com SPG15, uma vez que estas são as duas HSPs mais relacionadas ao

afilamento de corpo caloso. Na sequência de achados segue a atrofia difusa em 6 pacientes (15,8%), achados de substância branca compatível com leucodistrofia em 3 pacientes (7,9%), a atrofia exclusiva de cerebelo em 2 pacientes (5,3%) e, com resultados semelhantes, tendo sido encontrado em apenas 1 paciente cada achado (2,6% dos casos) segue o afilamento da medula cervical, o hipersinal subcortical não leucodistrófico e o acúmulo de ferro intracerebral.

Vinte e cinco pacientes incluídos no estudo (65,8%) estavam em processo de reabilitação sendo que 19 destes 25 pacientes (76%) realizavam reabilitação 2 vezes na semana e apenas 1 paciente (4%) realizava reabilitação 4 vezes na semana.

A análise inferencial entre a presença de corpo caloso afilado e gravidade do quadro motor pela escala SPRS é algo inédito e que deve ser mais bem explorado em estudos futuros. Apesar do desenho deste estudo não permitir análises de relação ou causais, este achado é algo relevante que deve ser mais bem avaliado, através de desenhos de estudo para essa finalidade, como um possível marcador de maior comprometimento motor em pacientes com HSP, o que é algo inédito na literatura médica atual.

Fomos surpreendidos com alguns resultados peculiares, em pacientes incluídos neste estudo, com fenótipo de paraparesia espástica hereditária mas que, classicamente, não seriam classificados como HSP ou apresentam *locus* de SPG.

Variantes patogênicas em *ARG1*, responsável pela deficiência de arginase, foram identificadas em 4 indivíduos, pertencentes a 3 famílias. Sabidamente

pacientes com hiperargininemia não tratados evoluem com declínio cognitivo e espasticidade e, apesar de não ser habitualmente considerada uma forma de HSP, seus sintomas e evolução clínica são condizentes com este diagnóstico, admitindo ser classificada como HSP complicada. Esta condição faz parte dos defeitos do ciclo da uréia, mas pode não cursar com elevação da amônia sérica, tal como ocorreu nos presentes casos. Um artigo científico sugerindo a reclassificação desta doença como uma forma complicada de HSP está em fase finalizado e foi submetido a publicação. Neste artigo sugerimos que dado as manifestações clínicas mais comuns e a grande prevalência de apresentação clínica com quadro paraparético espástico, mas, habitualmente, adicionado a outros sintomas neurológicos como crises convulsivas, por exemplo, acreditamos que classificar a argininemia como uma forma complicada de HSP poderia facilitar a compreensão da doença e a sua categorização poderia ajudar a fechar este diagnóstico em pacientes cuja apresentação clínica é primariamente a paraparesia espástica.

Um outro indivíduo avaliado apresentava quadro compatível com HSP, de muito lenta evolução, apresentava o quadro motor típico de espasticidade em membros inferiores e umq discreta ataxia apendicular bilateral em membros superiores. A análise molecular realizada pelo sequenciamento completo do exoma evidenciou variante em homozigose no gene *SQSTM1* (p.Ala426Val, ENST00000389805) sendo que esta substituição já a já foi previamente descrita em heterozigose em paciente com ELA familiar do tipo 3 (Cady *et al*, 2015). Variantes patogênicas em *SQSTM1* estão classicamente associadas a: 1. Demência frontotemporal e/ou esclerose lateral amiotrófica (OMIM # 616437), condição com padrão de herança autossômico dominante; 2. Miopatia distal com

vacúolos marginados (OMIM # 617158) condição com padrão de herança autossômico dominante; 3. Neurodegeneração com ataxia, distonia e paralisia do olhar (OMIM # 617145) condição com padrão de herança autossômico recessivo; 4. Doença óssea de Paget. A paraplegia espástica isolada pode constituir em expansão do fenótipo relacionado a este gene.

Também identificamos um paciente com variante patogênica no *EIF2B2*, classicamente descrito para doença da substância branca evanescente, que trata-se de doença autossômica recessiva com amplo espectro de manifestação clínica que inclui ataxia cerebelar progressiva, espasticidade e comprometimento cognitivo associado a lesões de substância branca em imagens cerebrais, contudo, no caso deste estudo, o achado de neuroimagem não era sugestivo do fenótipo clássico.

Outros resultados surpreendentes incluem o paciente com diagnóstico de xantomatose cerebrotendínea, por não ter xantomas ao exame físico e também o paciente com diagnóstico da síndrome Triplo A, já descrita anteriormente. Ambas não são historicamente classificadas como uma forma de HSP.

Uma importante limitação do estudo refere-se ao fato de que a análise WES não incluiu a avaliação de variações em número de cópias (CNVs) É sabido, por exemplo que na SPG4 o mecanismo mutacional pode envolver duplicações exônicas intragênicas ou deleções de um ou múltiplos éxons o que pode ter comprometido o diagnóstico de alguns pacientes (Fonknechten *et al.*, 2000). Este fato pode ser uma justificativa dos achados da amostra e, talvez, um viés do perfil desta amostra de pacientes, o que justificaria a maior incidência de

pacientes com HSP-AR, divergindo de dados estatísticos da literatura médica vigente.

7 Conclusões

Concluimos com este estudo, avaliando os dados clínicos, genéticos, sociais e epidemiológicos dos pacientes incluídos, conforme os objetivos deste estudo:

- a- Em acordo com a literatura médica atual, existe grande variabilidade de apresentação fenotípica mesmo entre indivíduos com variantes patogênicas no mesmo gene;
- b- A amostra em questão apresentou um maior número de doenças com padrão autossômico recessivo, talvez, pela limitação de investigação molecular já relatada;
- c- A grande quantidade de pacientes com variantes patogênicas no gene *SPG11* esta em acordo com a literatura vigente, sendo esta a mais prevalente das HSPs de padrão AR;
- d- O fenótipo de HSP foi identificado em genes cujas variantes patogênicas não eram historicamente classificadas como tal, a exemplo os indivíduos desta amostra com variantes patogênicas em *ARG1*, *SQSTM1* e *EIF2B2*, o que nos leva a sugerir uma reclassificação das argininemias e, também, uma expansão de fenótipo dos genes *SQSTM1* e *EIF2B2*.
- e- Estudos com desenhos específicos deverão ser realizados para confirmar a hipótese de que a gravidade motora evidenciada pela escala SPRS está relacionada a afilamento de corpo caloso.

- f- A possibilidade de descrição de uma nova HSP a partir de variante bialélica identificada em *EEFSEC* será objeto de estudos adicionais.

8 Anexos

Anexo A – Resumo molecular e clínico das principais HSPs AD

Gene	HSP n. (Locus)	Tipo	Início	Principais pontos clínicos	Outros	Referências	
						OMIM (n.) * gene# fenótipo	Citação (gene e/ou fenótipo)
<i>ADAR</i>	Ausente	NC	IN	Padrão anormal da expressão de interferon determinado pelo ensaio de PCR com transcrição reversa	Relatado em um único indivíduo hispânico	*146920	Crow <i>et al</i> , (2014)
<i>ALDH18A1</i>	SPG9A	CP	AD / AT	Cataratas; refluxo gastroesofágico; neuropatia motora Presença variável de: disartria; ataxia e comprometimento cognitivo	Alélico com HSP AR(SPG9B); Raro	#601162	Coutelier <i>et al</i> , (2015)
<i>ATAD3A</i>	Ausente	CP	IN	Amiotrofia; Movimentos hiperclônico; Pode ser confundido com paralisia cerebral hiperclônica	Raro	*612316	Cooper <i>et al</i> (2017)
<i>ATL1</i>	SPG3A	NC	IN / AD	A progressão pode ser mínima com curso estático; Pode apresentar-se como paralisia cerebral diplegia espástica; Fenótipo complicado: neuropatia periférica ou falha autonômica relatada	10%-15% de todas HSP AD e ~80% das HSP AD de início precoce	#182600	Zhao <i>et al</i> , (2001); Namekawa <i>et al</i> , (2006); Rainier <i>et al</i> , (2006); Ivanova <i>et al</i> , (2007)
<i>ATP2B4(PMCA4)</i>	Ausente	NC	AT	Nenhum	Família única	*108732	Li <i>et al</i> , (2014)
<i>BICD2</i>	Ausente	CP	IN / AT	Início infantil associado com contraturas variáveis e sinais do neurônio motor superior; Início do adulto associado com amiotrofia leve	Raro	*609797	Oates <i>et al</i> , (2013)
<i>BSCL2</i> ¹	SPG17	CP	AT	Amiotrofia distal que afeta mãos e pés; Neuropatia motora; Pode ser indistinguível da ALS	Raro	#270685	Windpassinger <i>et al</i> , (2004); Musacchio <i>et al</i> , (2017)
<i>CPT1C</i>	SPG73	NC	AD / AT	Deformidades nos pés podem estar presentes	Família única	#616282	Rinaldi <i>et al</i> , (2015)
<i>DNM2</i> ²	Ausente	CP	IN	Polineuropatia axonal pode estar presente;	Família única	*602378	Sambuughin <i>et al</i> , (2015)

				Amiotrofia distal leve nos pés			
<i>ERLIN2</i>	SPG18 ³	NC	AD / AT	Nenhum	Família única; A maioria das variantes patogênicas associadas com AR HSP	#611225	Rydning <i>et al</i> , (2018)
<i>HSPD1</i>	SPG13	NC	AT	Amiotrofia moderada distal	Raro	#605280	Hansen <i>et al</i> , (2002)
<i>KIF5A</i> ⁴	SPG10	CP	AD / AT	Polineuropatia e pés cavus	1% -2% de todas HSPs AD; 5% a 8% de todas HSPs AD complicadas	#604187	Reid <i>et al</i> , (2002); Blair <i>et al</i> , (2006); Liu <i>et al</i> , (2014)
<i>NIPA1</i>	SPG6	NC	AT	Fraqueza e espasticidade graves; Rapidamente progressivo; Raramente, complicado por epilepsia ou neuropatia periférica variável	Raro	#600363	Rainier <i>et al</i> , (2003); Du <i>et al</i> , (2011); Svenstrup <i>et al</i> , (2011); Hedera (2013)
<i>REEP1</i>	SPG31	NC	IN / AT	Amiotrofia pode estar presente	4 – 6% das HSPs AD	#610250	Züchner <i>et al</i> , (2006); Hewamadduma <i>et al</i> , (2009)
<i>REEP2</i>	SPG72	NC	IN	Problemas musculoesqueléticos; Moderado tremor postural	Raro; Pode ser AD ou AR	#615625	Esteves <i>et al</i> [2014]
<i>RTN2</i>	SPG12	NC	IN / AD	Nenhum	5% das HSPs AD precoces	#604805	Montenegro <i>et al</i> , (2012)
<i>SLC33A1</i>	SPG42	NC	AD / AT	Lentamente progressivo; pés cavus	Família única	#612539	Lin <i>et al</i> , (2008)
<i>SPAST</i>	SPG4	NC	IN / AT	Declínio cognitivo e demência são comuns; Amiotrofia distal presente variavelmente; Fenótipo complicado com ataxia variavelmente presente	40% de todas HSPs AD	#182601	Hazan <i>et al</i> , (1999); Fonknechten <i>et al</i> , (2000); Nielsen <i>et al</i> , (2004); Murphy <i>et al</i> , (2009)
<i>SPG7</i>	SPG7	NC / CP	AD / AT	Disartria; ataxia; atrofia óptica; paralisia supranuclear; Anormalidades mitocondriais na biópsia do músculo esquelético	AD em algumas variantes patogênicas, mas raro	#607259	McDermott <i>et al</i> , (2001)
<i>WASHC5</i>	SPG8	NC	AD / AT	Deficits motores graves em alguns pacientes	Raro	#603563	Hedera <i>et al</i> , (1999); Valdmanis <i>et al</i> , (2007)
<i>TUBB4A</i> ⁴	Ausente	CP	AD	Ataxia cerebelar; Hipomielinização na RM	Raro	*602662	Kancheva <i>et al</i> , (2015)
<i>ZFYVE27</i>	SPG33	NC	AT	Moderado pés cavus	Família única	#610244	Mannan <i>et al</i> , (2006)

CP = Complicada; NC = Não Complicada; IN = Infância; AD = Adolescência; AT = Adulto

1. Alélico com neuropatia motora hereditária distal tipo V (dHMN-V) e variante CMT tipo 2
2. Alélico com CMT2M; DI-CMTB e síndrome das contraturas congênicas letais tipo V
3. Alélico a CMT2a e ALS25 (susceptibilidade a ALS)
4. Alélico com leucodistrofia hipomielinizante tipo 6 e distonia AD tipo 4

Anexo B – Resumo molecular e clínico das principais HSPs AR

Gene	HSP n. (Locus)	Tipo	Início	Principais pontos clínicos	Outros	Referências	
						OMIM (n.)* gene# fenótipo	Citação (gene e/ou fenótipo)
ACP33	SPG21	CP	IN	Ataxia; Demência e parkinsonismo de início tardio; Polineuropatia; Mutismo acinético (em casos avançados)	Raro; Também conhecido com Síndrome Mast	#248900	Cross & McKusick, (1967a); Simpson <i>et al</i> , (2003); Ishiura <i>et al</i> , (2014)
ALDH18A1	SPG9B	CP	AD - AT	Cataratas; Refluxo gastroesofágico; Neuropatia motora; Presença variável: Disartria; Ataxia; Comprometimento cognitivo	Raro; Alélico com HSP AD (SPG9A)	#616586	Coutelier <i>et al</i> , (2015)
ALDH3A2	Ausente	CP	IN	Ictiose congênita; Distrofia macular; Leucodistrofia; Pico lípide na espectroscopia de prótons; Convulsões ocorrem em ~ 40% dos pacientes.	Raro; Mais comum em pessoas de ascendência sueca; Conhecida como síndrome de Sjögren-Larsson	#270200	Rizzo <i>et al</i> , (1999); Gordon, (2007)
AMPD2 ¹	SPG63	CP	IN	Baixa estatura; Corpo caloso afilado; Alterações da substância branca	Raro	#615686	Novarino <i>et al</i> , (2014); Kortüm <i>et al</i> , (2018)
AP4B1	SPG47	CP	IN	Deficiência intelectual grave; Dismorfismo facial; Convulsões; Risada estereotipada com protrusão da língua	Raro	#614066	Abou Jamra <i>et al</i> , (2011); Bauer <i>et al</i> , (2012)
AP4E1	SPG51	CP	IN	Deficiência intelectual grave; Dismorfismo facial; Convulsões; Risada estereotipada com protrusão da língua	Raro	#613744	Abou Jamra <i>et al</i> , (2011); Moreno-DeLuca <i>et al</i> , (2011)
AP4M1	SPG50	CP	IN	Deficiência intelectual grave; Dismorfismo facial; Convulsões;	Raro	#612936	Verkerk <i>et al</i> , (2009)

				Risada estereotipada com protrusão da língua			
AP4S1	SPG52	CP	IN	Deficiência intelectual grave; Dismorfismo facial; Convulsões; Risada estereotipada com protrusão da língua	Raro	#614067	Abou Jamra <i>et al</i> , (2011); Hardies <i>et al</i> , (2015)
AP5Z1	SPG48	NC	IN - AT	Incontinência urinária; Parkinsonismo; Distonia; Corpo caloso afilado; Leucodistrofia	Família única	#613647	Slabicki <i>et al</i> , (2010); Pensato <i>et al</i> , (2014)
ATL1	SPG3A	NC	IN - AT	A progressão pode ser mínima com curso estático; Pode apresentar-se como paralisia cerebral diplérgica espástica; Fenótipo complicado: neuropatia periférica ou falha autonômica relatada	Herança AR é muito rara	#182600	Khan <i>et al</i> , (2014)
B4GALNT1	SPG26	CP	AD	Amiotrofia; Disartria; Ataxia; Distonia	Raro	#609195	Boukhris <i>et al</i> , (2013); Harlalka <i>et al</i> , (2013)
BICD2	Ausente	CP	IN	Amiotrofia e contraturas	Raro	*609797	Oates <i>et al</i> , (2013)
C12orf65	SPG55	CP	IN	Perda visual; Polineuropatia; Artrogripose; Sinais de encefalomiopatia mitocondrial, alguns casos classificados como síndrome de Leigh	Raro	#615035	Shimazaki <i>et al</i> , (2012)
C19orf12	SPG43	CP	IN	Amiotrofia; Disartria; Múltiplas contraturas; NBIA em alguns casos	Raro	#615043	Landouré <i>et al</i> , (2013); Schubert <i>et al</i> , (2016)
CYP2U1	SPG56	CP	IN	Atraso grave do desenvolvimento; Distonia; Polineuropatia; Calcificação dos gânglios da base	Raro	#615030	Tesson <i>et al</i> , (2012)
CYP7B1	SPG5A	CP / NC	AD - AT	Ataxia; Polineuropatia; Sinais extrapiramidais; Leucodistrofia	SPG5A foi diagnosticada em 9 de 172 famílias com história de HSP AR. ²	#270800	Tsaousidou <i>et al</i> , (2008); Goizet <i>et al</i> , (2009)

<i>DDHD1</i>	SPG28	NC	IN	Escoliose	Raro	#609340	Tesson <i>et al</i> , (2012)
<i>DDHD2</i>	SPG54	CP	IN	Atraso grave do desenvolvimento; Atrofia óptica; Corpo caloso fino; Leucodistrofia	Raro	#615033	Schuurs-Hoeijmakers <i>et al</i> , (2012)
<i>ENTPD1</i>	SPG64	CP	IN	Deficiência cognitiva leve; Distúrbios comportamentais; Alterações na substância branca	Raro	#615683	Novarino <i>et al</i> , (2014)
<i>ERLIN1</i>	SPG62	CP	IN	Amiotrofia; Ataxia; Fenótipo consistente ELA precoce relatado	Raro	#615681	Novarino <i>et al</i> , (2014); Tunca <i>et al</i> , (2018)
<i>ERLIN2</i>	SPG18	CP / NC	IN	Atraso do desenvolvimento; Convulsões; Contraturas; Fenótipo de esclerose lateral primária juvenil relatado; Alelica com HSP AD pura	Rare	#611225	Alazami <i>et al</i> , (2011); Yıldırım <i>et al</i> , (2011); Al-Saif <i>et al</i> , (2012)
<i>FA2H</i> ³	SPG35	CP	IN	Convulsões; Distonia; Parkinsonismo com acúmulo de ferro nos gânglios da base	Rare	#612319	Edvardson <i>et al</i> , (2008); Dick <i>et al</i> , (2010); Pensato <i>et al</i> , (2014)
<i>GAD1</i>	Ausente	CP	IN	Atraso do desenvolvimento moderado a grave	Família única		Lynex <i>et al</i> , (2004)
<i>GBA2</i>	SPG46	CP	IN	Atraso do desenvolvimento; Ataxia; Perda de audição; Polineuropatia	Raro	#614409	Hammer <i>et al</i> , (2013); Coarelli <i>et al</i> , (2018)
<i>GJC2</i> ⁴	SPG44	CP	IN	Convulsões febris; Surdez; Espasmos episódicos; Grau variável de leucodistrofia	Raro	#613206	Uhlenberg <i>et al</i> , (2004); Orthmann-Murphy <i>et al</i> , (2009)
<i>GRID2</i> ⁵	Ausente	CP	IN	Amiotrofia; Ataxia	Raro		Utine <i>et al</i> , (2013); Maier <i>et al</i> , (2014)
<i>IBA57</i> ⁶	SPG74	CP	IN	Atrofia óptica; Neuropatia periférica	Raro	#616451	Lossos <i>et al</i> , (2015); Torraco <i>et al</i> , (2017)

<i>KIF1A</i> ⁷	SPG30	CP	IN	Espasticidade atáxica; Polineuropatia	Raro	#610357	Hamdan <i>et al</i> , (2011); Rivière <i>et al</i> , (2011); Klebe <i>et al</i> , (2012)
<i>KIF1C</i>	SPG58	CP	IN	Espasticidade atáxica; Distonia	Raro	#611302	Caballero Oteyza <i>et al</i> , (2014); Dor <i>et al</i> , (2014)
<i>KLC2</i>	Ausente	CP	IN	Atrofia óptica; Neuropatia periférica; Contraturas em formas tardias; Cognição preservada	Raro; SPOAN	#609541	Melo <i>et al</i> , (2015)
<i>KLC4</i>	Ausente	CP	IN	Ataxia; Múltiplas contraturas; Variado grau de leucodistrofia	Raro	--	Bayrakli <i>et al</i> , (2015)
<i>MARS1</i> ⁸	SPG70	CP	IN	Síndrome nefrótica; Polineuropatia; Deficiência intelectual leve; Início tardio do tipo CMT2 (axonal) também relatado	Raro	*156560	Gonzalez <i>et al</i> , (2013); Novarino <i>et al</i> , (2014)
<i>NT5C2</i>	SPG45	CP	IN	Atrofia óptica; Nistagmo; Estrabismo; Corpo caloso hipoplásico; Deficiência intelectual	Raro	#613162	Novarino <i>et al</i> , (2014); Elsaid <i>et al</i> , (2017)
<i>PGAP1</i> ⁹	SPG67	CP	IN	Grave deficiência intelectual; Tremor; Agenesia de corpo caloso; Hipomielinização	Raro	*611655	Murakami <i>et al</i> , (2014); Novarino <i>et al</i> , (2014)
<i>PNPLA6</i> ¹⁰	SPG39	CP	IN	Amiotrofia; Hipogonadismo hipogonadotrófico; Baixas estatura; Distrofia coriorretiniana	Raro	#612020	Rainier <i>et al</i> , (2008); Synofzik <i>et al</i> , (2014); Hufnagel <i>et al</i> , (2015)
<i>REEP2</i>	SPG72	NC	IN	Problemas musculoesqueléticos; Tremor postural	Raro; Herança AD ou AR	#615625	Esteves <i>et al</i> , (2014)
<i>SPART</i>	SPG20	CP	AD	Amiotrofia distal; Baixa estatura; Cifose; Múltiplas contraturas de membros	Raro	#275900	Cross & McKusick, (1967b); Patel <i>et al</i> , (2002)

SPG7	SPG7	CP / NC	AD - AT	Disartria; Ataxia; Atrofia óptica; Paralisia supranuclear; Anomalias mitocondriais em biópsias musculares	5%-12% das HSP AR; Herança AD sugerida para algumas variantes.	#607259	Casari <i>et al</i> , (1998); McDermott <i>et al</i> , (2001); Arnoldi <i>et al</i> , (2008); Brugman <i>et al</i> , (2008)
SPG11	SPG11	CP	IN - AD	Atraso de desenvolvimento; Atrofia óptica; Ataxia; Polineuropatia; Sinais pseudobulbares; Parkinsonismo dopa-responsivo; Corpo caloso afilado	5% das HSP AR; 75% das HSP com atraso de desenvolvimento e corpo caloso afilado.	#604360	Stevanin <i>et al</i> , (2007); Paisan-Ruiz <i>et al</i> , (2008); Riverol <i>et al</i> , (2009); Guidubaldi <i>et al</i> , (2011)
TECPR2	SPG49	CP	IN	Apneia central; Atraso grave do desenvolvimento; Microcefalia	Raro	#615031	Oz-Levi <i>et al</i> , (2012)
TFG	SPG57	CP	IN	Atrofia óptica; Severa polineuropatia	Raro	#615658	Beetz <i>et al</i> , (2013)
USP8	SPG59	NC	IN	Nenhum	Raro	*603158	Novarino <i>et al</i> , (2014)
WDR48	SPG60	CP	IN	Polineuropatia; Atraso do desenvolvimento	Raro	*612167	Novarino <i>et al</i> , (2014)
ZFYVE26	SPG15	CP	IN - AD	Atraso do desenvolvimento; Atrofia óptica; Ataxia; Degeneração central da retina; Polineuropatia	1%-2% das HSP AR	#270700	Hanein <i>et al</i> , (2008); Pensato <i>et al</i> , (2014)

CP = Complicada; NC = Não complicada; IN Infância; AD = Adolescência; AT = Adulto

1. Alélico com hipoplasia pontocerebelar tipo 9
2. Goizet *et al* (2009)
3. Alélico com fatty acid hydroxylase-associated neurodegeneration (NBIA)
4. Alélico com Pelizaeus-Merzbacher-like tipo 1 e linfedema hereditário tipo IC
5. Alélico com SCAR 18
6. Alélico com síndrome das múltiplas disfunções mitocondriais tipo 3
7. Alélico com neuropatia hereditária sensitiva-autônômica tipo 2C e com deficiência intelectual AD tipo 9
8. Alélico com CMT2U
9. Alélico com deficiência intelectual AR tipo 42
10. Alélico com as síndromes de Boucher-Neuhauser, Gordon-Holmes, Oliver-McFarlane e Laurence-Moon

Anexo C – Resumo molecular e clínico das principais HSP-X

Gene	HSP n. (Locus)	Tipo	Início	Principais pontos clínicos	Outros	Referências	
						OMIM (n.) * gene # fenótipo	Citação (gene e/ou fenótipo)
<i>L1CAM</i>	SPG1	CP	IN	Deficiência intelectual; Polegares aduzidos; Hipoplasia do corpo caloso; Afasia; Hidrocefalia obstrutiva	Raro	*308840	Jouet <i>et al</i> , (1994); Schrander-Stumpel <i>et al</i> , (1995); Yamasaki <i>et al</i> , (1995); Finckh <i>et al</i> , (2000)
<i>PLP1</i> ¹	SPG2	CP	IN – AD; Mulheres AT	Fenótipo puro de HSP presente nos estágios iniciais, depois, outros sinais surgem; Nistagmo; Atrofia óptica; Disartria; Deficiência intelectual; Grau variável de leucodistrofia na RM	Raro; Em mulheres heterozigotas: fenótipo variável com início tardio e manifestações clínicas mais brandas	#312920	Saugier-Veber <i>et al</i> , (1994); Cambi <i>et al</i> , (1996); Hodes <i>et al</i> , (1999); Sivakumar <i>et al</i> , (1999)
<i>SLC16A2</i>	SPG22	CP	IN	Deficiência intelectual severa; Hipotonia; Espasticidade progressiva; Ataxia; Distonia; T3 elevado e TSH normal ou ligeiramente elevado e T4 baixo; Hipomielinização na imagem	Raro; Também chamado de Síndrome de Allan- Herndon-Dudley	#300523	Dumitrescu <i>et al</i> , (2004); Boccone <i>et al</i> , (2010)

CP = Complicada; NC = Não complicada; IN Infância; AD = Adolescência; AT = Adulto

1. Alélico com síndrome de Pelizaeus-Merzbacher

Anexo D - Escala SPRS-BR

APPENDIX ESCALA DE AVALIAÇÃO DE PARAPLEGIA ESPÁSTICA

(1) Distância que caminha sem pausa

De acordo com a história, dispositivos auxiliares são permitidos

- 0: Normal, ilimitada
- 1: Cansaço anormal devido à espasticidade após mais de 500m
- 2: Caminha menos de 500m
- 3: Caminha menos de 10m
- 4: Incapaz de andar

(2) Qualidade da marcha

É solicitado ao paciente andar o mais rápido possível uma distância de 10 metros, incluindo uma volta

- 0: Normal
- 1: Rigidez leve, correr ainda é possível
- 2: Marcha claramente espástica, interferindo no correr
- 3: Marcha espástica, com necessidade de dispositivos auxiliares
- 4: Incapaz de andar uma distância de 10 metros mesmo com apoio máximo

(3) Velocidade máxima da marcha

Tempo cronometrado para uma distância de 10 metros, incluindo uma volta.

- 0: Normal
- 1: Levemente reduzida (10m: ≥ 5 s)
- 2: Moderadamente reduzida (10m: ≥ 10 s)
- 3: Gravemente reduzida (10m: ≥ 20 s)
- 4: Incapaz de andar uma distância de 10m ou tempo ≥ 40 s

(4) Subir escadas

Subir 5 degraus-volta/giro-descer 5 degraus

- 0: Normal: não necessita apoio do corrimão
- 1: Incapacidade leve: necessita de apoio intermitente do corrimão
- 2: Incapacidade moderada: necessita de apoio contínuo do corrimão
- 3: Incapacidade grave: necessita de apoio/suporte de outra pessoa ou dispositivo adicional para realizar a tarefa
- 4: Incapaz de subir escadas

(5) Velocidade para subir escadas

Tempo cronometrado para subir 5 degraus - volta/giro - descer 5 degraus

- 0: Normal
- 1: Levemente reduzida (≥ 5 s para realizar a tarefa)
- 2: Moderadamente reduzida (≥ 10 s para realizar a tarefa)
- 3: Gravemente reduzida (≥ 20 s para realizar a tarefa)
- 4: Incapaz de subir escadas

(6) Levantar-se da cadeira

O paciente tenta se levantar de uma cadeira de madeira ou metal e encosto reto, com os braços cruzados sobre o peito

- 0: Normal
- 1: Lento ou pode necessitar de mais de uma tentativa.
- 2: Levanta-se com apoio dos braços da cadeira.
- 3: Tende a cair para trás e pode necessitar de mais de uma tentativa, mas pode se levantar sem ajuda.
- 4: Incapaz de se levantar sem ajuda.

(7) Espasticidade -músculos adutores do quadril (Escala Modificada de Ashworth)

Pontue o lado mais afetado

- 0: Tônus muscular normal
- 1: Leve aumento de tônus muscular, manifestado por tensão momentânea
- 2: Aumento mais marcante do tônus muscular durante a maior parte da amplitude de movimento
- 3: Considerável aumento do tônus muscular - movimento passível é difícil
- 4: Membro fixo em adução

(8) Espasticidade -flexão do joelho (Escala Modificada de Ashworth)

Pontue o lado mais afetado

- 0: Tônus muscular normal
- 1: Leve aumento de tônus muscular, manifestado por tensão momentânea
- 2: Aumento mais marcante do tônus muscular durante a maior parte da amplitude de movimento
- 3: Considerável aumento do tônus muscular - movimento passível é difícil
- 4: Membro fixo em flexão ou extensão

(9) Fraqueza-abdução do quadril (Medical Research Council 1976)

- 0: Sem fraqueza
- 1: Fraqueza leve (4/5)
- 2: Fraqueza moderada (3/5)
- 3: Fraqueza grave (1-2/5)
- 4: Plegia (0/5)

(10) Fraqueza-dorsiflexão do pé (Medical Research Council 1976)

- 0: Sem fraqueza
- 1: Fraqueza leve (4/5)
- 2: Fraqueza moderada (3/5)
- 3: Fraqueza grave (1-2/5)
- 4: Plegia (0/5)

(11) Contraturas dos membros inferiores

Pontue na posição supina

- *Extensão de quadril: coluna lombar e coxas tocam a superfície. Abdução de quadril: abdução até um ângulo >60° entre as pernas é possível*
- *Extensão de joelhos: coxas e panturrilhas tocam a superfície.*
- *Extensão dorsal do tornozelo: > 10° é possível. Pronação do tornozelo : > 10° é possível*

- 0: Sem contraturas
- 1: Leve, posição anormal não fixa de uma articulação (unilateral ou bilateral)
- 2: Contratura fixa de uma articulação (unilateral ou bilateral)
- 3: Contratura fixa de duas articulações (unilateral ou bilateral)
- 4: Contratura fixa de mais de duas articulações (unilateral ou bilateral)

(12) Dor secundária a sintomas relacionados à paraplegia espástica

- 0: Sem dor
- 1: Presente em ≤ 50% do dia enquanto acordado E intensidade 0 - 3 pontos na escala visual analógica
- 2: Presente em ≤ 50% do dia enquanto acordado E intensidade 4 - 10 pontos na escala visual analógica
- 3: Presente em > 50% do dia enquanto acordado E intensidade 0 - 3 pontos na escala visual analógica
- 4: Presente em > 50% do dia enquanto acordado E intensidade 4 - 10 pontos na escala visual analógica

(13) Função vesical e intestinal

- 0: Função vesical e intestinal normais
- 1: Urgência urinária ou fecal (dificuldade de chegar ao banheiro a tempo)
- 2: Urge incontinência rara e leve (sem necessidade de fralda)
- 3: Urge incontinência moderada (necessidade de fralda ou cateter quando fora de casa)
- 4: Uso de cateter ou fralda permanentes

Anexo E - Aprovação CAPPesq

Neuro

**USP - HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE**

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Investigação clínica e genética das paraplegias espásticas hereditárias
Pesquisador: Fernando Kok
Área Temática:
Versão: 1
CAAE: 63040116.9.0000.0068
Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.888.852

Apresentação do Projeto:
Trata-se de estudo clínico prospectivo e parcialmente retrospectivo com 50 pacientes com paraplegias espásticas hereditárias do Ambulatório de Neurogenética da Clínica Neurológica do Hospital das Clínicas que serão submetidos a um roteiro investigativo: História clínica completa, heredograma e exame neurológico, aplicação da escala de classificação de paraplegia espástica (SPRS) versão brasileira (SPRS-BR), Ressonância magnética de crânio e coluna (caso não tenha sido previamente realizada, em um aparelho de no mínimo 1.5 Tesla), Eletroneuromiografia (sempre que existirem evidências clínicas de neuropatia periférica), LCR, (quando houver necessidade de exclusão de outra doença, tal com infecção por HTLV1, lues ou esclerose múltipla), amostra de sangue (investigação de infecção por HTLV1 e lues). Serão incluídos pacientes do sexo feminino e masculino com dados de anamnese e exame físico compatível com suspeição HSP. Os sintomas clínicos poderão ter início em qualquer idade.
Serão excluídos:
-Pacientes com diagnóstico estabelecido de outras doenças degenerativas ou que tenham outra etiologia (eg. esclerose múltipla e degeneração combinada subaguda);
-Pacientes com diagnóstico estabelecido de outras doenças neurogenéticas que assumem diagnóstico diferencial com as HSP (eg. ataxias espinocerebelares);
-Pacientes com diagnóstico firmado de doenças infecciosas que assumem diagnóstico diferencial

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Página 01 de 03



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 1.888.852

com as HSP (eg. paraparesia espástica tropical por HTLV, sífilis e HIV).

-Pacientes que apresentem contraindicações absolutas a realização de ressonância ou eletromiografia ou colheita de sangue.

-Pacientes ou responsáveis que recusem-se a entrar neste protocolo por qualquer motivo.

Objetivo da Pesquisa:

Autor descreve como principal objetivo: Descrever os aspectos clínicos, laboratoriais, de neuroimagem e eletroneuromiográfico dos pacientes com HSP.

E como objetivos secundários:

Identificar características no exame físico geral e neurológico, nos estudos laboratoriais, estudos eletrofisiológicos e nas diferentes técnicas de neuroimagem que permitam a definição etiológica específica dentre as doenças classicamente descritas no grupo das HSPs de início na idade adulta. Quando não for possível a categorização em uma síndrome clássica, objetiva-se o agrupamento dessas características para possível identificação de novas entidades.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O autor refere risco de equimoses, hematomas nos locais de punção durante a realização da eletroneuromiografia ou coleta de sangue.

Refere ainda que o principal benefício é a colaboração com a estruturação e definição das características desta doença rara e ajuda nas definições e caracterização populacional da doença, diferenciando síndromes clínicas entre si.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo é relevante e inovador pois irá auxiliar na melhor compreensão das paraplegias hereditárias, facilitando o diagnóstico e planejamento terapêutico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Está claro e bem redigido. Informa adequadamente ao participante da pesquisa sua justificativa, detalha os procedimentos e seus riscos e garante liberdade de participação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 1.888.852

encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_769422.pdf	14/12/2016 20:58:52		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	14/12/2016 20:58:19	Fernando Freua	Aceito
Brochura Pesquisa	fernandokokfreuacadastro155680001.pdf	12/12/2016 23:20:58	Fernando Kok	Aceito
Folha de Rosto	fernandokokfreuaf155680001.pdf	12/12/2016 23:20:34	Fernando Kok	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	07/12/2016 22:03:09	Fernando Kok	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 11 de Janeiro de 2017

Assinado por:
Joel Faintuch
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Anexo F - Termo de consentimento livre e esclarecido

HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DA PESQUISA

Título da Pesquisa – **INVESTIGAÇÃO CLÍNICA E GENÉTICA DAS PARAPLEGIAS ESPÁSTICAS HEREDITÁRIAS**

Pesquisador Principal – Prof Dr Fernando Kok

Departamento / Instituto – Departamento de Neurologia / Instituto Central do HCFMUSP

Convite ao estudo:

Estamos fornecendo estas informações com o intuito de convidar o senhor (a) ou seu dependente a participar voluntariamente de um estudo descritivo que visa melhorar o entendimento de um grupo de doenças raras que se caracterizam clinicamente pela rigidez nas pernas e dificuldade para caminhar. O objetivo do estudo é investigar as manifestações clínicas desse grupo de doenças e de como os exames complementares podem contribuir para o seu diagnóstico.

Procedimentos que serão realizados e métodos empregados:

Serão realizados alguns exames de sangue, urina e, esporadicamente, líquido cefalorraquiano; procedimentos que avaliam o funcionamento elétrico dos nervos (eletromiografia) e do cérebro (eletroencefalograma e potenciais evocados) e exames para estudar a imagem do cérebro (ressonância magnética).

Explicação de como serão realizados os exames, desconfortos e possíveis riscos:

Para estudar as manifestações clínicas o médico coletará informações a respeito da história da doença e fará perguntas além de examinar cuidadosamente o participante, como é feito habitualmente em consultas médicas mas com especial atenção a parte neurológica.

As amostras de sangue serão obtidas por meio de coleta de sangue de veia periférica. A urina será obtida por meio de coleta em frasco estéril. O líquido cefalorraquiano será obtido por punção lombar, que será realizada por profissional médico.

Para estudar o funcionamento do cérebro e dos nervos, poderão ser realizados eletroencefalograma, eletroneuromiografia, potencial evocado visual e potencial evocado auditivo. A escolha dos exames que serão realizados depende dos sintomas que o(a) senhor(a) ou dependente apresenta e da hipótese diagnóstica que foi realizada. Esses exames precisam de uma colaboração mínima e por isso serão realizados sem sedação.

O exame de líquido consiste em punção (picada) na região mais baixa das costas (coluna lombar) realizada por agulha fina. É coletado o líquido que recobre o sistema nervoso central, chamado líquido, em volume não superior a 10ml e, então, encaminhado para análise. Existe o risco de formação de equimose (pequeno hematoma) no local da punção.

O eletroencefalograma é um exame que estuda as correntes elétricas geradas pelo cérebro através de um registro gráfico. Consiste em fixar pequenos fios no couro cabeludo, através de cola, para detectar a atividade elétrica do cérebro. O exame deve ser realizado durante o sono e com a pessoa acordada.

A eletroneuromiografia é um exame que avalia a função dos nervos e dos músculos. É dividida em duas partes: o estudo de condução nervosa e a eletromiografia de agulha. O estudo de condução nervosa estuda a função dos nervos. Consiste na aplicação de impulsos ou choques elétricos de baixa intensidade nos nervos periféricos com o objetivo de estimulá-los e produzir uma resposta. A segunda etapa é representada pela eletromiografia de agulha. Nessa fase, pequenas agulhas descartáveis são introduzidas nos músculos para a análise da atividade do músculo em repouso e durante a contração. Uma sensação de picada é sentida quando a agulha é inserida no músculo. Apesar de o exame

ser composto por choques elétricos e introdução de agulhas nos músculos, a maioria dos pacientes tolera o procedimento muito bem.

Os potenciais evocados são exames que medem as respostas elétricas do cérebro a estímulos sensoriais externos como visão (potencial evocado visual) ou audição (potencial evocado auditivo). Os potenciais evocados visuais (PEV) são testados colocando-se pequenos fios na parte de trás da cabeça e estimulando a visão de cada olho separadamente por meio de uma tela quadriculada que passa em uma tela de computador. Cada olho é estimulado por duas vezes, sendo que a duração total do procedimento pode ser de 45 – 60 minutos.

Os potenciais evocados auditivos são testados colocando-se fios na região lateral do couro cabeludo e estimulando a audição de cada ouvido separadamente através de um fone que emite um click sonoro. Cada ouvido é estimulado por duas vezes e o procedimento pode demorar entre 30 a 45 minutos.

A ressonância magnética é um exame que fornece uma imagem detalhada do cérebro. Para sua realização, o (a) senhor(a) deverá entrar no aparelho da ressonância que tem formato de túnel. O exame tem duração de 20 a 30 minutos e durante sua realização, deverá ficar imóvel e escutará um barulho alto para o qual usará um protetor de ouvido. Por esse motivo algumas pessoas não conseguem cooperar e precisam de sedação. Caso ela seja necessária, será feita por anestesista.

Todos os exames serão realizados no Hospital das Clínicas e com horário previamente marcado.

Benefícios ao Paciente:

Não haverá inicialmente nenhum benefício direto para o (a) senhor(a). Como vantagem, terá acesso a exames de maior complexidade e a uma revisão de todos os exames. A possibilidade de definir um diagnóstico poderá ter implicações futuras, uma vez que as doenças estudadas nesta investigação têm origem genética e desta forma apresentam risco de se repetir na família. Além disto, o diagnóstico poderá contribuir para o planejamento do tratamento e da reabilitação

Explicações sobre o acompanhamento e demais garantias do participante:

O Senhor (a) será acompanhado em consultas periódicas com data de agendamento variável até o término da investigação, após isso, a cada 3-6 meses de acordo com necessidade clínica até o término da pesquisa. É garantida a liberdade, a qualquer momento, da retirada deste consentimento e da saída do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade do tratamento na Instituição; As informações obtidas serão analisadas em conjunto com as informações de outros pacientes do estudo e não será divulgada a identificação de nenhum paciente; Pais e responsáveis terão direito a acesso aos resultados do estudo que sejam do conhecimento dos pesquisadores; Não haverá despesas pessoais para os participantes em qualquer fase do estudo, incluindo consultas e exames. Também não haverá compensação financeira relacionada à sua participação.

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (com relação causal comprovada), você terá direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

Os pesquisadores têm o compromisso de utilizar o material coletado somente para esta pesquisa. Os dados obtidos no estudo, de interesse científico, poderão ser submetidos a publicação em revistas ou jornais da área médica.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os principais investigadores são Prof.Dr. Fernando Kok / Dr. Fernando Freua que podem ser encontrados na Avenida Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255,5º. Andar, Divisão de Clínica Neurológica - Cerqueira César – 05403-000, Telefone(s) 8618-0947, 3069-6401, E-mail: fernando.kok@mendelics.com e fernando.freua@gmail.com Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661- 7585, ou (11) 2661-1548, ou (11)2661-1549 ; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Fui suficientemente informado a respeito do estudo **“INVESTIGAÇÃO CLÍNICA E GENÉTICA DAS PARAPLEGIAS ESPÁSTICAS HEREDITÁRIAS”**.

Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável (Dr Fernando Kok) ou pessoa (s) por ele delegada (s) (Dr Fernando Freua) sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo um via rubricada pelo pesquisador.

Assinatura do participante /representante
legal

Data ____/____/____

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____/____/____

9 Referências

Abou Jamra R, Philippe O, Raas-Rothschild A, Eck SH, Graf E, Buchert R, Borck G, Ekici A, Brockschmidt FF, Nöthen MM, Munnich A, Strom TM, Reis A, Colleaux L. Adaptor protein complex 4 deficiency causes severe autosomal-recessive intellectual disability, progressive spastic paraplegia, shy character, and short stature. *Am J Hum Genet.* 2011;88:788–95.

Alazami AM, Adly N, Al Dhalaan H, Alkuraya FS. A nullimorphic ERLIN2 mutation defines a complicated hereditary spastic paraplegia locus (SPG18). *Neurogenetics.* 2011;12:333–6.

Allgrove, J., Clayden, G. S., Grant, D. B., Macaulay, J. C. Familial glucocorticoid deficiency with achalasia of the cardia and deficient tear production. *Lancet.* 1978; 311: 1284-1286.

Al-Saif A, Bohlega S, Al-Mohanna F. Loss of ERLIN2 function leads to juvenile primary lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 2012;72:510–6.

Arnoldi A, Tonelli A, Crippa F, Villani G, Pacelli C, Sironi M, Pozzoli U, D'Angelo MG, Meola G, Martinuzzi A, Crimella C, Redaelli F, Panzeri C, Renieri A, Comi GP, Turconi AC, Bresolin N, Bassi MT. A clinical, genetic, and biochemical characterization of SPG7 mutations in a large cohort of patients with hereditary spastic paraplegia. *Hum Mutat.* 2008;29:522–31.

Bauer P, Leshinsky-Silver E, Blumkin L, Schlipf N, Schröder C, Schicks J, Lev D, Riess O, Lerman-Sagie T, Schöls L. Mutation in the AP4B1 gene cause hereditary spastic paraplegia type 47 (SPG47). *Neurogenetics.* 2012;13:73–6.

Bayrakli F, Poyrazoglu HG, Yuksel S, Yakicier C, Erguner B, Sagiroglu MS, Yuceturk B, Ozer B, Doganay S, Tanrikulu B, Seker A, Akbulut F, Ozen A, Per H, Kumandas S, Altuner Torun Y, Bayri Y, Sakar M, Dagecinar A, Ziyal I. Hereditary spastic paraplegia with recessive trait caused by mutation in KLC4 gene. *J Hum Genet.* 2015;60:763–8.

Beetz C, Johnson A, Schuh AL, Thakur S, Varga RE, Fothergill T, Hertel N, Bomba-Warczak E, Thiele H, Nürnberg G, Altmüller J, Saxena R, Chapman ER, Dent EW, Nürnberg P, Audhya A. Inhibition of TFG function causes hereditary axon degeneration by impairing endoplasmicreticulum structure. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110:5091–6.

Blackstone C. Cellular pathways of hereditary spastic paraplegia. *Annu Rev Neurosci.* 2012;35:25-47.

Blackstone C. Hereditary spastic paraplegia. *Handb Clin Neurol.* 2018;148: 633-652.

Blair MA, Ma S, Hedera P. Mutation in KIF5A can also cause adult-onset hereditary spastic paraplegia. *Neurogenetics*. 2006;7:47–50.

Boccone L, Mariotti S, Dessì V, Pruna D, Meloni A, Loudianos G. Allan-Herndon-Dudley syndrome (AHDS) caused by a novel SLC16A2 gene mutation showing severe neurologic features and unexpectedly low TRH-stimulated serum TSH. *Eur J Med Genet*. 2010;53:392–5.

Boukhris A, Schule R, Loureiro JL, Lourenço CM, Mundwiller E, Gonzalez MA, Charles P, Gauthier J, Rekik I, Acosta Lebrigio RF, Gausson M, Speziani F, Ferbert A, Feki I, Caballero-Oteyza A, Dionne-Laporte A, Amri M, Noreau A, Forlani S, Cruz VT, Mochel F, Coutinho P, Dion P, Mhiri C, Schols L, Pouget J, Darios F, Rouleau GA, Marques W Jr, Brice A, Durr A, Zuchner S, Stevanin G. Alteration of ganglioside biosynthesis responsible for complex hereditary spastic paraplegia. *Am J Hum Genet*. 2013;93:118–23.

Branchu J, Boutry M, Sourd L, Depp M, Leone C, Corriger A, Vallucci M, Esteves T, Matusiak R, Dumont M, Muriel MP, Santorelli FM, Brice A, El Hachimi KH, Stevanin G, Darios F. Loss of spatacsin function alters lysosomal lipid clearance leading to upper and lower motor neuron degeneration. *Neurobiol Dis*. 2017 Jun;102:21-37.

Brugman F, Scheffer H, Wokke JH, Nillesen WM, de Visser M, Aronica E, Veldink JH, van den Berg LH. Paraplegin mutations in sporadic adult-onset upper motor neuron syndromes. *Neurology*. 2008;71:1500–5.

Caballero Oteyza A, Battaloğlu E, Ocek L, Lindig T, Reichbauer J, Rebelo AP, Gonzalez MA, Zorlu Y, Ozes B, Timmann D, Bender B, Woehlke G, Züchner S, Schöls L, Schüle R. Motor protein mutations cause a new form of hereditary spastic paraplegia. *Neurology*. 2014;82:2007–16.

Cady J, Allred P, Bali T, Pestronk A, Goate A, Miller TM, Mitra RD, Ravits J, Harms MB, Baloh RH. Amyotrophic lateral sclerosis onset is influenced by the burden of rare variants in known amyotrophic lateral sclerosis genes. *Ann Neurol*. 2015 Jan;77(1):100-13.

Cambi F, Tang XM, Cordray P, Fain PR, Keppen LD, Barker DF. Refined genetic mapping and proteolipid protein mutation analysis in X-linked pure hereditary spastic paraplegia. *Neurology*. 1996;46:1112–7.

Casari G, De Fusco M, Ciarmatori S, Zeviani M, Mora M, Fernandez P, De Michele G, Filla A, Cocozza S, Marconi R, Dürr A, Fontaine B, Ballabio A. Spastic paraplegia and OXPHOS impairment caused by mutations in paraplegin, a nuclear-encoded mitochondrial metalloprotease. *Cell*. 1998;93:973–83.

Chelban V, Tucci A, Lynch DS, Polke JM, Santos L, Jonvik H, Groppa S, Wood NW, Houlden H. Truncating mutations in SPAST patients are associated with a high rate of psychiatric comorbidities in hereditary spastic paraplegia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2017 Aug;88(8):681-687.

- Coarelli G, Romano S, Travaglini L, Ferraldeschi M, Nicita F, Spadaro M, Fornasiero A, Frontali M, Salvetti M, Bertini E, Ristori G. Novel homozygous GBA2 mutation in a patient with complicated spastic paraplegia. *Clin Neurol Neurosurg.* 2018;168:60–3.
- Cooper HM, Yang Y, Ylikallio E, Khairullin R, Woldegebriel R, Lin KL, Euro L, Palin E, Wolf A, Trokovic R, Isohanni P, Kaakkola S, Auranen M, Lönnqvist T, Wanrooij S, Tynismaa H. ATPase-deficient mitochondrial inner membrane protein ATAD3A disturbs mitochondrial dynamics in dominant hereditary spastic paraplegia. *Hum Mol Genet.* 2017;26:1432–43.
- Coutelier M, Goizet C, Durr A, Habarou F, Morais S, Dionne-Laporte A, Tao F, Konop J, Stoll M, Charles P, Jacoupy M, Matusiak R, Alonso I, Tallaksen C, Mairey M, Kennerson M, Gausсен M, Schule R, Janin M, Morice-Picard F, Durand CM, Depienne C, Calvas P, Coutinho P, Saudubray JM, Rouleau G, Brice A, Nicholson G, Darios F, Loureiro JL, Zuchner S, Ottolenghi C, Mochel F, Stevanin G. Alteration of ornithine metabolism leads to dominant and recessive hereditary spastic paraplegia. *Brain.* 2015;138:2191–205.
- Coutinho P, Ruano L, Loureiro JL, Cruz VT, Barros J, Tuna A, Barbot C, Guimarães J, Alonso I, Silveira I, Sequeiros J, Neves JM, Serrano P, Silva MC. Hereditary ataxia and spastic paraplegia in Portugal: a populationbased prevalence study. *JAMA Neurol.* 2013;70: 746–755.
- Cross HE, McKusick VA. The mast syndrome. A recessively inherited form of presenile dementia with motor disturbances. *Arch Neurol.* 1967a;16:1–13.
- Cross HE, McKusick VA. The Troyer syndrome: a recessive form of spastic paraplegia with distal muscle wasting. *Arch Neurol.* 1967b;16:473–85.
- Crow YJ, Zaki MS, Abdel-Hamid MS, Abdel-Salam G, Boespflug-Tanguy O, Cordeiro NJ, Gleeson JG, Gowrinathan NR, Laugel V, Renaldo F, Rodriguez D, Livingston JH, Rice GI. Mutations in ADAR1, IFIH1, and RNASEH2B presenting as spastic paraplegia. *Neuropediatrics.* 2014;45:386–93.
- DeLuca GC, Ebers GC, Esiri MM. The extent of axonal loss in the long tracts in hereditary spastic paraplegia. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2004;30:576–584.
- Dick KJ, Eckhardt M, Paisán-Ruiz C, Alshehhi AA, Proukakis C, Sibtain NA, Maier H, Sharifi R, Patton MA, Bashir W, Koul R, Raeburn S, Gieselmann V, Houlden H, Crosby AH. Mutation of FA2H underlies a complicated form of hereditary spastic paraplegia (SPG35). *Hum Mutat.* 2010;31:E1251–60.
- Dor T, Cinnamon Y, Raymond L, Shaag A, Bouslam N, Bouhouche A, Gausсен M, Meyer V, Durr A, Brice A, Benomar A, Stevanin G, Schuelke M, Edvardson S. KIF1C mutations in two families with hereditary spastic paraparesis and cerebellar dysfunction. *J Med Genet.* 2014;51:137–42.
- Du J, Hu YC, Tang BS, Chen C, Luo YY, Zhan ZX, Zhao GH, Jiang H, Xia K, Shen L. Expansion of the phenotypic spectrum of SPG6 caused by mutation in NIPA1. *Clin Neurol Neurosurg.* 2011;113:480–2.

Dubey A, Copeland PR. The Selenocysteine-Specific Elongation Factor Contains Unique Sequences That Are Required for Both Nuclear Export and Selenocysteine Incorporation. *PLoS One*. 2016 Nov 1;11(11):e0165642.

Dumitrescu AM, Liao XH, Best TB, Brockmann K, Refetoff S. A novel syndrome combining thyroid and neurological abnormalities is associated with mutations in a monocarboxylate transporter gene. *Am J Hum Genet*. 2004;74:168–75.

Edvardson S, Hama H, Shaag A, Gomori JM, Berger I, Soffer D, Korman SH, Taustein I, Saada A, Elpeleg O. Mutations in the fatty acid 2-hydroxylase gene are associated with leukodystrophy with spastic paraparesis and dystonia. *Am J Hum Genet*. 2008;83:643–8.

Elsaid MF, Ibrahim K, Chalhoub N, Elsotouhy A, El Mudehki N, Abdel Aleem A. NT5C2 novel splicing variant expands the phenotypic spectrum of spastic paraplegia (SPG45): case report of a new member of thin corpus callosum SPG-Subgroup. *BMC Med Genet*. 2017;18:33.

Engmann B, Wagner A, Steinberg H. Adolf von Strümpell: a key neglected protagonist of neurology. *J Neurol*. 2012; 259(10):2211-20.

Erichsen AK, Koht J, Stray-Pedersen A, Abdelnoor M, Tallaksen CME . Prevalence of hereditary ataxia and spastic paraplegia in southeast Norway: a population-based study. *Brain*. 2009;132:1577–1588.

Esteves T, Durr A, Mundwiller E, Loureiro JL, Boutry M, Gonzalez MA, Gauthier J, El-Hachimi KH, Depienne C, Muriel MP, Acosta Lebrigio RF, Gausson M, Noreau A, Speziani F, Dionne-Laporte A, Deleuze JF, Dion P, Coutinho P, Rouleau GA, Zuchner S, Brice A, Stevanin G, Darios F. Loss of association of REEP2 with membranes leads to hereditary spastic paraplegia. *Am J Hum Genet*. 2014;94:268–77.

Estrada-Cuzcano, A., Martin, S., Chamova, T., Synofzik, M., Timmann, D., Holemans, T., Andreeva, A., Reichbauer, J., De Rycke, R., Chang, D.-I., van Veen, S., Samuel, J., and 10 others. Loss-of-function mutations in the ATP13A2/PARK9 gene cause complicated hereditary spastic paraplegia (SPG78). *Brain*. 2017; 140: 287-305.

Finckh U, Schroder J, Ressler B, Veske A, Gal A. Spectrum and detection rate of L1CAM mutations in isolated and familial cases with clinically suspected L1-disease. *Am J Med Genet*. 2000;92:40–6.

Fink JK. Hereditary spastic paraplegia: clinical principles and genetic advances. *Semin Neurol*. 2014; 34:293–305.

Fonknechten N, Mavel D, Byrne P, Davoine CS, Cruaud C, Bönsch D, Samson D, Coutinho P, Hutchinson M, McMonagle P, Burgunder JM, Tartaglione A, Heinzlef O, Feki I, Deufel T, Parfrey N, Brice A, Fontaine B, Prud'homme JF, Weissenbach J, Dürr A, Hazan J. Spectrum of SPG4 mutations in autosomal dominant spastic paraplegia. *Hum Mol Genet*. 2000;9:637–44.

Goizet C, Boukhris A, Durr A, Beetz C, Truchetto J, Tesson C, Tsaousidou M, Forlani S, Guyant-Maréchal L, Fontaine B, Guimarães J, Isidor B, Chazouillères O, Wendum D, Grid D, Chevy F, Chinnery PF, Coutinho P, Azulay JP, Feki I, Mochel F, Wolf C, Mhiri C, Crosby A, Brice A, Stevanin G. CYP7B1 mutations in pure and complex forms of hereditary spastic paraplegia type 5. *Brain*. 2009;132:1589–600.

Gonzalez M, McLaughlin H, Houlden H, Guo M, Yo-Tsen L, Hadjivassiliou M, Speziani F, Yang XL, Antonellis A, Reilly MM, Züchner S., Inherited Neuropathy Consortium. Exome sequencing identifies a significant variant in methionyl-tRNA synthetase (MARS) in a family with late-onset CMT2. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013;84:1247–9.

Gordon N. Sjögren-Larsson syndrome. *Dev Med Child Neurol*. 2007;49:152–4.

Guidubaldi A, Piano C, Santorelli FM, Silvestri G, Petracca M, Tessa A, Bentivoglio AR. Novel mutations in SPG11 cause hereditary spastic paraplegia associated with early-onset levodopa-responsive parkinsonism. *Mov Disord*. 2011;26: 553–556.

Hamdan FF, Gauthier J, Araki Y, Lin DT, Yoshizawa Y, Higashi K, Park AR, Spiegelman D, Dobrzeniecka S, Piton A, Tomitori H, Daoud H, Massicotte C, Henrion E, Diallo O. S2D Group, Shekarabi M, Marineau C, Shevell M, Maranda B, Mitchell G, Nadeau A, D'Anjou G, Vanasse M, Srour M, Lafrenière RG, Drapeau P, Lacaille JC, Kim E, Lee JR, Igarashi K, Hukanir RL, Rouleau GA, Michaud JL. Excess of de novo deleterious mutations in genes associated with glutamatergic systems in nonsyndromic intellectual disability. *Am J Hum Genet*. 2011;88:306–16.

Hammer MB, Eleuch-Fayache G, Schottlaender LV, Nehdi H, Gibbs JR, Arepalli SK, Chong SB, Hernandez DG, Sailer A, Liu G, Mistry PK, Cai H, Shrader G, Sassi C, Bouhlal Y, Houlden H, Hentati F, Amouri R, Singleton AB. Mutations in GBA2 cause autosomal-recessive cerebellar ataxia with spasticity. *Am J Hum Genet*. 2013;92:245–51.

Hanein S, Martin E, Boukhris A, Byrne P, Goizet C, Hamri A, Benomar A, Lossos A, Denora P, Fernandez J, Elleuch N, Forlani S, Durr A, Feki I, Hutchinson M, Santorelli FM, Mhiri C, Brice A, Stevanin G. Identification of the SPG15 gene, encoding spastizin, as a frequent cause of complicated autosomal-recessive spastic paraplegia, including Kjellin syndrome. *Am J Hum Genet*. 2008;82:992–1002.

Hansen JJ, Dürr A, Cournu-Rebeix I, Georgopoulos C, Ang D, Nielsen MN, Davoine CS, Brice A, Fontaine B, Gregersen N, Bross P. Hereditary spastic paraplegia SPG13 is associated with a mutation in the gene encoding the mitochondrial chaperonin Hsp60. *Am J Hum Genet*. 2002;70:1328–32.

Hardies K, May P, Djémié T, Tarta-Arsene O, Deconinck T, Craiu D. AR working group of the EuroEPINOMICS RES Consortium, Helbig I, Suls A, Balling R, Weckhuysen S, De Jonghe P, Hirst J. Recessive loss-of-function mutations in

AP4S1 cause mild fever-sensitive seizures, developmental delay and spastic paraplegia through loss of AP-4 complex assembly. *Hum Mol Genet.* 2015;24:2218–27.

Harding AE. Classification of the hereditary ataxias and paraplegias. *Lancet.* 1983;1:1151-5.

Harlalka GV, Lehman A, Chioza B, Baple EL, Maroofian R, Cross H, Sreekantan-Nair A, Priestman DA, Al-Turki S, McEntagart ME, Proukakis C, Royle L, Kozak RP, Bastaki L, Patton M, Wagner K, Coblenz R, Price J, Mezei M, Schlade-Bartusiak K, Platt FM, Hurles ME, Crosby AH. Mutations in B4GALNT1 (GM2 synthase) underlie a new disorder of ganglioside biosynthesis. *Brain.* 2013;136:3618–24.

Hazan J, Fonknechten N, Mavel D, Paternotte C, Samson D, Artiguenave F, Davoine CS, Cruaud C, Dürr A, Wincker P, Brottier P, Cattolico L, Barbe V, Burgunder JM, Prud'homme JF, Brice A, Fontaine B, Heilig B, Weissenbach J. Spastin, a new AAA protein, is altered in the most frequent form of autosomal dominant spastic paraplegia. *Nat Genet.* 1999;23:296–303.

Hedera P, DiMauro S, Bonilla E, Wald J, Eldevik OP, Fink JK. Phenotypic analysis of autosomal dominant hereditary spastic paraplegia linked to chromosome 8q. *Neurology.* 1999;53:44–50.

Hedera P, Eldevik OP, Maly P, Rainier S, Fink JK . Spinal cord magnetic resonance imaging in autosomal dominant hereditary spastic paraplegia. *Neuroradiology.* 2005;47:730–734.

Hedera P. Recurrent de novo c.316G>A mutation in NIPA1 hotspot. *J Neurol Sci.* 2013;335:231–2.

Hodes ME, Zimmerman AW, Aydanian A, Naidu S, Miller NR, Garcia Oller JL, Barker B, Aleck KA, Hurley TD, Dlouhy SR. Different mutations in the same codon of the proteolipid protein gene, PLP, may help in correlating genotype with phenotype in Pelizaeus-Merzbacher disease/X-linked spastic paraplegia (PMD/SPG2). *Am J Med Genet.* 1999;82:132–9.

Hufnagel RB, Arno G, Hein ND, Hersheson J, Prasad M, Anderson Y, Krueger LA, Gregory LC, Stoetzel C, Jaworek TJ, Hull S, Li A, Plagnol V, Willen CM, Morgan TM, Prows CA, Hegde RS, Riazuddin S, Grabowski GA, Richardson RJ, Dieterich K, Huang T, Revesz T, Martinez-Barbera JP, Sisk RA, Jefferies C, Houlden H, Dattani MT, Fink JK, Dollfus H, Moore AT, Ahmed ZM. Neuropathy target esterase impairments cause Oliver-McFarlane and Laurence-Moon syndromes. *J Med Genet.* 2015;52:85–94.

Ishiura H, Takahashi Y, Hayashi T, Saito K, Furuya H, Watanabe M, Murata M, Suzuki M, Sugiura A, Sawai S, Shibuya K, Ueda N, Ichikawa Y, Kanazawa I, Goto J, Tsuji S. Molecular epidemiology and clinical spectrum of hereditary spastic paraplegia in the Japanese population based on comprehensive mutational analyses. *J Hum Genet.* 2014;59:163–72.

Ivanova N, Claeys KG, Deconinck T, Litvinenko I, Jordanova A, Auer-Grumbach M, Haberlova J, Löfgren A, Smeyers G, Nelis E, Mercelis R, Plecko B, Priller J, Zámečník J, Ceulemans B, Erichsen AK, Björck E, Nicholson G, Sereda MW, Seeman P, Kremensky I, Mitev V, De Jonghe P. Hereditary spastic paraplegia 3A associated with axonal neuropathy. *Arch Neurol*. 2007;64:706–13.

Jouet M, Rosenthal A, Armstrong G, MacFarlane J, Stevenson R, Paterson J, Metzenberg A, Ionasescu V, Temple K, Kenwrick S. X-linked spastic paraplegia (SPG1), MASA syndrome and X-linked hydrocephalus result from mutations in the L1 gene. *Nat Genet*. 1994;7:402–7.

Kancheva D, Chamova T, Guergueltcheva V, Mitev V, Azmanov DN, Kalaydjieva L, Tournev I, Jordanova A. Mosaic dominant TUBB4A mutation in an inbred family with complicated hereditary spastic paraplegia. *Mov Disord*. 2015;30:854–8.

Khan TN, Klar J, Tariq M, Anjum Baig S, Malik NA, Yousaf R, Baig SM, Dahl N. Evidence for autosomal recessive inheritance in SPG3A caused by homozygosity for a novel ATL1 missense mutation. *Eur J Hum Genet*. 2014;22:1180–4.

Khundadze M, Kollmann K, Koch N, Biskup C, Nietzsche S, Zimmer G, Hennings JC, Huebner AK, Symmank J, Jahic A, Ilina EI, Karle K, Schöls L, Kessels M, Bräulke T, Qualmann B, Kurth I, Beetz C, Hübner CA. A hereditary spastic paraplegia mouse model supports a role of ZFYVE26/SPASTIZIN for the endolysosomal system. *PLoS Genet*. 2013;9(12):e1003988.

Klebe S, Lossos A, Azzedine H, Mundwiler E, Sheffer R, Gausson M, Marelli C, Nawara M, Carpentier W, Meyer V, Rastetter A, Martin E, Bouteiller D, Orlando L, Gyapay G, El-Hachimi KH, Zimmerman B, Gamliel M, Misk A, Lerer I, Brice A, Durr A, Stevanin G. KIF1A missense mutations in SPG30, an autosomal recessive spastic paraplegia: distinct phenotypes according to the nature of the mutations. *Eur J Hum Genet*. 2012;20:645–9.

Klebe S, Stevanin G, Depienne C. Clinical and genetic heterogeneity in hereditary spastic paraplegias: from SPG1 to SPG72 and still counting. *Rev Neurol (Paris)*. 2015;171:505–530.

Kortüm F, Jamra RA, Alawi M, Berry SA, Borck G, Helbig KL, Tang S, Huhle D, Korenke GC, Hebbbar M, Shukla A, Girisha KM, Steinlin M, Waldmeier-Wilhelm S, Montomoli M, Guerrini R, Lemke JR, Kutsche K. Clinical and genetic spectrum of AMPD2-related pontocerebellar hypoplasia type 9. *Eur J Hum Genet*. 2018;26:695–708.

Landouré G, Zhu PP, Lourenço CM, Johnson JO, Toro C, Bricceno KV, Rinaldi C, Meilleur KG, Sangaré M, Diallo O, Pierson TM, Ishiura H, Tsuji S, Hein N, Fink JK, Stoll M, Nicholson G, Gonzalez MA, Speziani F, Dürr A, Stevanin G, Biesecker LG. NIH Intramural Sequencing Center, Accardi J, Landis DM, Gahl WA, Traynor BJ, Marques W Jr, Züchner S, Blackstone C, Fischbeck KH, Burnett BG. Hereditary spastic paraplegia type 43 (SPG43) is caused by mutation in C19orf12. *Hum Mutat*. 2013;34:1357–60.

Li M, Ho PW, Pang SY, Tse ZH, Kung MH, Sham PC, Ho SL. PMCA4 (ATP2B4) mutation in familial spastic paraplegia. *PLoS One*. 2014;9:e104790.

Lin P, Li J, Liu Q, Mao F, Li J, Qiu R, Hu H, Song Y, Yang Y, Gao G, Yan C, Yang W, Shao C, Gong Y. A missense mutation in SLC33A1, which encodes the acetyl-CoA transporter, causes autosomal-dominant spastic paraplegia (SPG42). *Am J Hum Genet*. 2008;83:752–9.

Liu YT, Laurá M, Hersheson J, Horga A, Jaunmuktane Z, Brandner S, Pittman A, Hughes D, Polke JM, Sweeney MG, Proukakis C, Janssen JC, Auer-Grumbach M, Zuchner S, Shields KG, Reilly MM, Houlden H. Extended phenotypic spectrum of KIF5A mutations: from spastic paraplegia to axonal neuropathy. *Neurology*. 2014;83:612–9.

Lossos A, Stümpfig C, Stevanin G, Gausson M, Zimmerman BE, Mundwiler E, Asulin M, Chamma L, Sheffer R, Misk A, Dotan S, Gomori JM, Ponger P, Brice A, Lerer I, Meiner V, Lill R. Fe/S protein assembly gene IBA57 mutation causes hereditary spastic paraplegia. *Neurology*. 2015;84:659–67.

Lynex CN, Carr IM, Leek JP, Achuthan R, Mitchell S, Maher ER, Woods CG, Bonthon DT, Markham AF. Homozygosity for a missense mutation in the 67 kDa isoform of glutamate decarboxylase in a family with autosomal recessive spastic cerebral palsy: parallels with stiff-person syndrome and other movement disorders. *BMC Neurol*. 2004;4:20.

Macedo-Souza, L. I., Kok, F., Santos, S., Amorim, S. C., Starling, A., Nishimura, A., Lezirovitz, K., Lino, A. M. M., Zatz, M. Spastic paraplegia, optic atrophy, and neuropathy is linked to chromosome 11q13. *Ann. Neurol*. 2005; 57: 730-737.

Maier A, Klopocki E, Horn D, Tzschach A, Holm T, Meyer R, Meyer T. De novo partial deletion in GRID2 presenting with complicated spastic paraplegia. *Muscle Nerve*. 2014;49:289–92.

Mannan AU, Krawen P, Sauter SM, Boehm J, Chronowska A, Paulus W, Neesen J, Engel W. ZFYVE27 (SPG33), a novel spastin-binding protein, is mutated in hereditary spastic paraplegia. *Am J Hum Genet*. 2006;79:351–7.

McDermott CJ, Dayaratne RK, Tomkins J, Lusher ME, Lindsey JC, Johnson MA, Casari G, Turnbull DM, Bushby K, Shaw PJ. Paraplegin gene analysis in hereditary spastic paraparesis (HSP) pedigrees in northeast England. *Neurology*. 2001;56:467–71.

Melo US, Macedo-Souza LI, Figueiredo T, Muotri AR, Gleeson JG, Coux G, Armas P, Calcaterra NB, Kitajima JP, Amorim S, Olávio TR, Griesi-Oliveira K, Coatti GC, Rocha CR, Martins-Pinheiro M, Menck CF, Zaki MS, Kok F, Zatz M, Santos S. Overexpression of KLC2 due to a homozygous deletion in the non-coding region causes SPOAN syndrome. *Hum Mol Genet*. 2015;24:6877–85.

Montenegro G, Rebelo AP, Connell J, Allison R, Babalini C, D'Aloia M, Montieri P, Schüle R, Ishiura H, Price J, Strickland A, Gonzalez MA, Baumbach-Reardon L, Deconinck T, Huang J, Bernardi G, Vance JM, Rogers MT, Tsuji S, De Jonghe

P, Pericak-Vance MA, Schöls L, Orlandi A, Reid E, Züchner S. Mutations in the ER-shaping protein reticulon 2 cause the axon-degenerative disorder hereditary spastic paraplegia type 12. *J Clin Invest*. 2012;122:538–44.

Moreno-De-Luca A, Helmers SL, Mao H, Burns TG, Melton AM, Schmidt KR, Fernhoff PM, Ledbetter DH, Martin CL. *J Med Genet*. 2011;48:141–4.

Murakami Y, Tawamie H, Maeda Y, Büttner C, Buchert R, Radwan F, Schaffer S, Sticht H, Aigner M, Reis A, Kinoshita T, Jamra RA. Null mutation in PGAP1 impairing Gpi-anchor maturation in patients with intellectual disability and encephalopathy. *PLoS Genet*. 2014;10:e1004320.

Murphy S, Gorman G, Beetz C, Byrne P, Dytko M, McMonagle P, Kinsella K, Farrell M, Hutchinson M. Dementia in SPG4 hereditary spastic paraplegia: clinical, genetic, and neuropathologic evidence. *Neurology*. 2009;73:378–84.

Musacchio T, Zaum AK, Üçeyler N, Sommer C, Pfeifroth N, Reiners K, Kunstmann E, Volkmann J, Rost S, Klebe S. ALS and MMN mimics in patients with BSCL2 mutations: the expanding clinical spectrum of SPG17 hereditary spastic paraplegia. *J Neurol*. 2017;264:11–20.

Namekawa M, Ribai P, Nelson I, Forlani S, Fellmann F, Goizet C, Depienne C, Stevanin G, Ruberg M, Dürr A, Brice A. SPG3A is the most frequent cause of hereditary spastic paraplegia with onset before age 10 years. *Neurology*. 2006;66:112–14.

Nielsen JE, Johnsen B, Koefoed P, Scheuer KH, Grønbech-Jensen M, Law I, Krabbe K, Nørremølle A, Eiberg H, Søndergård H, Dam M, Rehfeld JF, Krarup C, Paulson OB, Hasholt L, Sørensen SA. Hereditary spastic paraplegia with cerebellar ataxia: a complex phenotype associated with a new SPG4 gene mutation. *Eur J Neurol*. 2004;11:817–24.

Novarino G, Fenstermaker AG, Zaki MS, Hofree M, Silhavy JL, Heiberg AD, Abdellateef M, Rosti B, Scott E, Mansour L, Masri A, Kayserili H, Al-Aama JY, Abdel-Salam GMH, Karminejad A, Kara M, Kara B, Bozorgmehri B, Ben-Omran T, Mojahedi F, El Din Mahmoud IG, Bouslam N, Bouhouche A, Benomar A, Hanein S, Raymond L, Forlani S, Mascaro M, Selim L, Shehata N, Al-Allawi N, Bindu PS, Azam M, Gunel M, Caglayan A, Bilguvar K, Tolun A, Issa MY, Schroth J, Spencer EG, Rosti RO, Akizu N, Vaux KK, Johansen A, Koh AA, Megahed H, Durr A, Brice A, Stevanin G, Gabriel SB, Ideker T, Gleeson JG. Exome sequencing links corticospinal motor neuron disease to common neurodegenerative disorders. *Science*. 2014;343:506–11.

Oates EC, Rossor AM, Hafezparast M, Gonzalez M, Speziani F, MacArthur DG, Lek M, Cottenie E, Scoto M, Foley AR, Hurler M, Houlden H, Greensmith L, Auer-Grumbach M, Pieber TR, Strom TM, Schule R, Herrmann DN, Sowden JE, Acsadi G, Menezes MP, Clarke NF, Züchner S. UK10K, Muntoni F, North KN, Reilly MM. Mutations in BICD2 cause dominant congenital spinal muscular atrophy and hereditary spastic paraplegia. *Am J Hum Genet*. 2013;92:965–73.

Orthmann-Murphy JL, Salsano E, Abrams CK, Bizzi A, Uziel G, Freidin MM, Lamantea E, Zeviani M, Scherer SS, Pareyson D. Hereditary spastic paraplegia is a novel phenotype for GJA12/GJC2 mutations. *Brain*. 2009;132:426–38.

Oz-Levi D, Ben-Zeev B, Ruzzo EK, Hitomi Y, Gelman A, Pelak K, Anikster Y, Reznik-Wolf H, Bar-Joseph I, Olender T, Alkelai A, Weiss M, Ben-Asher E, Ge D, Shianna KV, Elazar Z, Goldstein DB, Pras E, Lancet D. Mutation in TECPR2 reveals a role for autophagy in hereditary spastic paraparesis. *Am J Hum Genet*. 2012;91:1065–72.

Paisan-Ruiz C, Dogu O, Yilmaz A, Houlden H, Singleton A. SPG11 mutations are common in familial cases of complicated hereditary spastic paraplegia. *Neurology*. 2008;70:1384–9.

Patel H, Cross H, Proukakis C, Hershberger R, Bork P, Ciccarelli FD, Patton MA, McKusick VA, Crosby AH. SPG20 is mutated in Troyer syndrome, an hereditary spastic paraplegia. *Nat Genet*. 2002;31:347–8.

Pensato V, Castellotti B, Gellera C, Pareyson D, Ciano C, Nanetti L, Salsano E, Piscoquito G, Sarto E, Eoli M, Moroni I, Soliveri P, Lamperti E, Chiapparini L, Di Bella D, Taroni F, Mariotti C. Overlapping phenotypes in complex spastic paraplegias SPG11, SPG15, SPG35 and SPG48. *Brain*. 2014;137:1907–20.

Pfeffer G, Gorman GS, Griffin H, Kurzawa-Akanbi M, Blakely EL, Wilson I, Sitarz K, Moore D, Murphy JL, Alston CL, Pyle A, Coxhead J, Payne B, Gorrie GH, Longman C, Hadjivassiliou M, McConville J, Dick D, Imam I, Hilton D, Norwood F, Baker MR, Jaiser SR, Yu-Wai-Man P, Farrell M, McCarthy A, Lynch T, McFarland R, Schaefer AM, Turnbull DM, Horvath R, Taylor RW, Chinnery PF. Mutations in the SPG7 gene cause chronic progressive external ophthalmoplegia through disordered mitochondrial DNA maintenance. *Brain*. 2014 May;137(Pt 5):1323–36.

Rainier S, Chai JH, Tokarz D, Nicholls RD, Fink JK. NIPA1 gene mutations cause autosomal dominant hereditary spastic paraplegia (SPG6). *Am J Hum Genet*. 2003;73:967–71.

Rainier S, Sher C, Reish O, Thomas D, Fink JK. De novo occurrence of novel SPG3A / atlastin mutation presenting as cerebral palsy. *Arch Neurol*. 2006;63:445–7.

Reid E, Kloos M, Ashley-Koch A, Hughes L, Bevan S, Svenson IK, Graham FL, Gaskell PC, Dearlove A, Pericak-Vance MA, Rubinsztein DC, Marchuk DA. A kinesin heavy chain (KIF5A) mutation in hereditary spastic paraplegia (SPG10). *Am J Hum Genet*. 2002;71:1189–94.

Rinaldi C, Schmidt T, Situ AJ, Johnson JO, Lee PR, Chen KL, Bott LC, Fadó R, Harmison GH, Parodi S, Grunseich C, Renvoisé B, Biesecker LG, De Michele G, Santorelli FM, Filla A, Stevanin G, Dürr A, Brice A, Casals N, Traynor BJ, Blackstone C, Ulmer TS, Fischbeck KH. Mutation in CPT1C associated with pure autosomal dominant spastic paraplegia. *JAMA Neurol*. 2015;72:561–70.

Riverol M, Samaranch L, Pascual B, Pastor P, Irigoyen J, Pastor MA, de Castro P, Masdeu JC. Forceps minor region signal abnormality "ears of the lynx": an early MRI finding in spastic paraparesis with thin corpus callosum and mutations in the spatascin gene (SPG11) on chromosome 15. *J Neuroimaging*. 2009;19:52–60.

Rivière JB, Ramalingam S, Lavastre V, Shekarabi M, Holbert S, Lafontaine J, Srour M, Merner N, Rochefort D, Hince P, Gaudet R, Mes-Masson AM, Baets J, Houlden H, Brais B, Nicholson GA, Van Esch H, Nafissi S, De Jonghe P, Reilly MM, Timmerman V, Dion PA, Rouleau GA. KIF1A, an axonal transporter of synaptic vesicles, is mutated in hereditary sensory and autonomic neuropathy type 2. *Am J Hum Genet*. 2011;89:219–30.

Rizzo WB, Carney G, Lin Z. The molecular basis of Sjögren-Larsson syndrome: mutation analysis of the fatty aldehyde dehydrogenase gene. *Am J Hum Genet*. 1999;65:1547–60.

Ruano L, Melo C, Silva MC, Coutinho P. The global epidemiology of hereditary ataxia and spastic paraplegia: a systematic review of prevalence studies. *Neuroepidemiology*. 2014;42:174–183.

Rydning SL, Dudesek A, Rimmel F, Funke C, Krüger S, Biskup S, Vigeland MD, Hjorthaug HS, Sejersted Y, Tallaksen C, Selmer KK, Kamm C. A novel heterozygous variant in ERLIN2 causes autosomal dominant pure hereditary spastic paraplegia. *Eur J Neurol*. 2018;25:943–e71.

Sambuughin N, Goldfarb LG, Sivtseva TM, Davydova TK, Vladimirtsev VA, Osakovskiy VL, Danilova AP, Nikitina RS, Ylakhova AN, Diachkovskaya MP, Sundborger AC, Renwick NM, Platonov FA, Hinshaw JE, Toro C. Adult-onset autosomal dominant spastic paraplegia linked to a GTPase-effector domain mutation of dynamin 2. *BMC Neurol*. 2015;15:223.

Saugier-Veber P, Munnich A, Bonneau D, Rozet JM, Le Merrer M, Gil R, Boespflug-Tanguy O. X-linked spastic paraplegia and Pelizaeus-Merzbacher disease are allelic disorders at the proteolipid protein locus. *Nat Genet*. 1994;6:257–62.

Schrander-Stumpel C, Höweler C, Jones M, Sommer A, Stevens C, Tinschert S, Israel J, Fryns JP. Spectrum of X-linked hydrocephalus (HSAS), MASA syndrome, and complicated spastic paraplegia (SPG1): clinical review with six additional families. *Am J Med Genet*. 1995;57:107–16.

Schubert SF, Hoffjan S, Dekomien G. Mutational analysis of the CYP7B1, PNPLA6 and C19orf12 genes in autosomal recessive hereditary spastic paraplegia. *Mol Cell Probes*. 2016;30:53–5.

Schuurs-Hoeijmakers JH, Geraghty MT, Kamsteeg EJ, Ben-Salem S, de Bot ST, Nijhof B, van de Vondervoort II, van der Graaf M, Nobau AC, Otte-Höller I, Vermeer S, Smith AC, Humphreys P, Schwartzentruber J., FORGE Canada Consortium. Ali BR, Al-Yahyaee SA, Tariq S, Pramathan T, Bayoumi R, Kremer

HP, van de Warrenburg BP, van den Akker WM, Gilissen C, Veltman JA, Janssen IM, Vulto-van Silfhout AT, van der Velde-Visser S, Lefeber DJ, Diekstra A, Erasmus CE, Willemsen MA, Vissers LE, Lammens M, van Bokhoven H, Brunner HG, Wevers RA, Schenck A, Al-Gazali L, de Vries BB, de Brouwer AP. Mutations in DDHD2, encoding an intracellular phospholipase A(1), cause a recessive form of complex hereditary spastic paraplegia. *Am J Hum Genet.* 2012;91:1073–81.

Servelhere KR, Faber I, Coan AC, França-Junior M. Translation and validation into Brazilian Portuguese of the Spastic Paraplegia Rating Scale (SPRS). *Arq Neuro-Psiquiatr.* 2016;74:489-494

Shimazaki H, Takiyama Y, Ishiura H, Sakai C, Matsushima Y, Hatakeyama H, Honda J, Sakoe K, Naoi T, Namekawa M, Fukuda Y, Takahashi Y, Goto J, Tsuji S, Goto Y, Nakano I., Japan Spastic Paraplegia Research Consortium (JASPAC). A homozygous mutation of C12orf65 causes spastic paraplegia with optic atrophy and neuropathy (SPG55). *J Med Genet.* 2012;49:777–84.

Simpson MA, Cross H, Proukakis C, Pryde A, Hershberger R, Chatonnet A, Patton MA, Crosby AH. Maspardin is mutated in mast syndrome, a complicated form of hereditary spastic paraplegia associated with dementia. *Am J Hum Genet.* 2003;73:1147–56.

Sivakumar K, Sambuughin N, Selenge B, Nagle JW, Baasanjav D, Hudson LD, Goldfarb LG. Novel exon 3B proteolipid protein gene mutation causing late-onset spastic paraplegia type 2 with variable penetrance in female family members. *Ann Neurol.* 1999;45:680–3.

Słabicki M, Theis M, Krastev DB, Samsonov S, Mundwiler E, Junqueira M, Paszkowski-Rogacz M, Teyra J, Heninger AK, Poser I, Prieur F, Truchetto J, Confavreux C, Marelli C, Durr A, Camdessanche JP, Brice A, Shevchenko A, Pisabarro MT, Stevanin G, Buchholz F. A genome-scale DNA repair RNAi screen identifies SPG48 as a novel gene associated with hereditary spastic paraplegia. *PLoS Biol.* 2010;8:e1000408.

Solowska JM, Rao AN, Baas PW. Truncating mutations of SPAST associated with hereditary spastic paraplegia indicate greater accumulation and toxicity of the M1 isoform of spastin. *Mol Biol Cell.* 2017;28(13):1728–1737.

Stevanin G, Azzedine H, Denora P, Boukhris A, Tazir M, Lossos A, Rosa AL, Lerer I, Hamri A, Alegria P, Loureiro J, Tada M, Hannequin D, Anheim M, Goizet C, Gonzalez-Martinez V, Le Ber I, Forlani S, Iwabuchi K, Meiner V, Uyanik G, Erichsen AK, Feki I, Pasquier F, Belarbi S, Cruz VT, Depienne C, Truchetto J, Garrigues G, Tallaksen C, Tranchant C, Nishizawa M, Vale J, Coutinho P, Santorelli FM, Mhiri C, Brice A, Durr A. Mutations in SPG11 are frequent in autosomal recessive spastic paraplegia with thin corpus callosum, cognitive decline and lower motor neuron degeneration. *Brain.* 2008;131: 772–784.

Stevanin G, Santorelli FM, Azzedine H, Coutinho P, Chomilier J, Denora PS, Martin E, Ouvrard-Hernandez AM, Tessa A, Bouslam N, Lossos A, Charles P,

Loureiro JL, Elleuch N, Confavreux C, Cruz VT, Ruberg M, Leguern E, Grid D, Tazir M, Fontaine B, Filla A, Bertini E, Durr A, Brice A. Mutations in SPG11, encoding spatacsin, are a major cause of spastic paraplegia with thin corpus callosum. *Nat Genet.* 2007;39:366–72.

Strachan, T.; Read, A. P. *Genética molecular humana*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013

Strümpell A. BeitragezurPathologie des Rückenmarks. *Arch PsychiatrNervenkr.* 1880;10(3):676-717.

Svenstrup K, Møller RS, Christensen J, Budtz-Jørgensen E, Gilling M, Nielsen JE. NIPA1 mutation in complex hereditary spastic paraplegia with epilepsy. *Eur J Neurol.* 2011;18:1197–9.

Synofzik M, Gonzalez MA, Lourenco CM, Coutelier M, Haack TB, Rebelo A, Hannequin D, Strom TM, Prokisch H, Kernstock C, Durr A, Schols L, Lima-Martinez MM, Farooq A, Schule R, Stevanin G, Marques W Jr, Zuchner S. PNPLA6 mutations cause Boucher-Neuhauser and Gordon Holmes syndromes as part of a broad neurodegenerative spectrum. *Brain.* 2014;137:69–77.

Tesson C, Koht J, Stevanin G. Delving into the complexity of hereditary spastic paraplegias: how unexpected phenotypes and inheritance modes are revolutionizing their nosology. *Hum Genet.* 2015;134: 511–538.

Tesson C, Nawara M, Salih MA, Rossignol R, Zaki MS, Al Balwi M, Schule R, Mignot C, Obre E, Bouhouche A, Santorelli FM, Durand CM, Oteyza AC, El-Hachimi KH, Al Drees A, Bouslam N, Lamari F, Elmalik SA, Kabiraj MM, Seidahmed MZ, Esteves T, Gaussen M, Monin ML, Gyapay G, Lechner D, Gonzalez M, Depienne C, Mochel F, Lavie J, Schols L, Lacombe D, Yahyaoui M, Al Abdulkareem I, Zuchner S, Yamashita A, Benomar A, Goizet C, Durr A, Gleeson JG, Darios F, Brice A, Stevanin G. Alteration of fatty-acid-metabolizing enzymes affects mitochondrial form and function in hereditary spastic paraplegia. *Am J Hum Genet.* 2012;91:1051–64.

Torraco A, Ardisson A, Invernizzi F, Rizza T, Fiermonte G, Niceta M, Zanetti N, Martinelli D, Voza A, Verrigni D, Di Nottia M, Lamantea E, Diodato D, Tartaglia M, Dionisi-Vici C, Moroni I, Farina L, Bertini E, Ghezzi D, Carozzo R. Novel mutations in IBA57 are associated with leukodystrophy and variable clinical phenotypes. *J Neurol.* 2017;264:102–11.

Tsaousidou MK, Ouahchi K, Warner TT, Yang Y, Simpson MA, Laing NG, Wilkinson PA, Madrid RE, Patel H, Hentati F, Patton MA, Hentati A, Lamont PJ, Siddique T, Crosby AH. Sequence alterations within CYP7B1 implicate defective cholesterol homeostasis in motor-neuron degeneration. *Am J Hum Genet.* 2008;82:510–5.

Tunca C, Akçimen F, Coşkun C, Gündoğdu-Eken A, Kocoglu C, Çevik B, Bekircan-Kurt CE, Tan E, Başak AN. ERLIN1 mutations cause teenage-onset

slowly progressive ALS in a large Turkish pedigree. *Eur J Hum Genet.* 2018;26:745–8.

Uhlenberg B, Schuelke M, Rüschenhoff F, Ruf N, Kaindl AM, Henneke M, Thiele H, Stoltenburg-Diding G, Aksu F, Topaloğlu H, Nürnberg P, Hübner C, Weschke B, Gärtner J. Mutations in the gene encoding gap junction protein alpha 12 (connexin 46.6) cause Pelizaeus-Merzbacher-like disease. *Am J Hum Genet.* 2004;75:251–60.

Utine GE, Haliloğlu G, Salanci B, Çetinkaya A, Kiper PÖ, Alanay Y, Aktas D, Boduroğlu K, Alikashiçoğlu M. A homozygous deletion in GRID2 causes a human phenotype with cerebellar ataxia and atrophy. *J Child Neurol.* 2013;28:926–32.

Valdmanis PN, Meijer IA, Reynolds A, Lei A, MacLeod P, Schlesinger D, Zatz M, Reid E, Dion PA, Drapeau P, Rouleau GA. Mutations in the KIAA0196 gene at the SPG8 locus cause hereditary spastic paraplegia. *Am J Hum Genet.* 2007;80:152–61.

Verkerk AJ, Schot R, Dumee B, Schellekens K, Swagemakers S, Bertoli-Avella AM, Lequin MH, Dudink J, Govaert P, van Zwol AL, Hirst J, Wessels MW, Catsman-Berrevoets C, Verheijen FW, de Graaff E, de Coo IF, Kros JM, Willemsen R, Willems PJ, van der Spek PJ, Mancini GM. Mutation in the AP4M1 gene provides a model for neuroaxonal injury in cerebral palsy. *Am J Hum Genet.* 2009;85:40–52.

Verny C, Guegen N, Desquirit V, Chevrollier A, Prundean A, Dubas F, Cassereau J, Ferre M, Amati-Bonneau P, Bonneau D, Reynier P, Procaccio V. Hereditary spastic paraplegia-like disorder due to a mitochondrial ATP6 gene point mutation. *Mitochondrion.* 2011;11: 70–75.

Verny C, Guegen N, Desquirit V, Chevrollier A, Prundean A, Dubas F, Cassereau J, Ferre M, Amati-Bonneau P, Bonneau D, Reynier P, Procaccio V. Hereditary spastic paraplegia-like disorder due to a mitochondrial ATP6 gene point mutation. *Mitochondrion.* 2011;11:70–5.

Windpassinger C, Auer-Grumbach M, Irobi J, Patel H, Petek E, Hörl G, Malli R, Reed JA, Dierick I, Verpoorten N, Warner TT, Proukakis C, Van den Bergh P, Verellen C, Van Maldergem L, Merlini L, De Jonghe P, Timmerman V, Crosby AH, Wagner K. Heterozygous missense mutations in BSCL2 are associated with distal hereditary motor neuropathy and Silver syndrome. *Nat Genet.* 2004;36:271–6.

Yamasaki M, Arita N, Hiraga S, Izumoto S, Morimoto K, Nakatani S, Fujitani K, Sato N, Hayakawa T. A clinical and neuroradiological study of X-linked hydrocephalus in Japan. *J Neurosurg.* 1995;83:50–5.

Yıldırım Y, Orhan EK, Iseri SA, Serdaroglu-Ofłazer P, Kara B, Solakoğlu S, Tolun A. A frameshift mutation of ERLIN2 in recessive intellectual disability, motor dysfunction and multiple joint contractures. *Hum Mol Genet.* 2011;20:1886–92. Zhao X, Alvarado D, Rainier S, Lemons R, Hedera P, Weber CH, Tükel T, Apak

M, Heiman-Patterson T, Ming L, Bui M, Fink JK. Mutations in a newly identified GTPase gene cause autosomal dominant hereditary spastic paraplegia. *Nat Genet.* 2001;29:326–31.