

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE
MESTRADO PROFISSIONAL EM GENÉTICA APLICADA À MEDICINA

**HISTÓRIA NATURAL DA ATAXIA
ESPINOCEREBELAR TIPO 3 / DOENÇA DE
MACHADO - JOSEPH COM INÍCIO NA INFÂNCIA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE MESTRADO PROFISSIONAL
KARINA CARVALHO DONIS

PORTO ALEGRE, BRASIL, 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E
ADOLESCENTE
MESTRADO PROFISSIONAL EM GENÉTICA
APLICADA À MEDICINA

**HISTÓRIA NATURAL DA ATAXIA
ESPINOCEREBELAR TIPO 3 / DOENÇA DE
MACHADO - JOSEPH COM INÍCIO NA INFÂNCIA**

KARINA CARVALHO DONIS

Orientador: Prof^a. Laura Bannach Jardim

“A apresentação deste trabalho de conclusão de mestrado profissional é exigência Do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre”

PORTO ALEGRE, BRASIL, 2015

CIP - Catalogação na Publicação

Carvalho Donis, Karina
História Natural da Ataxia Espinocerebelar tipo 3
/ Doença de Machado-Joseph com início na infância /
Karina Carvalho Donis. -- 2015.
72 f.

Orientador: Laura Bannach Jardim.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente,
Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Ataxia espinocerebelar tipo 3. 2. Doença de
Machado-Joseph. 3. Manifestação clínica na infância. I.
Bannach Jardim, Laura , orient. II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE

ESTA DISSERTAÇÃO FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

22 / 04 / 2015

E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

Carlos Eduardo Speck Martins
(Rede SARAÍ de Hospitais de reabilitação
Universidade de Brasília - UnB)

Orlando Graziani Povoas Barsottini
(Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina)

Lavinia Schuler Faccini
Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Laura Bannach Jardim pelo apoio neste e em outros projetos e pelos ensinamentos ao longo de sete anos.

Aos membros da banca avaliadora desse trabalho, Carlos Eduardo Speck Martins, Lavínia Schüler-Faccini e Orlando Barsottini pela revisão técnica desta dissertação.

Aos médicos contratados e professores do SGM-HCPA, pelo apoio e ensinamentos: Carolina F. M. Souza, Cristina Netto, Filippo Vairo, Jonas Saute, Júlio César Leite, Maria Teresa Sanseverino, Têmis M. Felix, Ida Vanessa Doederlein Schwartz, Patricia Ashton Prolla e Roberto Giugliani.

Aos pacientes, motivo de nosso estudo e dedicação.

Aos meus queridos amigos e colegas de Residência em Genética Médica: Daniele Konzen, Kalina Lopes Carneiro, Cláudia Fernandes Lorea, Fabiano de Oliveira Poswar, André dos Anjos e Ana Paula de Boer pela ajuda e pelo companheirismo em todos os momentos.

- Aos amigos pediatras Álvaro Durán, Cristina Midori, Denise Lima, Geanine Gobo, Júlia Victoria, Juliana Seibert, Klerize A. de Souza, Leandra Rech, Luise Poitevin, Natália B. Lima, Patrícia Piccoli, Renata Kostin, Stefânia S. Vieira e Taciane Alegra.

Aos amigos do Serviço de Genética Médica: Aline Russo, Amanda Quevedo, Ana Carolina Krum, Antonette El Husny, Bianca Heineck, Bruna Pinheiro, Camila Bittar, Carine Budzyn, Chenia Martinez, Eduardo Mattos, Evelise Brizola, Flávia Romariz Ferreira, Gabriel Furtado, Gabriele Nunes, Henrique Galvão, Julia Martini, Luiza Emy Dorfman, Mariana Oliveira, Marina Zambrano e Tássia Tonon.

Aos amigos: Daniele Bonfada, Débora Tacca, Douglas Martins, Eliana Sayuri Seki, Felipe Lopuszinski, Giovane Silva, Gustavo Toniasso, Lindones Leal, Luciana Michel, Luci Mara Ribeiro, Pablo Sabbado, Sheila Cardoso, Silvio Brum e Verônica Gutierres.

Um agradecimento muito especial à minha família.

Aos meus pais Maria Nadir Carvalho Donis e Wilson Donis e a minha irmã Rejane Carvalho Donis pelos ensinamentos, incentivos e por todo amor e carinho recebido; ao meu cunhado Adel Braga, aos meus padrinhos Marli e Carlos e sua família e a minha 2º madrinha Vera.

Ao meu marido Carlos Alexandre Machado, companheiro há 14 anos, por todo amor e paciência neste período e a sua família, Carmem Machado, Noe Machado e Luis Fernando Rodini.

RESUMO

Introdução: A Ataxia Espinocerebelar tipo 3 (SCA3), também chamada de Doença de Machado – Joseph (DMJ) é uma doença neurodegenerativa autossômica dominante causada pela expansão de uma sequência repetitiva CAG no gene *ATXN3* localizado no cromossomo 14q32.1. Alelos normais contêm 12 a 43 repetições CAG; alelos causadores da doença contêm 51 ou mais repetições CAG (CAGexp). Existe uma forte correlação entre o tamanho da expansão e a gravidade da doença, e a antecipação é um fenômeno comum. Com idade de início média entre os 32 e os 40 anos, a SCA3/DMJ se apresenta com ataxia, disartria, disfagia com uma expressão clínica heterogênea e manifestações clínicas abrangendo múltiplos sistemas neurológicos como as vias piramidais e extrapiramidais, a sensibilidade e o neurônio motor inferior. O curso da SCA3/DMJ é invariavelmente progressivo, levando os pacientes à dependência funcional e ao retraimento social e não há tratamentos específicos para a condição. Estima-se que a sobrevida média após o início da doença seja de 21 anos. O início da doença na infância raramente foi relatado na literatura, e a progressão e características da doença nesses casos não são conhecidas. **Objetivo:** caracterizar as manifestações clínicas e a progressão da doença em sujeitos portadores de SCA3/DMJ com idade de início da doença na infância. **Métodos:** casos com idade de início do primeiro sintoma igual ou anterior aos 12 anos (DMI-início-na-infância) foram identificados a partir do registro de casos diagnosticados com exame molecular e acompanhados no ambulatório de Neurogenética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre de 2000 a 2014. Após consentimento, os pacientes foram entrevistados e examinados através das escalas clínicas SARA e NESSCA. As variáveis gênero, idade de início (ii), duração da doença (DD), as repetições CAG dos dois alelos, o gênero do genitor transmissor, a CAGexp do genitor e a antecipação foram obtidas e comparadas com os dados da coorte geral de casos da instituição. Quando possível, essas

comparações foram feitas através de testes de qui-quadrado para variáveis categóricas, e de testes não paramétricos como Spearman e Mann-Whitney, para variáveis quantitativas. Doze meses após a primeira avaliação (baseline), as escalas NESSCA e SARA foram novamente aplicadas. As taxas de progressão da NESSCA e da SARA nesse intervalo foram medidas através do teste modelo misto de coeficientes aleatórios sendo comparadas com as taxas obtidas em duas observações prospectivas prévias, realizadas em pacientes SCA3/DMJ com ii após os 12 anos: o estudo da história natural da SCA3/DMJ utilizando a escala NESSCA (Jardim et al, 2010) gerou o grupo Controle-HN, e o grupo placebo do ensaio clínico randomizado sobre o lítio (Saute et al, 2014) gerou o grupo Controle-PL. **Resultados:** No período, 1317 pacientes (189 famílias) com SCA3/DMJ foram identificados na nossa instituição. Os 367 que fizeram o exame molecular foram analisados. Sua ii média \pm dp (variação) foi de $34,1 \pm 11$ (5 a 59) anos. Oito pacientes de 6 famílias, todos heterozigotos para a CAGexp, foram identificados com DMI-início-na-infância (2,2%). Sete dos oito DMJ-início-na-infância (87,5%) eram do sexo feminino ($p = 0,057$), a ii dos sintomas do grupo DMJ-início-na-infância variou entre 5 e 10 anos com mediana de 8 e intervalo inter-quartil 3 anos. A CAGexp variou de 80 a 91 repetições. A progressão da NESSCA foi de 0,8 pontos anuais em média no grupo Controle-PL e 2 pontos anuais em média no grupo DMJ-início-na-infância ($p=0,001$). A progressão da SARA foi de 0,6 pontos anuais em média no controle-PL e 2,3 pontos em média no grupo DMJ-início na infância ($p=0,001$). A escala NESSCA foi dividida em subescalas considerando sinais piramidais, extrapiramidais, ataxia, sinais de comprometimento periférico, disfagia, disartria e alterações oculomotoras. A progressão dessas subescalas foi comparada entre os dois grupos. Foi observado uma piora na progressão do grupo DMJ-início-na-infância nos sintomas extrapiramidais ($p=0,006$) e na disfagia ($p=0,001$). **Conclusão:** A DMI-início-na-infância está associada ao sexo feminino e apresenta uma velocidade de progressão maior do que os demais sujeitos com SCA3/MJD.

Descritores: Ataxia espinocerebelar tipo 3, Doença de Machado Joseph, Manifestação clínica na infância.

ABSTRACT

Introduction: Spinocerebellar Ataxia 3 (SCA3), also known as Machado-Joseph Disease (MJD), is an autosomal dominant neurodegenerative disorder, associated to a CAG repeated expansion at the *ATXN3* gene coding region, located at chromosome 14q32.1. Normal alleles contain 12-43 CAG repeats; alleles causing disease contain 51 or more CAG repetitions (CAGexp). There is a strong correlation between the expansion size and the severity of disease, and the anticipation is a common phenomenon. The average age of onset is 32 to 40 years old and the SCA3/MJD presents with ataxia, dysarthria, dysphagia with a heterogeneous clinical expression and clinical manifestations affect multiple neurological systems as pyramidal and extrapyramidal pathways, sensitivity and motor neuron lower. The course of SCA3/MJD is invariably progressive, leading patients to functional dependency and social withdrawal and there are no specific treatments for the condition. It is estimated that the average survival after disease onset is 21 years. The onset of disease in childhood was rarely reported in the literature, and the disease progression and characteristics in patients under 12 years is not known. **Objective:** To characterize patients with heterozygous SCA3/MJD with age of onset before 12 years old. **Methods:** cases with age of onset before 12 years old were identified from the registry of cases diagnosed molecularly and accompanied in the Neurogenetics Clinic of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) from 2000 to 2014. After consent, patients were interviewed and examined with the clinical scales SARA and NESSCA. The variables gender, age at onset (ao), disease duration (DD), CAG repeats of the two alleles, transmitter parent gender, CAGexp of parent and anticipation were obtained and compared with data of the general cohort of cases from institution. These comparisons were made using chi-square tests for categorical variables and non-parametric tests as Spearman and Mann-Whitney test for quantitative variables. Twelve months after the first evaluation

(baseline), the SARA and NESSCA scales were again applied. Progression rates of SARA and NESSCA in that range were measured using the mixed model of random coefficient test were compared with the rates obtained in two previous prospective observations, made in SCA3 / MJD patients with ao after 12 years: the Natural History Study of SCA3/DMJ using NESSCA (Jardim et al, 2010) generated the Control-HN group and the placebo group randomized clinical trial of lithium (Saute et al, 2014) generated Control-PL group. **Results:** During the period, 1317 patients (189 families) with SCA3/MJD were identified at HCPA. The 367 patients who did the molecular examination were analyzed. Its average ao \pm SD (range) was 34.1 ± 11 (5-59) years. Six families of eight patients, all heterozygous for CAGexp were identified MJD-childhood-onset group (2.2%). Seven of the eight MJD-childhood-onset group (87.5%) were female ($p = 0.057$), ao of the symptoms of MJD-childhood-onset group ranged between 5 and 10 years with a median of 8 and interquartile range 3 years. The CAGexp ranged 80-91 repetitions. The annual progression of NESSCA was 0.8 points on average in the Control-PL group and 2 points on average in MJD-childhood-onset group ($p = 0.001$). The progression of SARA was 0.6 points per year on average in the Control-PL group and 2.3 points in average MJD group in childhood-onset ($p = 0.001$). The scale NESSCA was divided in subscales considering pyramidal signs, extrapyramidal signs, ataxia, peripheral signs, dysphagia, dysarthria and oculomotor and compared to progression in both groups. The progression of these subscales was compared between the two groups. A worsening in the progression of MJD-childhood-onset group extrapyramidal symptoms ($p = 0.006$) and dysphagia ($p = 0.001$) was observed. **Conclusion:** The MJD childhood onset is associated with the female and it has rate of progression higher than the other patients with SCA3/MJD.

Describers: Spinocerebellar Ataxia 3, Machado - Joseph Disease, Clinical manifestation in childhood.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação da Estrutura do Gene <i>ATXN3</i>	22
Figura 2 – Heredograma.....	28
Figura 3 – Comparações entre a <i>ii</i> e a <i>CAGexp</i> entre a DMJ-início-na-infância e seus grupos controle.....	39
Figura 4 – NESSCA e SARA X Duração da Doença entre os grupos.....	40
Figura 5 – Progressão NESSCA nos grupos Controle-HN e DMJ-início-na-infância.....	42
Figura 6 – Progressão NESSCA nos grupos Controle-PL e DMJ-início-na-infância.....	43
Figura 7 – Progressão SARA nos grupos Controle-PL e DMJ-início-na-infância.....	43
Figura 8 – NESSCA X Duração da doença em cada indivíduo.....	44
Figura 9 – SARA X Duração da doença em cada indivíduo.....	45
Figura 10 – Progressão da NESSCA entre os DMJ-início-na-infância, os Controles-HN e os Controles-PL.....	46
Figura 11 – Subgrupos NESSCA.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Achados Neurológicos nos Pacientes com SCA3/DMJ.....	24
Tabela 2 – Comparações entre os sujeitos SCA3/DMJ com início antes e após os 12 anos...	36
Tabela 3 - Dados Clínicos e Moleculares Gerais.....	37
Tabela 4 – Características baseline dos pacientes DMJ-com-início-na-infância e SCA3/DMJ controles.....	38
Tabela 5 - Características NESSCA e SARA.....	41
Tabela 6 – Sintomas dos pacientes DMJ-início-na-infância.....	49
Tabela 7 – Exames complementares dos pacientes com sintomas iniciados na infância.....	50

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ATXN3- Ataxina 3 Gene

CAG - Citosina, Adenina, Guanina

CAGexp - CAG expandida

Controle-PL - Controle grupo placebo

Controle-HN - Controle grupo história natural

DMJ - Doença de Machado - Joseph

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

DD - Duração da Doença

ICARS - *International Cooperative Ataxia Rating Scale*

ii - idade de início

MJD1- Machado-Joseph Disease Gene

NESSCA - *Neurological Examination Score for Spinocerebellar Ataxias*

NI - Intranucleares Neurônios

PoliQ - Poliglutamina

RNM - Ressonância Magnética

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

SARA - *Assessment and Rating of Ataxia*

SCAs - Ataxias Espinocerebelares

SCA3 - Ataxia Espinocerebelar tipo 3

SGM-HCPA - Serviço Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

TC crânio - Tomografia de crânio

TRH - Hormônio Hipotalâmico Estimulador de Tireotrofina

UTR - Região não traduzida.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 HISTÓRICO DA DOENÇA DE MACHADO-JOSEPH	18
2.2 EPIDEMIOLOGIA	19
2.3 ASPECTOS GENÉTICOS DA DOENÇA DE MACHADO-JOSEPH	20
2.4 FISIOPATOLOGIA.....	21
2.5 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E HISTÓRIA NATURAL.....	23
2.6 NEUROIMAGEM NA SCA3/DMJ	26
2.7 DIAGNÓSTICO	27
2.8 MANEJO	27
2.9 INÍCIO NA INFÂNCIA	27
3 JUSTIFICATIVA	30
4 OBJETIVO	31
4.1 OBJETIVO GERAL.....	31
4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	31
5 MATERIAIS E MÉTODOS	32
5.1 POPULAÇÃO	32
5.2 EXAMES MOLECULARES	32
5.3 PROCEDIMENTOS DO ESTUDO	33
5.4 ANÁLISES	33
5.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	34
6 RESULTADOS	35
6.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS E DADOS MOLECULARES	35
6.2 A GRAVIDADE DOS CASOS DMJ-INÍCIO-NA-INFÂNCIA.....	37
6.2.1 Dados baseline.....	38
6.2.2 Progressão da doença entre os DMJ-início-na-infância versus demais SCA3/DMJ40	
6.2.2.1 Comparação entre as progressões da NESSCA entre os DMJ-início-na-infância e os Controles-HN	42
6.2.2.4 Análise dos diferentes envolvimento neurológicos entre os DMJ-início-na-infância e os Controles-PL, usando os domínios da escala NESSCA.....	46
6.2.2.5 Exames complementares	50
7. DISCUSSÃO	52

8 CONCLUSÃO.....	58
BIBLIOGRAFIA.....	60
ANEXOS.....	66

1 INTRODUÇÃO

As ataxias são grupos de distúrbios neurológicos caracterizados por variados graus de disfunção e degeneração dos sistemas que controlam a coordenação motora. As ataxias espinocerebelares (SCAs) são de transmissão autossômica dominante afetando múltiplos sistemas neurológicos, com predomínio de alterações no cerebelo, tronco cerebral e trato espinocerebelar (Schöls et al, 2004).

A Ataxia Espinocerebelar tipo 3, também chamada de Doença de Machado – Joseph (SCA3/DMJ), é um dos subtipos de SCA mais comuns no mundo inteiro, representando cerca 30% do total de SCAs. A média da idade de início dos sintomas varia entre 32 – 40 anos, entretanto há alguns relatos de pacientes com início dos sintomas na infância e adolescência. Desenvolvemos este trabalho procurando caracterizar melhor os sintomas e a progressão da doença nos indivíduos do Ambulatório de Neurogenética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre com idade do início dos sintomas na infância.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HISTÓRICO DA DOENÇA DE MACHADO-JOSEPH

Em 1972, Nakano et al descreveram uma família de *Massachussets* que descendia de William Machado, indivíduo nascido no século XIX, nos Açores, na Ilha de São Miguel. Os sintomas que os pacientes apresentavam eram ataxia progressiva, nistagmo, disartria, sinais piramidais, amiotrofia e sinais de lesão no cordão posterior da medula. Os sintomas iniciavam por volta dos 40 anos de idade, com considerável variação individual, herdada de modo autossômico dominante. No mesmo ano e local, Woods e Schaumburg descreveram na família Thomas, uma ataxia hereditária, semelhante àquela da família Machado, na qual o membro mais antigo desta família conhecido como doente, nasceu em 1888 na Ilha de Flores, em Portugal.

Em 1976, Rosenberg e colaboradores publicaram sobre uma doença, autossômica dominante, na família de Antone Joseph (família Bastiana), açoriano da Ilha de Flores, que residia na Califórnia nos Estados Unidos. A apresentação clínica consistia de uma ataxia progressiva, disartria, nistagmo, bradicinesia, fasciculações de língua e de face, posturas distônicas, hiperreflexia e reflexo cutâneo plantar em extensão.

Em 1977, Coutinho, Calheiros e Andrade estudaram 40 pacientes em 15 famílias das Ilhas dos Açores com uma ataxia progressiva, autossômica dominante, associada a oftalmoplegia, sinais piramidais, distonia, rigidez e atrofia distal. Evidências sugeriram que as descrições estavam relacionadas a uma mesma entidade genética, com expressão fenotípica variável. Nos anos 80, o epônimo Doença de Machado – Joseph foi sugerido em homenagem as primeiras famílias descritas.

Os primeiros relatos sobre famílias brasileiras com o diagnóstico clínico de SCA3/DMJ foram apresentados na década de oitenta e no início dos anos noventa. A primeira descrição da SCA3/DMJ no Brasil foi realizada por Radvany et al em 1988 através da

avaliação de duas famílias. Em 1991, Teive et al relataram os achados clínicos e laboratoriais de cinco membros afetados de uma família com SCA3/DMJ. Em 1993, Radvany et al descreveram uma família no Estado de Santa Catarina com estudo de neuroimagem e achados neuropsicológicos (Radvany et al, 1993 e Pedroso et al, 2012).

A população do Rio Grande do Sul, que é a de nosso interesse, recebeu um significativo aporte de açorianos em meados do século XVIII. Segundo o historiador Fábio Kuhn, visava-se o estabelecimento de povoados que resguardassem o domínio português. Entre 1748 e 1753, chegaram ao Desterro (Santa Catarina) entre 5000 e 6000 pessoas, das quais cerca de 40% (entre 2 e 2,5 mil) foram transferidas ao Continente, tendo sido desembarcadas na vila de Rio Grande, no Rio Grande do Sul.

No ano de 1993, o locus da SCA3/DMJ foi mapeado no cromossomo 14q32.1 (Takiyama et al, 1993) e, em 1994, o seu gene foi identificado e denominado de *MJD1* (Kawaguchi et al, 1994). Atualmente o gene é denominado *ATXN3*.

2.2 EPIDEMIOLOGIA

O número de casos de SCA3/DMJ é mais elevado em países com descendência portuguesa e açoriana, representando 78% das SCAs no estado do Rio Grande do Sul (de Castilhos et al, 2014), com prevalência mínima estimada de 3 casos para cada 100.000 habitantes no Rio Grande do Sul e em Portugal (Prestes et al, 2008 e Coutinho et al, 2013). Em cidades como São Jerônimo e General Câmara no Rio Grande do Sul, a prevalência é de 100/100.000 habitantes (Lavínia Schuler-Faccini comunicação pessoal).

A proporção de SCA3/DMJ entre as SCAs difere em cada país. Nos Estados Unidos 10%-20% dos pacientes com SCAs tinham SCA3/DMJ (Matilla et al, 1995 e Ranum et al, 1995), 28% de prevalência de SCA3/DMJ foi encontrado entre 120 famílias francesas (Dürr et al, 1996). Em Portugal, seriam 58% (Vale et al, 2010), enquanto nas populações da

Alemanha, Japão e China seriam 40% a 70% das famílias com SCAs (Inoue et al, 1996, Schols et al, 1996, Zhao et al, 2002 e Gan et al, 2010).

2.3 ASPECTOS GENÉTICOS DA DOENÇA DE MACHADO-JOSEPH

A SCA3/DMJ ocorre devido à expansão de uma sequência repetitiva CAG no gene *ATXN3*, localizado no 14q32.1, acima de um limiar de ao redor de 53 repetições (Takiyama et al, 1993 e Kawaguchi et al, 1994). A estrutura do gene abrange 48 kb, contendo 11 éxons, com a CAG localizada no éxon 10. O alelo normal apresenta entre 12 e 43 repetições CAG, enquanto o alelo alterado apresenta mais de 51 repetições CAG (CAGexp) (Saute e Jardim, 2015)

A transmissão é autossômica dominante, ou seja, para um indivíduo ser afetado, basta que um dos alelos contenha a mutação responsável pela doença. O risco de transmitir a doença para cada filho é de 50% considerando que somente um genitor seja afetado. Observação clínica sugere que os gametas que portam uma CAGexp são, de alguma maneira, favorecidos. A observação de irmandades com mais de 50 anos, por exemplo, revelou que 68% dos indivíduos eram afetados, uma proporção muito maior do que a esperada (Jardim et al, 2001). A penetrância é estimada em 98% (Sequeiros e Coutinho, 1993) e a distinção entre penetrância incompleta e expressividade variável vai depender da sobrevivência dos heterozigotos (Sequeiros, 1996). Não existem diferenças entre os sexos na SCA3/DMJ. Homens e mulheres tendem a ser afetados nas mesmas proporções, com a mesma gravidade e com distribuições de idade muito semelhantes (DeStefano et al, 1996).

O termo antecipação significa aparecimento progressivamente mais precoce e com intensidade aumentada de uma doença em gerações sucessivas. Esse fenômeno tem sido observado em muitos pares de genitor/filho na SCA3/DMJ, onde os filhos acabam adoecendo muitos anos antes do que os seus pais (Jardim et al, 2001). A CAGexp é instável ao atravessar

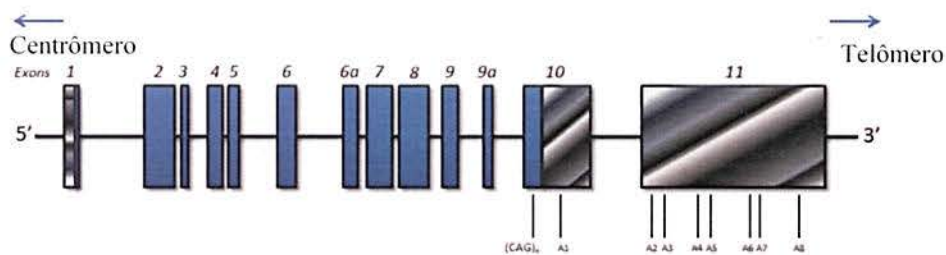
divisões celulares. A combinação desse fenômeno com a forte correlação entre o tamanho da expansão e a gravidade da doença, explicam o fenômeno de antecipação. A instabilidade da CAGexp ao atravessar divisões celulares é particularmente importante nas meioses paternas. Antecipações graves podem dar origem a formas de início juvenil. Antecipações muito grandes associam-se à retirada desse alelo do pool da população, pois heterozigotos muito precocemente afetados deixam de transmitir seu CAGexp por não terem descendência.

Como dissemos, na SCA3/DMJ há correlação inversa entre o número de repetições CAG e a idade de início dos sintomas. Contudo, uma ampla variação na idade de início e nas manifestações clínicas é observada, mesmo em indivíduos que apresentam o mesmo número de repetições CAG. O número de repetições CAG sozinho explica de 45% a 60% desta variabilidade (van de Warrenburg et al, 2002, Emmel et al, 2010).

2.4 FISIOPATOLOGIA

O gene *ATXN3* codifica uma proteína chamada ataxina-3. Estudos imunohistoquímicos mostram que ela é expressa em todo corpo, existente tanto no citoplasma quanto no núcleo celular. No entanto, em neurônios, a ataxina – 3 é predominantemente uma proteína citoplasmática (Bettencourt e Lima, 2011). Esta proteína pertence a família das cisteína-proteases. Estruturalmente é composta por um domínio Josephina na região amino – terminal com atividade catalítica combinado com 2 domínios de interação com ubiquitina e um domínio contendo a faixa de poliglutamina na região carboxi-terminal (Masino et al 2003).

Figura I – Representação da Estrutura do Gene *ATXN3*



Adaptado de Conceição Bettencourt e Manuela Lima, 2011

Os éxons são numerados de 1-11. Os blocos azuis são as regiões codificantes, os blocos com traços horizontais representam a região 5' não traduzida (UTR), os blocos com traços inclinados representam a região 3' não traduzida. Sequências de poliadenilação são representadas de A1 a A8. O trato CAG está sinalizado no éxon 10.

As expansões codificam repetições de poliglutaminas (poliQ). Este mecanismo de mutação também ocorre em outras SCAs, na Atrofia Muscular Espinhal e Bulbar e na Doença de Huntington, sendo este grupo de afecções nomeadas de poliglutaminopatias (Schöls et al, 2004, Manto et al, 2005 e Mariotti et al, 2005).

Um marco patológico da SCA3/DMJ é a formação de agregados intranucleares neuronais (NI) contendo tratos de poliQ expandidas. Enquanto normalmente a ataxina – 3 é predominantemente uma proteína citoplasmática nos neurônios, ela torna-se concentrada no núcleo celular durante a doença. O exato papel desses agregados não é bem definido. O que é geralmente aceito é que as poliglutaminopatias sejam causadas por proteínas com estrutura terciária anômala e com propensão à agregação, levando a um ganho de função tóxico as células (Paulson, 1999). Proteínas com conformação *misfolded*, algumas delas denominadas de ataxinas – por estarem relacionadas às ataxias espinocerebelares – acumulam-se nas inclusões junto com ubiquitinas e com chaperonas. Além de terem em comum a estrutura de poliQ, há uma marcante sobreposição de sintomas entre essas condições, com neurodegeneração predominante do cerebelo e de núcleos do tronco cerebral. Há agregados intranucleares neuronais em todas as regiões afetadas pela doença e também em estruturas nas

quais não há perda neuronal, como o córtex cerebral, o tálamo, o striatum e a oliva inferior, sendo que os agregados intranucleares neuronais antecedem os sintomas clínicos.

2.5 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E HISTÓRIA NATURAL

A SCA3/DMJ apresenta expressão clínica heterogênea, com manifestações clínicas abrangendo múltiplos sistemas neurológicos (Soong e Paulson, 2007). Esta variabilidade fenotípica resultou na classificação em diferentes subtipos clínicos com evoluções clínicas, idade de início e envolvimento de sistemas neurológicos distintos.

A SCA3/DMJ caracteriza-se principalmente por ataxia cerebelar e sinais piramidais variavelmente associados à síndrome extrapiramidal e à amiotrofia periférica. Outros sintomas associados são câibras, nistagmo, oftalmoparesia, diplopia, disartria, fasciculações, disfagia, distúrbios autonômicos, neuropatia periférica e distúrbios do sono.

A idade de início média varia de acordo com a população: de 32-35 anos entre brasileiros (Lopes-Cendes et al, 1997; Jardim et al 2001; Kieling et al 2007; de Castilhos et al 2014), 34-37 entre japoneses (Maruyama et al 1997 e 2002) e 38-40 anos entre europeus (Sequeiros e Coutinho, 1993).

A variabilidade fenotípica da SCA3/DMJ estimulou a proposição de seis subtipos:

- Tipo I (13% dos indivíduos): caracterizada por idade de início jovem e espasticidade proeminente, rigidez, bradicinesia com poucos sintomas atáxicos. Está associado com maiores expansões CAG (Coutinho e Andrade 1977).
- Tipo II (57%): caracterizada por ataxia, sinais de neurônio motor superior com idade de início entre 20 e 45 anos (Coutinho e Andrade 1977).
- Tipo III (30%): manifestações mais tardias com ataxia e polineuropatia periférica com idade de início entre 40 e 60 anos (Coutinho e Andrade 1977).

- Tipo IV: caracterizada por parkinsonismo responsivo a dopa (Tuite et al 1995).
- Tipo V: caracterizada como uma paraplegia espástica hereditária (Sakai et al 1996).
- Tipo VI: caracterizada como uma neuropatia periférica (Van Schaik et al 1997).

Esses subtipos aparecem dentro de uma mesma família e não identificam variantes em cis com a mutação. O tipo V mais provavelmente seria um extremo fenotípico do tipo I e o tipo VI, uma variante do tipo III. À exceção do tipo IV, todos se associam fortemente ao tamanho do CAGexp e à idade de início dos sintomas. Por isso, sua utilidade prática é limitada (Jardim et al 2001).

A manifestação clínica inicial na maioria dos casos é a ataxia cerebelar. (Sequeiros e Coutinho, 1993, Jardim et al, 2001). Nos pacientes do Sul do Brasil, (Jardim et al, 2001) a ataxia foi a queixa inicial de todos os 62 avaliados. A ataxia apendicular estava presente em 93,5% dos pacientes, mas a ataxia axial era mais importante. Disartria foi notada em 85,5%, fasciculações em 41%, o nistagmo esteve presente em 57/62 (92%) dos casos, enquanto que a retração palpebral foi de 57/62 (27,4%) dos casos estudados.

Os sinais de comprometimento da via piramidal são precoces. A hiperreflexia está presente em 74% nos pacientes da amostra estudada no Sul do Brasil. (Jardim et al, 2001). Já a distonia foi encontrada em 23% dos casos. Outros sinais extrapiramidais, como bradicinesia e rigidez, também são eventualmente encontrados (Jardim et al, 2001). Os pacientes não apresentam comprometimento intelectual (Jardim et al, 2001).

Tabela 1- Achados Neurológicos nos Pacientes com SCA3/DMJ

(Continua)

Sintomas Neurológicos	N	Frequência Relativa
Ataxia de marcha	62/62	100%
Mínima	3/62	4,8%
Moderada	37/62	59,7%
Deambula com auxílio	14/62	22,6%
Restrito a cadeira de rodas	8/62	12,9%

Tabela 1- Achados Neurológicos nos Pacientes com SCA3/DMJ

(continuação)

Sintomas Neurológicos	N	Frequência Relativa
Ataxia apendicular	58/62	93,5%
Nistagmo	57/62	92%
Disartria	53/62	85,5%
Sinais Piramidais	46/62	74%
Perda de Sensibilidade	39/57	68,5%
Disfagia	30/47	63,5%
Oftalmoplegia Supranuclear	26/61	52,5%
Oftalmoplegia Nuclear	6/61	9,8%
Fasciculações	25/61	41%
Retração Palpebral	17/62	27,4%
Distonia	14/61	23%
Rigidez/Bradicinesia	14/61	23%
Atrofia Óptica	13/57	22,8%

Fonte: Adaptado de Jardim et al, 2001

O curso da SCA3/DMJ é invariavelmente progressivo, levando os pacientes à dependência funcional e ao retraimento social e não há tratamentos específicos para a condição até o momento. Estima-se que a sobrevida média após o início da doença seja de 21 anos (Kieling et al, 2007).

Diversos instrumentos de avaliação da gravidade clínica foram desenvolvidos nos últimos anos (Saute et al, 2012). Para as manifestações atáxicas, que são as principais, duas escalas clínicas têm se destacado. A primeira publicada foi a *International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS)* (Trouillas et al, 1997). A *Scale for Assessment and Rating of Ataxia (SARA)*, de mais rápida aplicação, apareceu em 2006 (Schmitz-Hübsch et al, 2006). Para medir a progressão global das manifestações neurológicas, nosso grupo desenvolveu ainda a escala *Neurological Examination Score for Spinocerebellar Ataxias (NESSCA)* (Kieling et al, 2008).

O surgimento de escores validados de acometimento neurológico nas SCAs permitiu o adequado estudo da progressão destas doenças. Com relação a estudos prospectivos, em uma pequena coorte de pacientes com SCA3/DMJ acompanhados por 13 meses foi demonstrada piora de 5,1 /100 pontos da escala ICARS em 12 meses (França et al, 2009). A progressão com o escore SARA foi de 1,61/40 pontos (Jacobi et al 2011). Na nossa população, uma

coorte foi acompanhada por 10 anos cronológicos através da escala NESSCA. Nesse estudo, detectamos uma piora linear das manifestações neurológicas, da ordem de 1,26 / 40 pontos da escala NESSCA por ano (Jardim et al, 2010). Independente do escore utilizado fica claro que a progressão média é bastante lenta.

2.6 NEUROIMAGEM NA SCA3/DMJ

O principal achado ao exame de ressonância magnética (RNM) na SCA3/DMJ é a atrofia de tronco cerebral. As principais estruturas atroficas, em frequência decrescente, são tegmento pontino, os pedúnculos cerebelares superiores e médios, os globos pálidos, os núcleos denteado e o núcleo rubro; depois, e muito mais associados à passagem do tempo (à idade e à duração da doença), atrofias mais moderadas e leves atingem a base da ponte, o cerebelo, e os lobos temporais e frontais (Murata et al, 1998, Onodera et al, 1998 e Abe et al, 1998). Esses mesmos autores demonstraram que o grau de atrofia, avaliado por mensurações topográficas, associava-se à gravidade da CAGn e à duração da doença.

Em relação à atrofia da ponte, o tegmento pontino aparece precoce e gravemente atrofico na SCA3/DMJ. Está praticamente sempre presente nos doentes e se associa diretamente ao tamanho da repetição CAG. Por outro lado, a atrofia da base da ponte depende do tempo, sendo observada em pacientes ou mais velhos, ou com maior tempo de doença (Assadi et al, 2007).

Nas margens mediais dos segmentos internos dos globos pálidos são encontradas áreas de hipersinal linear em T2 e FLAIR (Yamada et al, 2005). Esse achado pode se relacionar anatomicamente a três possíveis estruturas diferentes, todas degeneradas na SCA3/DMJ: o fascículo lenticular, via de saída principal da porção interna do globo pálido; a eferência do núcleo subtalâmico; e fibras da substância nigra. Como a degeneração do fascículo lenticular

encontrada na autópsia de um dos casos examinados, os autores propuseram que esta fosse a topografia representada pelo hipersinal.

2.7 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da SCA3/DMJ é realizado através do teste molecular que detecta a expansão CAG no gene da *ATXN3*. Este teste pode ser realizado através de uma reação de PCR amplificando a região de repetição do trinucleotídeo seguido por eletroforese capilar e pela medida das repetições CAG observadas (Emmel et al, 2010).

2.8 MANEJO

O manejo dos pacientes com SCA3/DMJ é realizado através do aconselhamento genético, acompanhamento com fisioterapia, fonoterapia, terapia ocupacional e manejo específico dos sinais e sintomas.

Diversas medicações já foram estudadas na tentativa de retardar a progressão da doença sem resultados positivos como a buspirona (Assadi et al, 2007), fluoxetina (Monte et al, 2003), tandospirona (Takei et al, 2004), amantadina (Botez et al, 1996), TRH (Waragai et al, 1997), fisostigmina (Wessel et al, 1997) e lítio (Saute et al, 2014).

2.9 INÍCIO NA INFÂNCIA

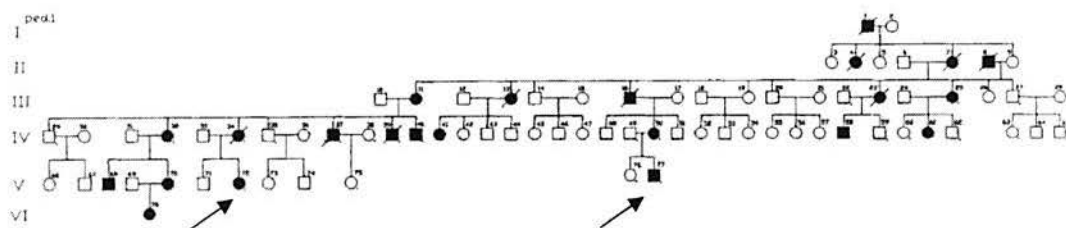
O início da doença na infância raramente foi relatado na literatura. A progressão da doença em pacientes com menos de 12 anos não é conhecida. O caso mais famoso foi Maurício M., um açoriano que aos 8 anos iniciou com ataxia de marcha, disartria e disfagia. Descrito por Paula Coutinho em 1994 em seu livro “Doença de Machado Joseph”, Maurício

era filho de dois afetados, o que fez com que os investigadores suspeitassem de homociguidade. Faleceu aos 15 anos, antes do advento do diagnóstico molecular da SCA3/DMJ. Não foi possível se obter uma amostra de DNA, a posteriori (Maciel, comunicação pessoal). Depois desse caso, poucos casos foram descritos.

Barbeau et al, 1984 relatou 5 casos com idade de início entre 10 e 15 anos. Destes casos, 4 pacientes tinham a mãe como genitor afetado. Como o estudo antecedeu as descobertas moleculares, não houve documentação dos genótipos associados.

Zhou et al, 1997 descreveram dois heterozigotos com início na infância: um menino com ii aos 5 anos, portador de um CAGexp com 86 repetições e uma menina, sua prima, com ii aos 11 anos, e portadora de 83 repetições no CAGexp (Figura 2). Em ambos os casos a doença foi herdada pelo lado materno e a diferença do número de repetições dos filhos para a mãe foi de 6 CAGs. Os sintomas no primeiro caso foram nistagmo e reflexos aumentados. O segundo caso apresentou nistagmo, reflexos aumentados e reflexo cutâneo plantar em extensão como sintomas iniciais e aos 13 anos, evoluiu para espasticidade em membros superiores e inferiores, oftalmoparesia, retração palpebral, fasciculações, dismetria, ataxia de tronco, atrofia muscular distal. Se classificados, ambos provavelmente teriam sido identificados com o tipo I.

Figura 2 - Heredograma



Fonte: Adaptado de Zhou et al, 1997

Carvalho et al, 2008 publicaram sobre uma menina brasileira, homozigota, filha de casal consanguíneo e sintomático, com idade de início aos 4 anos. Apresentava alelos com 67 e 72 repetições CAG. Os pais foram genotipados: enquanto a mãe portava uma CAGexp com 67 repetições, o pai era portador de uma expansão com 69 repetições. Aos 4 anos desenvolveu ataxia de marcha e fala lentificada. Evoluiu com espasticidade, distonia e hiperreflexia. Novamente, se fosse classificada genotipicamente, provavelmente seria identificada como uma SCA3/MJD tipo 1. Uma Ressonância Magnética de Crânio feita aos 7 anos foi normal. Aos 8 anos deixou de caminhar; sinal de Babinski, clônus, blefaroespasma, disfagia e nistagmo foram também documentados. Aos 11 anos estava confinada ao leito, com rigidez importante, anartria e caquexia. A seguir, foi perdida dos follow-ups (Martins, comunicação pessoal).

3 JUSTIFICATIVA

A prática ambulatorial tem demonstrado a ocorrência de antecipações sucessivas, resultando em alguns casos SCA3/DMJ com início na infância, em nosso meio. Como vimos, a apresentação na infância foi descrita muito poucas vezes – e apenas em três ocasiões, após o advento do diagnóstico molecular. Sua correlação com o tamanho do CAGexp e com o fenômeno da antecipação e suas características clínicas são pouco compreendidas; a velocidade de progressão da doença de início na infância é desconhecida. Como se trata de um quadro particularmente dramático, afetando filhos de outros afetados em idades muito anteriores às esperadas, sua caracterização é importante para estabelecermos mais conhecimento a ser compartilhado com as próprias famílias em seus aconselhamentos genéticos.

4 OBJETIVO

4.1 OBJETIVO GERAL

Relatar a ocorrência de casos SCA3/DMJ com início na infância (antes dos 12 anos), na coorte do Rio Grande do Sul.

4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Determinar o estado de heterozigosidade em casos SCA3/DMJ de início na infância.
- Correlacionar a gravidade neurológica, medida pelas escalas clínicas NESSCA e SARA, com variáveis independentes duração da doença, idade de início e CAGexp.
- Comparar os r obtidos entre as correlações CAGexp/idade de início e CAGexp/progressão da doença, entre o grupo de pacientes com início na infância e a coorte de pacientes SCA3/DMJ com início na vida adulta, acompanhada no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, e já descrita na literatura.
- Avaliar a progressão da doença nesses indivíduos em pelo menos 12 meses, com as escalas NESSCA e SARA.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Este é um estudo de uma coorte de casos que foram atendidos no ambulatório de Neurogenética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre de 2000 a 2014.

5.1 POPULAÇÃO

Casos com início na infância (a partir de agora chamados DMJ-início-na-infância) foram identificados a partir do banco de dados com os diagnósticos das famílias SCA3/DMJ do Rio Grande do Sul, no qual dados demográficos gerais e o tamanho das repetições CAG já estavam coletados. Todos têm sido acompanhados no ambulatório de Neurogenética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os sujeitos foram incluídos no estudo após consentimento dos pacientes da pesquisa e/ou de seus representantes legais. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética do HCPA, sob o registro GPPG 14-0625, CAAE 37387414.6.0000.5327.

Os critérios de inclusão foram início da doença antes dos 12 anos e diagnóstico molecular de SCA3/DMJ realizado em nossa instituição. Os critérios de exclusão foram diagnóstico de outra doença neurológica e não concordar em participar do estudo.

5.2 EXAMES MOLECULARES

O DNA foi isolado de leucócitos e ensaio baseado em fluorescência (Quant-iT – Invitrogen) foi usado para quantificação do DNA. Avaliação do trato (CAG)_n foi realizado por amplificação por PCR. Após a amplificação, uma alíquota de produtos de PCR foi misturada com formamida (HiDye formamide, *Applied Biosystems*) and GeneScan™ 500 LIZ (*Applied Biosystems*), e eletroforese capilar foi realizada em ABI 3130xl *Genetic Analyzer*

(Applied Biosystems). Comprimentos Amplicon foram estimados usando GeneMapper 3,2 software (Applied Biosystems).

5.3 PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Foi realizada uma revisão de prontuário. A seguir, entrevistas clínicas foram realizadas, onde se revisou a ii do primeiro sintoma, a DD e os dados familiares, de onde confirmamos as informações sobre antecipação. Os exames moleculares previamente realizados foram registrados em bancos de dados específicos. As escalas NESSCA e SARA foram aplicadas (Anexos).

A seguir, foram agendadas avaliações anuais que consistiram em uma entrevista de atualização e na aplicação das escalas NESSCA e SARA.

Quando possível, uma ressonância nuclear magnética do encéfalo foi realizada.

5.4 ANÁLISES

Os dados epidemiológicos gerais dos DMJ-início-na-infância, como gênero, idade de início e CAGexp, foram comparados com os dados dos demais indivíduos da coorte do Rio Grande do Sul, disponíveis em nossos bancos de dados.

A seguir, a progressão das escalas NESSCA e SARA do grupo DMJ-início-na-infância foi comparada com dois grupos prospectivos históricos, com idade de início (ii) após os 12 anos, avaliados anteriormente por nossa equipe, e já publicados. O primeiro grupo corresponde à coorte descrita na história natural da NESSCA: 95 sujeitos com ii posterior aos 12 anos, acompanhados pela escala NESSCA em uma média de 5 anos (Jardim et al 2010). Esse grupo será a partir de agora denominado Controle-HN. O segundo grupo corresponde ao grupo placebo de um ensaio clínico randomizado, duplo-cego: 30 sujeitos com ii após os 18

anos acompanhados durante um ano com as escalas NESSCA e SARA: (Saute et al 2014). Este grupo foi identificado como Controle-PL.

5.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A normalidade das variáveis contínuas foi testada pelo teste de Komolgorov-Smirnov; todas menos os CAGexp tiveram distribuição paramétrica. Por isso, testes não paramétricos foram preferidos e realizados.

As análises feitas no baseline seguiram um modelo caso/controle. O teste Exato de Fisher foi usado para variáveis qualitativas como gênero. Já as variáveis quantitativas foram averiguadas através dos testes de Mann – Whitney, de Spearman e de análise de co-variância com interação.

O teste estatístico usado na análise da progressão foi teste modelo misto de coeficientes aleatórios.

O p escolhido foi o de 0,05 para um poder de 80%. Os dados foram tabulados no programa Microsoft Excel 2007 e analisados no software SPSS versão 18.

6 RESULTADOS

6.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS E DADOS MOLECULARES

Entre 2000 e 2014, 1317 pessoas sintomáticas (de 189 famílias) foram identificadas como portadoras de SCA3/DMJ na nossa instituição; os 367 que fizeram o exame molecular serão analisados. Sua idade média \pm dp (variação) foi de $34,1 \pm 11$ (5 a 59) anos. Nove indivíduos (oito de sexo feminino) tiveram início dos sintomas antes dos 12 anos. Uma menina (indivíduo 3) com idade aos 10 anos faleceu aos 23 anos, antes do início do estudo: seus dados clínicos e suas escalas foram recuperados do prontuário. Uma outra menina de 11 anos de idade foi trazida por seus familiares por ter desequilíbrio. Aos 12 anos, apresentou achados piramidais leves ao exame e não se sentia sintomática, não tendo por isso realizado o exame molecular e não sendo incluída neste estudo. Portanto, oito dos 367 pacientes SCA3/DMJ com diagnóstico molecular da nossa instituição (ou 2,2%) apresentaram o início dos sintomas antes dos 12 anos.

Os oito casos DMJ-início-na-infância pertenciam a 6 famílias: duas afetadas eram irmãs e outras duas eram primas distantes. A idade de início (ii) dos sintomas dos sujeitos DMJ-início-na-infância variou entre 5 e 10 anos – sua mediana (intervalo inter-quartil) foi de 8 (3) anos - e a idade na primeira avaliação variou entre os 7 e os 21 anos. Sete dos oito DMJ-início-na-infância (87,5%) eram do sexo feminino, uma proporção bem maior do que as 208 afetadas entre os 359 demais casos SCA3/MJD (ou 53%) ($p = 0,055$, Tabela 2). Entre as demais comparações gerais com o restante da população SCA3/DMJ, as CAGexp e as antecipações foram significativamente maiores entre os DMJ-início-na-infância do que entre os demais casos SCA3/DMJ (Tabela 2).

Tabela 2 – Comparações entre os sujeitos SCA3/DMJ com início antes e após os 12 anos

	SCA3/DMJ de início \geq 12 anos	DMJ-início-infância	p
N (%)	359 (97,8%)	8 (2,2%)	
Idade de início m \pm dp (variação)	34,76 \pm 10,7 (12 a 59)	8 \pm 1,8 (5 a 10)	
Mulheres	201 / 359 (53%)	7 / 8 (87,5%)	0,055 *
Transmissões maternas	138 / 250 (55%)	5 / 8 # (62,5%)	ns *
CAG do alelo normal	22 \pm 5	23 \pm 7	ns **
CAGexp	75 \pm 3	83 \pm 4	0,001 **
Antecipações	7,8 \pm 10	14,2 \pm 6,5	0,026 ***

* qui-quadrado; ** Mann-Whitney; *** teste t

uma das mães teve duas filhas

- Todos os oito sujeitos eram heterozigotos para a expansão (não se encontraram homozigotos). Entre eles, a CAGexp variou de 80 a 91 repetições. Em relação ao sexo do genitor afetado, 3 eram homens e 4 eram mulheres. Uma das mães teve duas filhas; portanto, houve 5/8 transmissões maternas. Os dados clínicos e moleculares dos oito DMJ-início-na-infância estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Dados Clínicos e Moleculares Gerais

Paciente	Gênero	CAGn/CAGexp	ii (anos)	Genitor afetado	CAGe do genitor	ii do Genitor (anos)	Antecipação (anos)	Delta CAG sujeito – genitor
1	M	27/89	7	F	-	17	10	-
2	F	22/80	10	M	75	20	10	5
3	F	27/83	10	F	-	28	18	-
4	F	27/91	7	F	-	28	21	-
5	F	14/81	9	M	76	31	22	5
6	F	14/82	5	M	77	18	13	5
7	F	14/81	10	F	-	14	4	-
8	F	33/81	7	F	82	15	8	-1

6.2 A GRAVIDADE DOS CASOS DMJ-INÍCIO-NA-INFÂNCIA

Para estimarmos a gravidade das manifestações neurológicas dos casos DMJ-início-na-infância, as escalas SARA e NESSCA foram aplicadas na primeira avaliação, chamada de baseline, e repetidas, quando possível, a cada ano. Com isso, obtivemos a velocidade de progressão de ambas as escalas.

Os dados crus gerais de dois grupos controles prospectivos SCA3/DMJ, arquivados em nossos bancos de dados, foram utilizados: os 95 Controle-HN, que foram estudados através da escala NESSCA; e os 30 sujeitos Controle-PL, estudados com as escalas NESSCA e SARA.

6.2.1 Dados baseline

As características baseline dos pacientes DMJ-início na infância e SCA3/DMJ controles estão apresentadas na Tabela 4. Comparações entre DMJ-início-na-infância e controles-HN foram indicadas com #; entre DMJ-início-na-infância e controles-PL, com *. Apenas as diferenças significativas foram apontadas. Não foram feitas correções para múltiplas testagens, pois não havia hipótese a ser testada.

Tabela 4- Características baseline dos pacientes DMJ-início-na-infância e SCA3/DMJ controles.

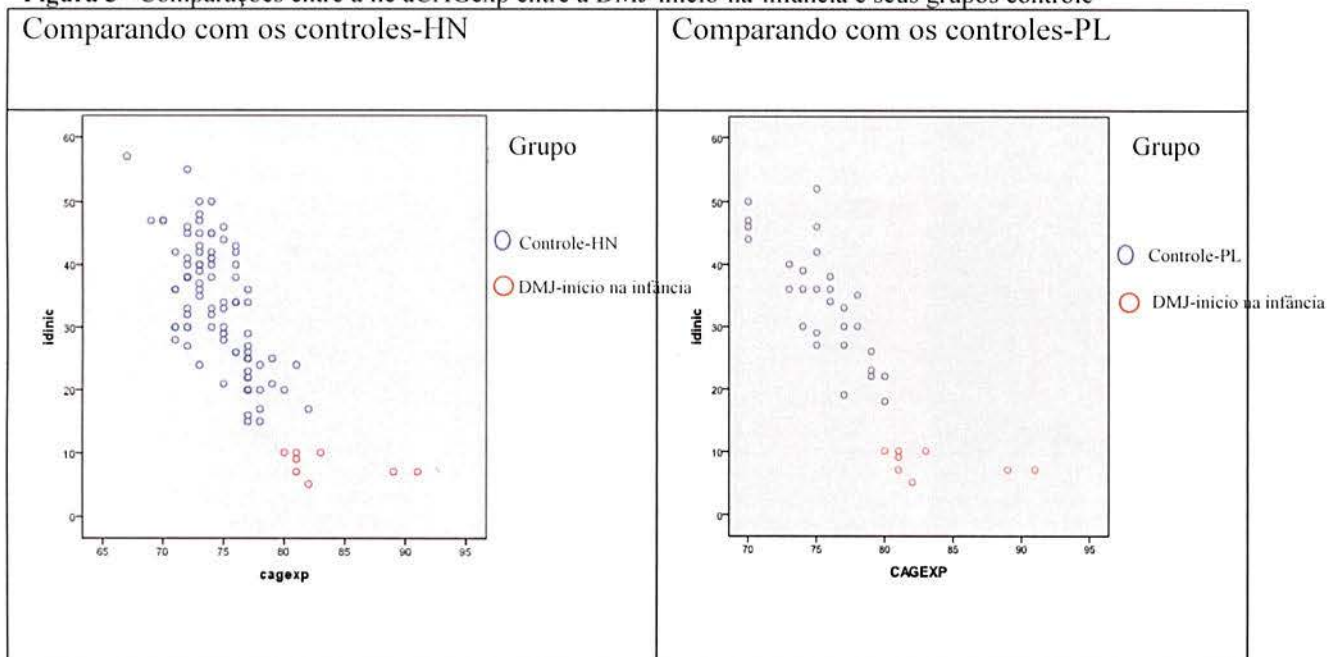
	Controles-HN	Controles-PL	DMJ-início-na-infância
N	95	30	8
Mulheres/homens *	50/44	15/15	7/1
Idade de início md±ir *	34±15 #	34,5 ± 13,5 *	8± 3 *
CAGexp md±ir *	74 ± 5 #	75,5 ±3,5 *	81,5± 6,5 *
Idade na avaliação md±ir *	43± 18 #	39,5 ± 16 *	13± 7 *
Duração da doença md±ir *	8± 6 #	6± 3	4,5± 6
Gênero do Genitor Mulheres/Homens **	-	11/16	5/3
Antecipação md±ir *	-	4,5 ± 18	11,5± 11,75
NESSCA md±ir *	15± 8	13,5 ±6	15,5± 15
SARA md±ir *	-	11,75 ± 4,88	14,5 ± 32

*ou # Mann-Whitney; p<0,05

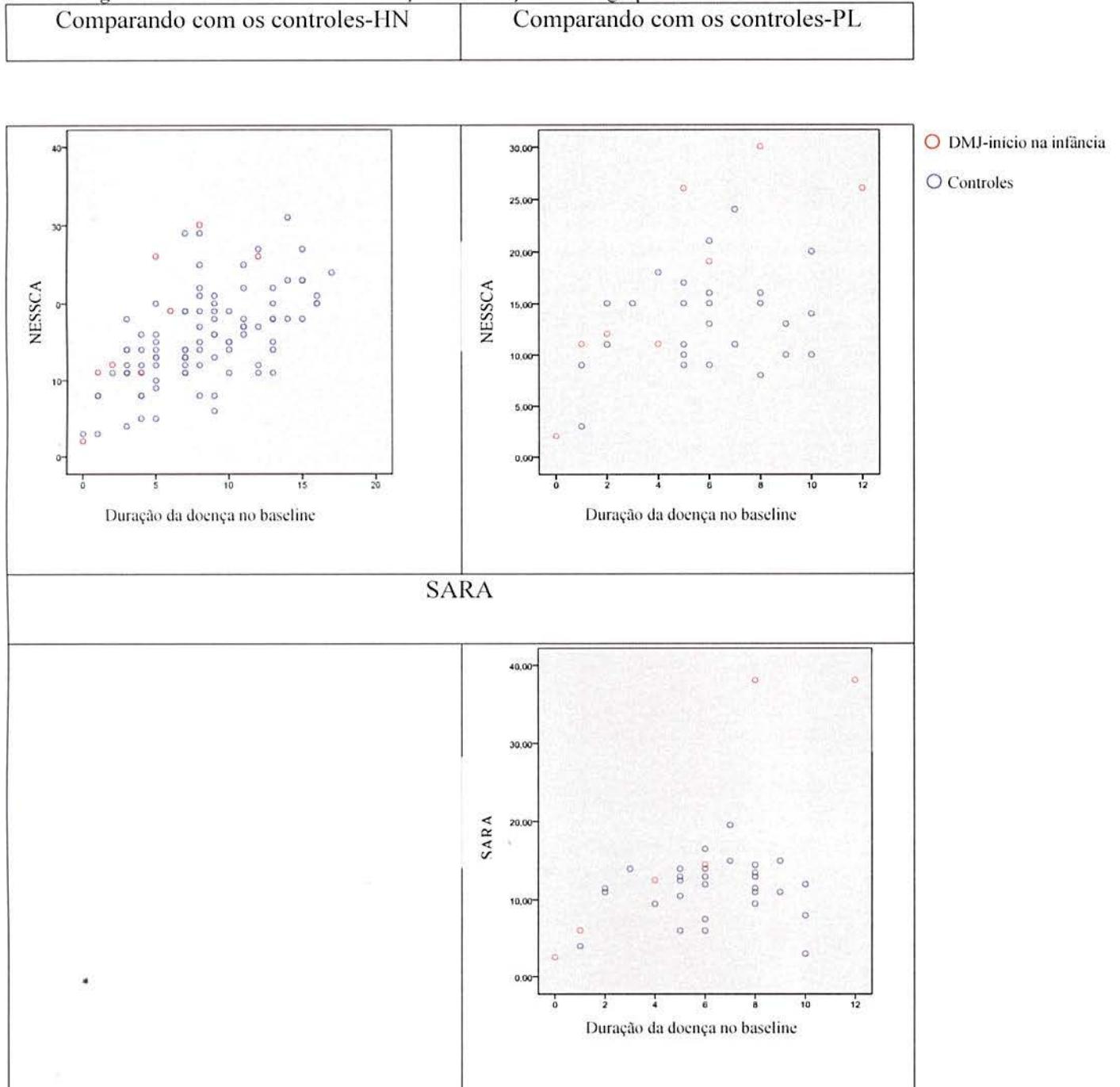
**ou ## Teste Exato de Fisher; p < 0,05

A força da correlação entre a *ie* e a CAGexp é menor entre o grupo DMJ-início na infância ($r = -0,39$, ns, Spearman) do que entre o grupo Controle-PL ($r = -0,78$, $p < 0,001$, Spearman) ou do que o grupo Controle-HN ($r = -0,479$, $p < 0,001$, Spearman) conforme mostrado na figura 3.

Figura 3– Comparações entre a *ie* e a CAGexp entre a DMJ-início-na-infância e seus grupos controle



A distribuição das escalas NESSCA e SARA em relação à duração da doença, no baseline, está apresentada na Figura 4. Correlação significativa somente foi obtida quando o grupo controle é o da história natural (controles-HN) ($r = 0,53$, Spearman). Na análise de covariância com interação, além da DD, o efeito do grupo também foi significativo. Quando se acrescentou a variável grupo, o r^2 passou de 0,340 para 0,409.

Figura 4 – NESSCA e SARA X Duração da Doença entre os grupos

6.2.2 Progressão da doença entre os DMJ-início-na-infância versus demais SCA3/DMJ

As escalas NESSCA e SARA foram aplicadas nos 8 pacientes DMJ-início-na-infância pelo menos uma vez. Um paciente foi avaliado quatro vezes com 2, 9, 11 e 12 anos de duração da doença. Três pacientes foram avaliados três vezes: o primeiro com 6, 8 e 9 anos de doença, o segundo com 12, 14 e 15 anos de doença e o terceiro no início dos sintomas e aos

2e 3 anos de doença. Um paciente foi avaliado 2 vezes com 4 e 5 anos de doença e 3 pacientes tiveram apenas uma avaliação. Três pacientes faleceram. A paciente número 3 faleceu antes de iniciar o estudo como já falado anteriormente. A paciente 4, irmã da paciente 3, faleceu antes da segunda avaliação aos 16 anos. A causa imediata de morte em ambas foi pneumonia de aspiração. O paciente 1 faleceu após o término do estudo. Os dados obtidos prospectivamente estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Características NESSCA e SARA

Paciente	Gênero	Idade ao Exame em anos	Duração da Doença em anos	NESSCA (0-40 pontos)	SARA (0-40 pontos)	Fisioterapia/Fonoterapia	Medicações
1	M	9	2	12	-	Sim/Sim	Não
		16	9	24	40	Sim/Não	Rivotril 10 gotas/noite, Fluoxetina 20mg/manhã, Baclofeno 1 cp BID.
		18	11	35	40	Sim/ Não	Rivotril 10 gotas/noite, Fluoxetina 20mg/manhã, Baclofeno 1 cp BID Levodopa 250 mg 1/2 cp de 8/8 horas, Amitriptilina 25 mg/noite
		19	12	39	40	Sim/ Não	Fluoxetina 20mg/manhã, Baclofeno 1 cp BID Levodopa 250 mg 1 cp de 8/8 horas, Amitriptilina 50 mg/noite
2	F	16	6	19	14,5	Sim/ Sim	Baclofeno 15 mg/dia
		18	8	20	16	Sim/ Sim	Toxina Botulínica em gastrocnêmio e solear bilateral
		19	9	20	18,5	Sim/ Sim	Não
3	F	15	5	26	-	-/-	Tofranil 75 mg/dia
4	F	15	8	30	38	Não/ Não	Não
5	F	21	12	26	38	Sim/Não	Amitriptilina 25 mg/noite, Sertralina 50 mg/noite
		23	14	29	37	Sim/Sim	Levodopa 250 mg 1 cp 5X dia, Amitriptilina 12,5 mg/noite, Biperideno 2 mg 1cp BID
		24	15	27	39	Sim/ Não	Levodopa 250 mg 1 cp 5X dia, Amitriptilina 12,5 mg/noite, Biperideno 2 mg BID
6	F	9	4	11	12,5	Sim/ Não	Baclofeno 5 mg BID
		10	5	18	14,5	Sim/Sim	Toxina Botulínica em gastrocnêmio bilateral. Tizanidina 1 mg /noite
7	F	11	1	11	6	Não/ Não	Não
8	F	7	0	2	2,5	Não/ Não	Não
		9	2	4	2	Não/ Não	Não
		10	3	7	1	Sim/ Não	Não

Para averiguar se a progressão da doença, medida pela escala NESSCA, é diferente entre os casos com e sem início na infância, comparamos a velocidade de progressão do grupo DMJ-início-na-infância com o grupo Controle-HN.

Como o grupo Controle-HN é historicamente mais afastado e não teve a escala SARA averiguada, esta análise serviu de baliza para os resultados subsequentes, obtidos na comparação com o grupo Controle-PL.

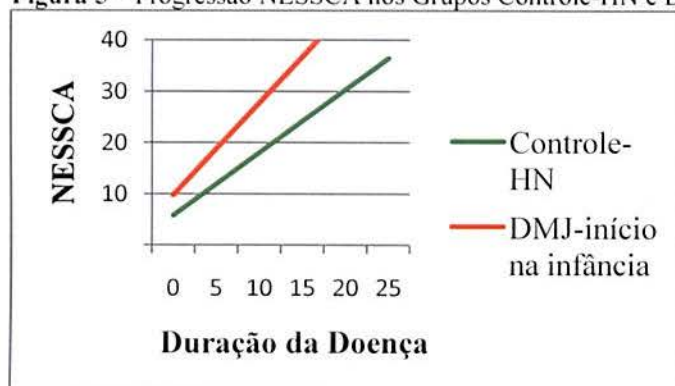
Portanto, para averiguar se a progressão da doença, medida pelas escalas NESSCA e SARA, é diferente entre os casos com e sem início na infância, comparamos a velocidade de progressão do grupo DMJ-início-na-infância com o grupo Controle-PL. Estas comparações serão mais exploradas do que as anteriores, por serem mais informativas.

6.2.2.1 Comparação entre as progressões da NESSCA entre os DMJ-início-na-infância e os Controles-HN

A NESSCA basal dos pacientes do grupo Controle-HN e DMJ-início-na-infância foi em média, de 5,8 e 9,7 pontos ($p= 0,157$). A progressão anual da NESSCA foi, em média, de 1,2 pontos no grupo Controle-HN, e de 1,8 pontos no grupo DMJ-início-na-infância ($p=0,123$).

Ambas as progressões são mostradas nas figuras 5.

Figura 5 – Progressão NESSCA nos Grupos Controle-HN e DMJ-início-na-infância



6.2.2.2 Comparação entre as progressões da NESSCA e da SARA entre os DMJ-início-na-infância e os Controles-PL

A NESSCA basal dos pacientes do grupo Controle-PL e DMJ-início-na-infância foi em média, de 8,7 e 7,9 pontos ($p= 0,797$). A progressão anual da NESSCA foi, em média, de 0,8 pontos no grupo Controle-PL, e de 2 pontos no grupo DMJ-início-na-infância ($p=0,001$).

A SARA basal dos pacientes do grupo Controle-PL e DMJ-início-na-infância foi em média, de 7,7 e 5 pontos ($p= 0,356$). A progressão anual da SARA foi, em média, de 0,6 pontos no grupo Controle-PL, e de 2,3 pontos no grupo DMJ-início-na-infância ($p=0,001$). Ambas as progressões são mostradas nas figuras 6 e 7.

Figura 6 – Progressão NESSCA nos Grupos Controle-PL e DMJ-início-na-infância

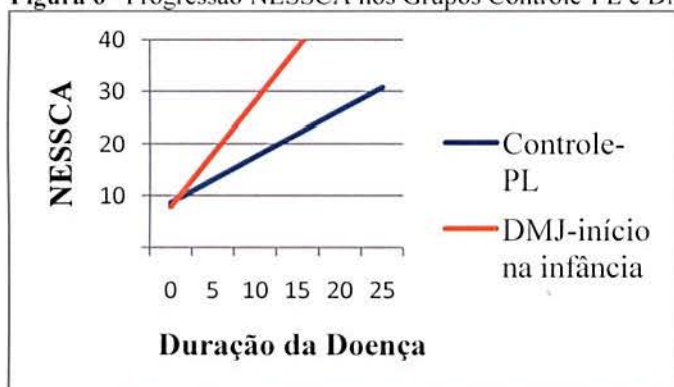
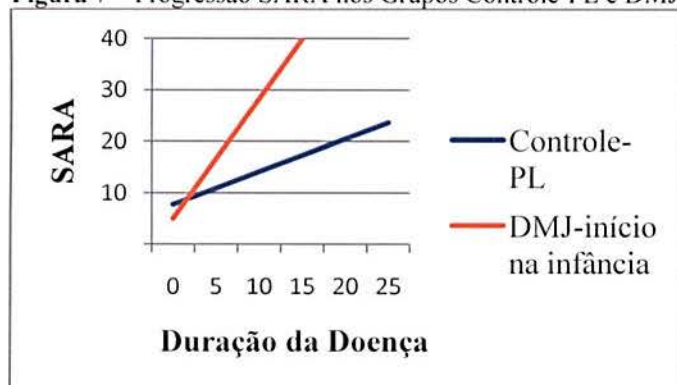


Figura 7 – Progressão SARA nos Grupos Controle-PL e DMJ-início-na-infância



As figuras 8 e 9 mostram a progressão da doença medida pelas escalas NESSCA e SARA identificando cada indivíduo separadamente.

Figura 8– NESSCA X Duração da doença em cada indivíduo

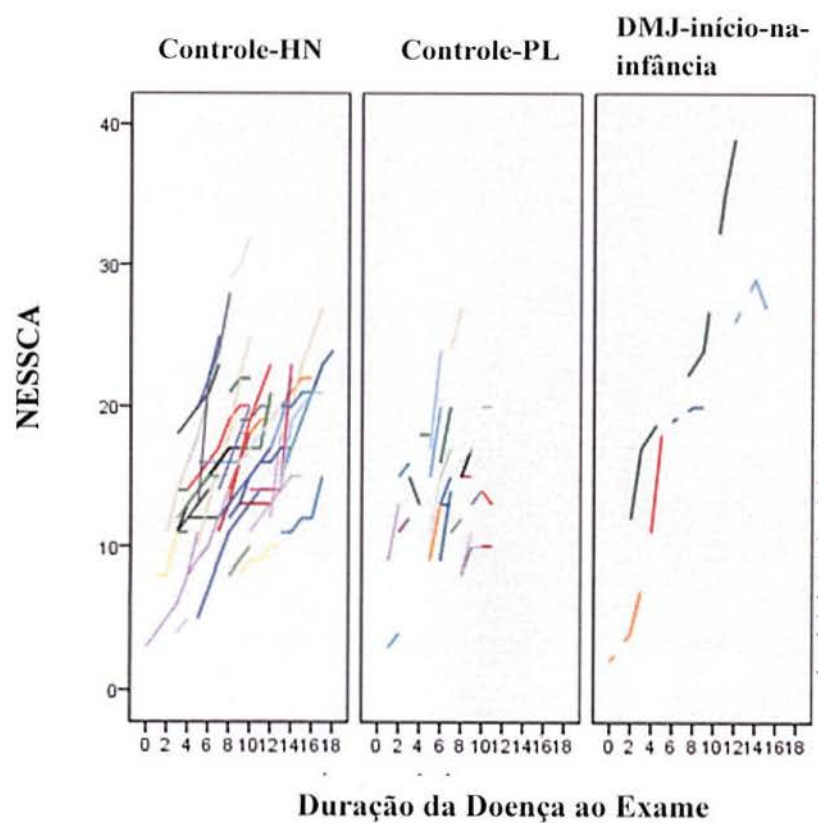
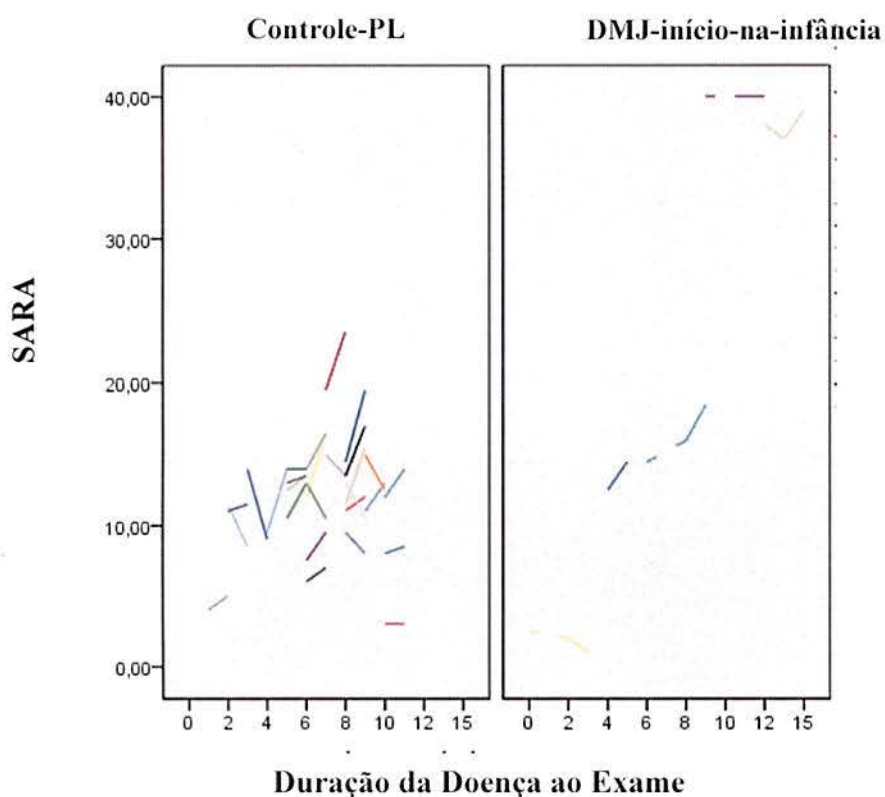


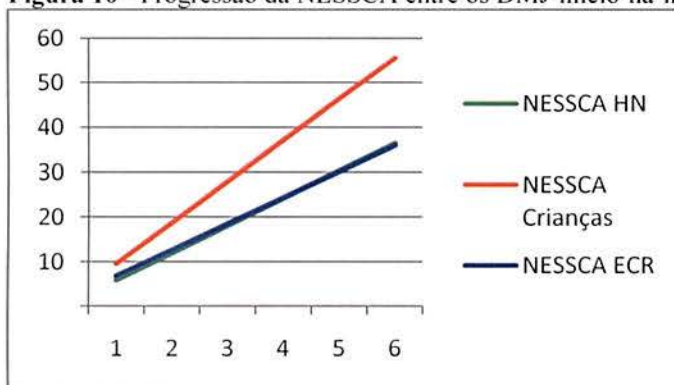
Figura 9– SARA X Duração da doença em cada indivíduo



6.2.2.3 Comparação entre os três grupos: as progressões da NESSCA entre os DMJ-início-na-infância, os Controles-HN e os Controles-PL

A seguir, usamos um modelo no qual os três grupos foram comparados. O resultado de interesse é que a inclinação da curva de progressão da NESSCA entre os dois grupos controle foi praticamente a mesma. Na Figura 10, ambas as curvas aparecem superpostas.

Figura 10 - Progressão da NESSCA entre os DMJ-início-na-infância, os Controles-HN e os Controles-PL



6.2.2.4 Análise dos diferentes envolvimento neurológicos entre os DMJ-início-na-infância e os Controles-PL, usando os domínios da escala NESSCA

A escala NESSCA foi dividida em subescalas considerando grupo de sinais e sintomas. Foram analisados sinais piramidais, extrapiramidais, ataxia, sinais de comprometimento periférico, disfagia, disartria e alterações oculomotoras e comparado a progressão nos dois grupos. Os sinais piramidais foram medidos pelo item sinal piramidal; os sinais extrapiramidais compreendem distonia, rigidez, bradicinesia, retração palpebral e blefaroespasmos. A ataxia foi considerada como ataxia pendicular e ataxia axial. Os sinais de comprometimento periférico são fasciculações, alteração de sensibilidade e amiotrofia. As alterações oculomotoras são presença de nistagmo e oftalmoplegia. Os dados foram computados através da soma destas variáveis de cada subgrupo.

No baseline, os sinais piramidais dos pacientes do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foram, em média, de 2,4 e 3 pontos ($p=0,474$). A progressão anual média dos sinais piramidais do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foi de -0,06 e de 0,10 pontos, respectivamente ($p=0,159$).

No baseline, os sinais extrapiramidais dos pacientes do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foram, em média, de 1,1 e 0,6 pontos ($p=0,567$). A progressão anual

média dos sinais extrapiramidais do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foi de 0,08 e 0,57 pontos, respectivamente ($p=0,006$) (Figura 11).

No baseline, a ataxia dos pacientes do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foi, em média, de 2,3 e 1,9 ($p= 0,680$). A progressão anual média da ataxia do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foi de 0,2 e 0,4 pontos, respectivamente ($p=0,07$) (Figura 11).

No baseline, as alterações periféricas dos pacientes do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foram, em média, de 1,16 e -0,32 ($p=0,046$). A progressão anual média das alterações periféricas do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foi de 0,18 e 0,28 pontos, respectivamente ($p=0,263$) (Figura 11).

No baseline, a disfagia dos pacientes do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foi, em média, de 0,7 e 0,25 ($p=0,248$). A progressão anual média da disfagia do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foi de 0,01 e 0,08 pontos, respectivamente ($p=0,001$) (Figura 11).

No baseline, a disartria dos pacientes do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foi, em média, de 0,6 e 0,3 ($p=0,505$). A progressão anual média da disartria do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foi de 0,06 e 0,29 pontos, respectivamente ($p=0,176$).

No baseline, as alterações oculomotoras dos pacientes do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foram, em média, de 2,02 e 1,23 ($p=0,246$). A progressão anual média das alterações oculomotoras do grupo Controle-PL e do grupo DMJ-início-na-infância foi de 0,004 e 0,1 pontos, respectivamente ($p=0,230$).

Os sintomas de cada paciente são detalhados na tabela 6.

Figura 11 - Subgrupos NESSCA

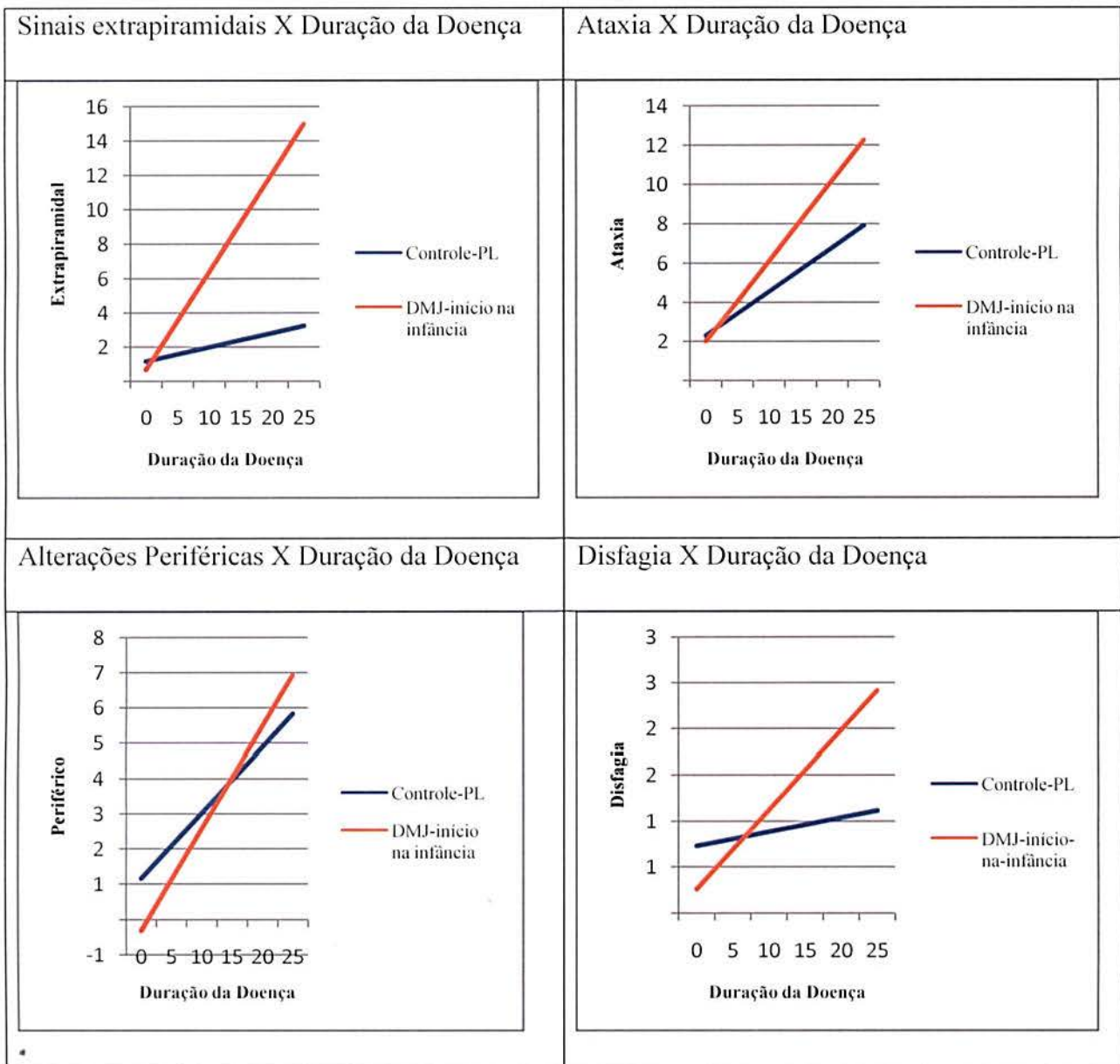


Tabela 6 – Sintomas dos pacientes DMJ-início-na-infância

Paciente	Gênero	Idade ao Exame em anos	Duração da Doença em anos	Sintomas
1	M	9	2	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + oculomotor + disfagia + disartria + bradicinesia + amiotrofia
1	M	16	9	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + oculomotor + disfagia + anartria + bradicinesia + amiotrofia + alteração sensibilidade + distonia
1	M	18	11	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + oculomotor + disfagia + anartria + bradicinesia + amiotrofia + alteração sensibilidade + distonia + fasciculações + rigidez
1	M	19	12	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + oculomotor + disfagia + anartria + bradicinesia + amiotrofia + alteração sensibilidade + distonia + fasciculações + rigidez
2	F	16	6	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + oculomotor + disartria + bradicinesia + amiotrofia + distonia
2	F	18	8	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + oculomotor + disartria + bradicinesia + amiotrofia + distonia + alteração sensibilidade
2	F	19	9	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + oculomotor + disartria + bradicinesia + amiotrofia + distonia + alteração sensibilidade + rigidez
3	F	15	5	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + oculomotor + disfagia + anartria + amiotrofia + distonia + fasciculações
4	F	15	8	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + oculomotor + disfagia + anartria + amiotrofia + distonia + alteração sensibilidade + rigidez + bradicinesia
5	F	21	12	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + oculomotor + disartria + alteração sensibilidade + distonia + rigidez + bradicinesia
5	F	23	14	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + oculomotor + disfagia + anartria + alteração sensibilidade + distonia + rigidez + bradicinesia + amiotrofia
5	F	24	15	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + oculomotor + disfagia + anartria + distonia + rigidez + bradicinesia + amiotrofia
6	F	9	4	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + disfagia
6	F	10	5	Piramidal + ataxia marcha + ataxia apendicular + disartria + oculomotor + alteração sensibilidade + distonia + bradicinesia + amiotrofia
7	F	11	1	Piramidal + ataxia marcha + oculomotor + distonia + bradicinesia
8	F	7	0	Piramidal
8	F	9	2	Piramidal + ataxia de marcha em tandem
8	F	10	3	Piramidal + ataxia de marcha em tandem + oculomotor

6.2.2.5 Exames complementares

Dos 8 paciente relatados, seis tinham pelo menos uma RNM de encéfalo. Os resultados dos exames complementares são descritos na tabela 7.

Tabela 7 – Exames complementares dos pacientes com sintomas iniciados na infância.

(Continua)

Paciente	Gênero	Duração da Doença (anos)	RNM de Encéfalo	Outros exames
1	M	2	Sem alteração	
1	M	4		ENMG normal.
1	M	8		Estudo da deglutição com incoordenação na iniciação oral da deglutição, com refluxo nasofaríngeo e estase em valéculas. Estase esofágica difusa. Ausência de estenoses.
2	F	2		TC crânio: Sistema ventricular e cisternas com dimensões maiores que o usual.
2	F	9	Presença de área de hiperintensidade na margem medial do globo pálido bilateralmente. Hipersinal em TIMTC a nível dos núcleos lenticulados. No exame realizado não fica clara a atrofia cerebelar, nem atrofia dos pedúnculos cerebelares médios, nem a fronto temporal.	
5	F	14	Tênues áreas lineares de aumento de sinal na sequência TSE ponderada em T2 na face medial de ambos os globos pálidos e lateralmente ao braço posterior da cápsula interna bilateralmente. Pequena proeminência de sulcos cerebelares e pequena dilatação do IV ventrículo com redução de volume dos pedúnculos cerebelares superiores. Possível pequena proeminência de sulcos corticais de lobos frontais.	
5	F	15		Videodeglutograma: disfagia severa

Tabela 7 – Exames complementares dos pacientes com sintomas iniciados na infância.

(continuação)

Paciente	Gênero	Duração da Doença (anos)	RNM de Encéfalo	Outros exames
6	F	4	Discreta retificação do soalho do IV ventrículo bem como dos colículos do facial. Discreta proeminência do espaço subaracnóide entre as folias cerebelares.	
6	F	5	Persiste discreta proeminência do espaço subaracnóide entre as folias cerebelares. Não houve modificação significativa na morfologia do assoalho do IV ventrículo. RM de encéfalo sem evidência de modificação significativa comparativamente ao estudo prévio.	
7	F	1	Sem alteração	
8	F	3	Sem alteração	

7. DISCUSSÃO

No presente trabalho, nós relatamos a ocorrência de oito novos casos de SCA3/DMJ de início na infância, descrevemos sua progressão através das escalas NESSCA e SARA e comparamos seus achados com os encontrados nas formas mais tradicionais de início na vida adulta e adolescência.

O início na infância é bastante raro (2% entre os 367 pacientes da coorte gaúcha) mas menos incomum do que o reduzido número de publicações faz crer. Antes dos nossos oito casos, apenas três haviam sido descritos.

Todos os pacientes DMJ-início-na-infância deste estudo eram heterozigotos. Em contraste, um dos três casos da literatura, com início aos 4 anos, era homozigoto para as expansões CAG (Carvalho et al, 2008). Alguns autores, inclusive os responsáveis por aquele caso, sugerem que a homozigosidade levaria a um fenótipo clínico mais grave do que a heterozigosidade, baseada em um efeito de dose, dependente dos agregados de poliglutaminas, como o que acontece quando as mutações levam à perda de função do alelo, nas doenças recessivas (Carvalho et al, 2008, Goti et al, 2004). Embora razoável, essa hipótese fundamentada na ocorrência do homozigoto de início infantil, perde sustentação em duas frentes. Primeiro, na descrição de outros doze casos homozigotos para CAGexp com início na faixa usual de início dos heterozigotos – dos 17 aos 43 anos (Sobue et al, 1996; Lerer et al, 1996; Maciel et al 2001; Fukutake et al 2002; Lysenko et al 2010). E segundo, na descrição de heterozigotos com início na infância, como os nossos oito sujeitos e os dois sujeitos relatados por Zhou et al 1997. O assunto é controverso e demanda que estudos experimentais celulares o esclareçam em definitivo.

Quando comparamos nossos casos e os de Zhou et al 1997, a faixa das CAGexp observadas (81 a 91 repetições) é realmente maior do que os dois alelos CAGexp do caso relatado por Carvalho et al 2008 – 67 e 72 CAGexp. Mesmo assim, a inferência imediata de um efeito de dose fica prejudicada pela imperfeita associação entre o tamanho do CAGexp,

em heterozigose, e a idade de início. Ou seja, para cada tamanho de CAGexp, várias idades de início são possíveis; e isso é mais intensamente detectado nas expansões menos graves, onde a idade de início varia mais. O outro fenômeno confundidor é a tendência à antecipação, que não é explicada pelo tamanho original da CAGexp (Martins et al 2008). Outros fatores que a própria instabilidade do CAGexp influenciam a antecipação. Logo, é possível que o caso relatado por Carvalho et al 2008 tenha se iniciado na infância por outras razões que a sua homozigosidade.

Observamos que os casos DMJ-início-na-infância eram portadores de CAGexp significativamente maiores do que as dos demais sujeitos da coorte do Rio Grande do Sul (Tabela 2). Esse resultado era esperado, pois a associação entre ii e tamanho da CAGexp, embora incompleta, é já bem conhecida. No entanto, a força da correlação entre a ii e a CAGexp é menor entre o grupo DMJ-início na infância ($r = -0,39$, ns, Spearman) do que entre os grupos controle ($r = -0,78$ a $-0,479$). É possível que isso tenha se devido ao n reduzido – há poucos DMJ-de-início-na-infância – ou a um efeito de “chão” – roof effect. O roof para a ii, na vida humana, é a concepção. Por conta disso, a partir de uma certa CAGexp – digamos, a partir de 83 ou 84 repetições -, não há como a ii continuar a se reduzir drasticamente, e o r se enfraquece.

Nas comparações com a coorte geral da SCA3/DMJ do Rio Grande do Sul, o resultado mais curioso e imprevisível foi a grande proporção do gênero feminino entre os casos. A diferença alcançada ($p = 0,055$) só não foi significativa pelo número reduzido de casos DMJ-início-na-infância. Ela sugere que o sexo feminino está associado, de algum modo, a um risco aumentado de início na infância.

Em contraste, nossos dados não sugerem que haja algum efeito associado ao gênero do genitor afetado. Entre os casos de início juvenil, sugere-se que poderia ocorrer mais casos com transmissão materna do que paterna (Maciel, et al, 1995). Essa observação não se repetiu na presente amostra nem em estudos anteriores do grupo (Jardim et al, 2001).

As manifestações clínicas dos casos DMJ-início-na-infância lembram o tipo 1 (Coutinho e Andrade, 1977) (Tabela 6). Todos os nossos oito doentes apresentavam manifestações piramidais; e sete deles apresentaram distonia, em algum momento do follow-up (quase todo já a tinham ao baseline). O único sujeito livre de distonia tinha DD de 3 anos na última avaliação.

Para inferirmos as características neurológicas relativas à gravidade da DMJ-início-na-infância, era necessário comparar estes casos com um grupo de casos SCA3/DMJ de início após a infância. Infelizmente não planejamos um grupo controle simultaneamente acompanhado. No entanto, os bancos com os dados originais, “crus”, de duas coortes prospectivas estavam à nossa disposição e foram usados para essas comparações. A comparação ideal seria sempre a de uma coorte de história natural, na qual nenhuma intervenção estivesse acontecendo. Tal era o caso do grupo Controle-HN, descrito originalmente por Jardim et al, 2010. No entanto, essa coorte estava relativamente afastada no tempo – os sujeitos haviam sido examinados entre 1998 e 2007. E mais importante, havia sido acompanhada apenas através da escala NESSCA. Um outro grupo havia sido acompanhado prospectivamente: os sujeitos aleatoriamente alocados no grupo placebo de um ensaio clínico randomizado, realizado entre 2011 e 2013 (Saute et al 2014). Estes sujeitos (os Controle-PL) foram acompanhados durante um ano, com telefonemas mensais e consultas a cada 3 meses. Embora seus dados sejam muito completos e comparáveis com os dados dos nossos DMJ-início-na-infância – pois colheram os escores SARA e NESSCA e são quase contemporâneos – um efeito placebo (ou Hawthorne) poderia ter incidido sobre as escalas.

Por isso, tomamos os dois grupos como controles dos nossos DMJ-início-na-infância: os Controle-HN, com dados mais limitados, como um certo gold-standard para os Controle-PL, com dados mais informativos mas sob aquela suspeição.

Tanto os escores SARA e NESSCA como a DD da doença dos DMJ-início-na-infância, obtidos no baseline, não apresentaram diferenças significativas quando comparados

com os dois grupos controle. Somente no grupo Controle-HN (de 95 sujeitos) viu-se uma correlação entre a escala clínica (a NESSCA) e a DD; interpretamos a ausência dessa associação nos outros dois grupos como efeito dos n insuficientes, por um lado, e pelo recrutamento de sujeitos com DD menores do que 10 anos para o grupo Controle-PL, para o ECR original (Saute et al, 2014). Mais importante é notar que desde os dados obtidos no baseline, na análise de covariância, viu-se que ser um caso DMJ-início-na-infância representava um risco adicional para piores NESSCA, além da própria DD (Figura 4). A força das evidências obtidas pela observação prospectiva é reconhecidamente maior do que uma observação transversal, como esta, e por isso prosseguimos.

A progressão da doença, seja a medida pela NESSCA, seja a medida pela SARA, pareceu ser mais grave entre os casos DMJ-início-na-infância do que nos demais casos agrupados como controles.

Embora as inclinações das curvas sejam diferentes (Figura 5), a comparação entre DMJ-início-na-infância e Controles-HN sobre as velocidades de progressão da NESSCA não alcançou significância estatística. Isso provavelmente se deveu às grandes variações dos intervalos entre os exames do grupo Controle-HN, associado ao pequeno número de casos DMJ-início-na-infância.

A seguir, um modelo estatístico foi usado no qual os três grupos foram incluídos – os DMJ-início-na-infância, os Controle-HN e os Controle-PL. É interessante notar que a inclinação da curva de progressão da NESSCA dos Controle-HN foi quase exatamente a mesma dos Controle-PL. Isso sugere que as progressões dos dois grupos foram equivalentes – apesar do grupo Controle-PL estar sob um potencial efeito Hawthorne. Essa observação sugeriu-nos fortemente que comparações com o grupo Controle-PL poderiam levantar dados legítimos.

Nas comparações feitas entre os DMJ-início-na-infância e os Controle-PL, viu-se que as velocidades de piora dos escores NESSCA e SARA foram significativamente maiores entre

os DMJ-início-na-infância do que nos demais (Figura 6 e 7). A associação entre velocidade de progressão e idade de início e/ou o CAGexp é bastante verossímil e já havia sido levantada desde o nosso estudo de história natural da NESSCA (Jardim et al, 2010). Pode-se questionar por que obtivemos significância aqui e não na comparação com os Controle-HN. No entanto, os dados levantados nos Controle-PL foram levantados em intervalos exatos (aos 6 e aos 12 meses), permitindo maior estabilidade e menor variabilidade do modelo estatístico.

Em resumo, a DMJ-início-na-infância apresenta um curso clínico mais grave do que os demais casos SCA3/DMJ.

Como já dissemos, os sintomas predominantes nos casos juvenis foram espasticidade, distonia e ataxia similares aos casos já descritos na literatura como o tipo 1. A espasticidade esteve presente em todos os casos em algum momento do exame. No entanto, a progressão do piramidalismo nos DMJ-início-na-infância não chegou a ser significativamente mais grave do que a dos adultos Controle-PL. É importante, no entanto, notar que entre os adultos (Controle-PL), houve redução dos escores de piramidalismo. Isso é frequentemente visto na SCA3/DMJ e se explica pela progressão da neuropatia periférica, que tende a esbater os achados corticoespinais.

Outros sintomas que foram predominantes nos DMJ-início-na-infância foram a distonia e a disfagia. Estes sintomas progrediram significativamente mais rápido na DMJ-início-na-infância do que no grupo Controle-PL (Figura 11).

Em contraste, os demais domínios neurológicos (alterações sensoriais, disartria, oftalmoparesias) não demonstraram particularidades associadas à DMJ-início-na-infância.

Um dos casos ilustra bem a gravidade da progressão da doença, quando ela começa na infância: um menino que apresentava anartria, um escore SARA de 40 pontos (pontuação máxima) e um escore NESSCA de 39 pontos (máximo 40 pontos) desde pelo menos os 9 anos de duração da doença. Ele faleceu em casa, com 13 anos de duração da doença, ao término desse nosso estudo.

Entre os 8 casos, uma menina apresenta manifestações que parecem diferir das dos demais. Uma menina com idade de início referida aos 7 anos notou desequilíbrio nesta idade. No primeiro exame, aos 7 anos, apresentava apenas hiperreflexia, sem outros achados. Examinada anualmente progrediu com espasticidade, leve dismetria e ataxia muito discreta em tandem. Em 3 anos, apresentou variação na escala NESSCA de 2 a 7 pontos iniciando com espasticidade, câimbras e alterações oculomotoras; e melhora na escala SARA entre 2,5 e 1 pontos, melhorando da dismetria. A paciente referia melhora no desequilíbrio e associou a mesma à atividade física frequente, apresentando apenas sinais piramidais. Este caso difere dos outros, nos quais uma rápida progressão é evidente ao contrário deste.

Foi possível realizar pelo menos uma RNM de encéfalo em seis dos nossos oito casos DMJ-início-na-infância, sendo que há dois exames com um ano e 3 meses de diferença em apenas uma paciente. As sete RNM obtidas foram feitas com uma mediana de 4 anos (variação de 1 a 14) de DD. Três pacientes tem uma ressonância no início dos sintomas (1 a 3 anos de doença) normal. Duas pacientes apresentam achados compatíveis com a SCA3/DMJ como hipersinal em globo pálido, núcleos lenticulados e cápsula interna com 9 e 14 anos de duração da doença. Na paciente que realizou RNMs sequenciais as alterações foram leves (discreta retificação do soalho do IV ventrículo e dos colículos do facial e discreta proeminência do espaço subaracnóideo entre as folias cerebelares) e não progrediram entre os 4 e 5 anos de DD. Embora obtidos quase sempre apenas uma vez e em DD bastante diferentes, os achados da neuroimagem pareceram ser mais benignos do que o curso clínico os faria crer. Nossos dados de RNM sugerem que as atrofias encefálicas não acompanham a progressão da doença iniciada na infância e que talvez não sejam os melhores biomarcadores de prognóstico, nessa fase.

8 CONCLUSÃO

A realização deste projeto permitiu uma melhor compreensão dos casos de DMJ-início-na-infância. Casos com sintomas antes dos 12 anos são raros e há poucos relatos na literatura. No entanto, não foram tão raros quanto a literatura fazia crer. Este estudo ainda mostrou que estes casos tendem a ter uma progressão mais rápida dos sintomas que os casos com início dos sintomas na idade adulta.

Os casos com início antes dos 12 anos apresentam CAGexp maiores que os casos controles, como já esperado. Todos os casos descritos aqui são heterozigotos, mostrando que quadros clínicos graves e com início na infância não dependem de um estado de homozigidade. A antecipação e o tamanho dos CAGexp pareceram ser os grandes fatores causais para inícios tão precoces. No entanto, devem haver outros fatores de risco para início na infância, e entre eles se destacou claramente o sexo feminino.

As escalas clínicas SARA e NESSCA foram capazes de demonstrar que a velocidade de progressão das incapacidades neurológicas é maior quando a doença começa na infância. São bons instrumentos para avaliação dos sintomas, sendo instrumentos práticos e de fácil aplicação no acompanhamento clínico. Em contraste, a RNM de crânio não se mostrou com um bom marcador da gravidade da doença nos casos infantis, mostrando alterações somente com maior tempo de duração da doença.

Os domínios neurológicos mais fortemente associados ao início na infância foram os já associados ao subtipo 1: piramidalismo, distonia e ataxia. A progressão dos três domínios e da disfagia foi mais rápida entre os DMJ-início-na-infância. Esses domínios devem, portanto, receber redobrada atenção por parte do clínico que acompanha esses casos. Foram acompanhados oito casos de pacientes com DMJ-início-na-infância e duração da doença entre 1 e 15 anos. Há a necessidade de identificação destes casos através da história familiar de

sujeitos com diagnóstico de SCA3/DMJ, pois em geral os casos índice são os adultos. A anamnese e o exame físico são essenciais para se proporcionar intervenções como fisioterapia precoce para alívio sintomático e melhora na qualidade de vida destes pacientes.

Esse estudo levanta como perspectiva assistencial fundamental a comunicação destes dados aos afetados pela SCA3/DMJ: a DMJ-início-na-infância é um quadro muito mais grave que os quadros habituais do adulto. É um quadro que poderá recorrer dentro de qualquer família acompanhada com aconselhamento genético e que decida continuar a gerar descendentes em risco.

Além disso, esse estudo levanta como perspectivas de pesquisa dois aspectos da fisiopatologia que foram sugeridos a partir dos nossos dados observacionais: o papel da homozigidade CAG_{exp} na determinação da ii e o efeito que o sexo feminino possa ter na determinação do início na infância. Novos estudos, sejam eles clínicos e observacionais, sejam eles experimentais, serão necessários para esclarecer estes papéis.

BIBLIOGRAFIA

- 1- Abe Y, Tanaka F, Matsumoto M, Doyu M, Hirayama M, Kachi T, Sobue G. CAG repeat number correlates with the rate of brainstem and cerebellar atrophy in Machado-Joseph disease. *Neurology*. 1998 Sep;51(3):882-4.
- 2- Assadi M, Campellone JV, Janson CG, Veloski JJ, Schwartzman RJ, Leone P. Treatment of spinocerebellar ataxia with buspirone. *J Neurol Sci*. 2007 Sep 15;260(1-2):143-6. Epub 2007 May 23.
- 3- Barbeau A, Roy M, Cunha L, de Vincente AN, Rosenberg RN, Nyhan WL, MacLeod PL, Chazot G, Langston LB, Dawson DM, Coutinho PI. The natural history of Machado-Joseph disease. *Can J Neurol Sci* 1984; 11:510-525.
- 4- Bettencourt C, Lima M. Machado-Joseph Disease: from first descriptions to new perspectives. *Orphanet J Rare Dis*. 2011 Jun 2;6:35
- 5- Botez MI, Botez-Marquard T, Elie R, Pedraza OL, Goyette K, Lalonde R. Amantadine hydrochloride treatment in hereditary degenerative ataxias: a double blind study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1996 Sep;61(3):259-64.
- 6- Carvalho DR, La Rocque-Ferreira A, Rizzo IM, Imamura EU, Speck-Martins CE. Homozygosity Enhances Severity in Spinocerebellar Ataxia Type 3. *Pediatr Neurol* 2008;38:296-299.
- 7- Coutinho P. Doença de Machado-Joseph. Estudo clínico, patológico e epidemiológico de uma doença neurológica de origem portuguesa. Primeira edição. Editora Bial, Porto, 1994
- 8- Coutinho P, Calhaeiros JM, Andrade C. Sobre uma doença degenerativa do sistema nervoso central transmitida de modo autossômico dominante e afetando familiares originários dos Açores. *O Médico*. 1977; 82,446-448.
- 9- Coutinho P, Ruano L, Loureiro JL, et al. Hereditary ataxia and spastic paraplegia in Portugal: a population-based prevalence study. *JAMA Neurol* 2013;70:746-55 9.
- 10- de Castilhos RM, Furtado GV, Gheno TC, Schaeffer P, Russo A, Barsottini O, Pedroso JL, Salarini DZ, Vargas FR, de Lima MA, Godeiro C, Santana-da-Silva LC, Toralles MB, Santos S, van der Linden H Jr, Wanderley HY, de Medeiros PF, Pereira ET, Ribeiro E, Saraiva-Pereira ML, Jardim LB; Rede Neurogenética. Spinocerebellar ataxias in Brazil--frequencies and modulating effects of related genes. *Cerebellum*. 2014 Feb;13(1):17-28.
- 11- Destefano AL, Cupples LA, Maciel P, Gaspar C, Radvany J, Dawson DM, Sudarsky L, Corwin L, Coutinho P, MacLeod PM, Sequeiros J, Rouleau GA, Farrer LA. Familial factor independent of CAG repeat length influences age at onset of Machado-Joseph disease. *Am J Hum Genet* 1996;59:119-127.
- 12- Dürr A, Stevanin G, Cancel G, Duyckaerts C, Abbas N, Didierjean O, Chneiweiss H, Benomar A, Lyon-Caen O, Julien J, Serdaru M, Penet C, Agid Y, Brice A. Spinocerebellar ataxia 3 and Machado-Joseph disease: clinical, molecular, and neuropathological features. *Ann Neurol*. 1996 Apr;39(4):490-9.

- 13- Emmel VE, Donis K, Jardim LB, Saraiva-Pereira ML. Polymorphisms in IL1B and NEDD9 genes modify the phenotype in Machado-Joseph (MJD/SCA3) disease. 2010.
- 14- França MC Jr, D'Abreu A, Nucci A, Cendes F, Lopes-Cendes I. Progression of ataxia in patients with Machado-Joseph disease. *Mov Disord*. 2009 May 13;24(9):1387-1390.
- 15- Fukutake T, Shinotoh H, Nishino H, Ichikawa Y, Goto J, Kanazawa I, Hattori T. Homozygous Machado-Joseph disease presenting as REM sleep behaviour disorder and prominent psychiatric symptoms. *Eur J Neurol*. 2002 Jan;9(1):97-100.
- 16- Gan SR, Shi SS, Wu JJ, Wang N, Zhao GX, Weng ST, Murong SX, Lu CZ, Wu ZY. High frequency of Machado-Joseph disease identified in southeastern Chinese kindreds with spinocerebellar ataxia. *BMC Med Genet*. 2010;11:47.
- 17- Goti D, Katzen SM, Mez J, et al. A mutant ataxin-3 putative cleavage fragment in brains of Machado-Joseph disease patients and transgenic mice is cytotoxic above a critical concentration. *J Neurosci* 2004;24:10266-79.
- 18- Inoue K, Hanihara T, Yamada Y, Kosaka K, Katsuragi T, Iwabuchi K. Clinical and genetic evaluation of Japanese autosomal dominant cerebellar ataxias; is Machado-Joseph disease common in the Japanese? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1996;60:697-8.
- 19- Jacobi H, Bauer P, Giunti P, Labrum R, Sweeney MG, Charles P, Dürr A, Marelli C, Globas C, Linnemann C, Schöls L, Rakowicz M, Rola R, Zdzienicka E, Schmitz-Hübsch T, Fancellu R, Mariotti C, Tomasello C, Baliko L, Melegh B, Filla A, Rinaldi C, van de Warrenburg BP, Versteppen CC, Szymanski S, Berciano J, Infante J, Timmann D, Boesch S, Hering S, Depondt C, Pandolfo M, Kang JS, Ratzka S, Schulz J, Tezenas du Montcel S, Klockgether T. The natural history of spinocerebellar ataxia type 1, 2, 3, and 6: a 2-year follow-up study. *Neurology*. 2011 Sep 13;77(11):1035-41. doi: 10.1212/WNL.0b013e31822e7ca0. Epub 2011 Aug 10.
- 20- Jardim lb, Pereira ML, Silveira I, Ferro A, Sequeiros J, Giugliani R. Machado-Joseph disease in South Brazil: clinical and molecular characterization of kindreds. *Acta Neurol Scand* 2001;104: 224-331.
- 21- Jardim lb, Hauser L, Kieling C, Saute JA, Xavier R, Rieder CR, Monte TL, Camey S, Torman VB. Progression Rate of Neurological Deficits in a 10-Year Cohort of SCA3 Patients. *Cerebellum*. 2010 May 15
- 22- Kawaguchi Y, Okamoto T, Taniwaki M et al – CAG expansion in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nat Genet* 1994;8:221-8
- 23- Kieling C, Prestes PR, Saraiva-Pereira ML, Jardim LB (2007) Survival estimates for patients with Machado-Joseph disease (SCA3). *Clin Genet* 72: 543-545.
- 24- Kieling C, Rieder CR, Silva AC, Saute JA, Cecchin CR, Monte TL, Jardim LB. A neurological examination score for the assessment of spinocerebellar ataxia 3 (SCA3). *Eur J Neurol*. 2008 Apr;15(4):371-6.
- 25- Kuhn F. Breve História do Rio Grande do Sul. Segunda edição. Editora Leitura XXI, 2004

- 26- Lerer I, Merims D, Abeliovich D, Zlotogora J, Gadoth N. Machado-Joseph disease: correlation between the clinical features, the CAG repeat length and homozygosity for the mutation. *Eur J Hum Genet*. 1996;4(1):3-7.
- 27- Lopes-Cendes I, Teive HGA, Cardoso F, Viana EM, Calcagnotto ME, Costa JC, Trevisol-Bittencourt PC, Maciel JA, Rosseau M, Santos A, Araújo AQC, Rouleau GA. Molecular characteristics of Machado-Joseph disease mutation in 25 newly described Brazilian families. *Braz J of Genet* 1997; 20: 717-724.
- 28- Lysenko L, Grewal RP, Ma W, Peddareddygarri LR. Homozygous Machado Joseph Disease: a case report and review of literature. *Can J Neurol Sci*. 2010 Jul;37(4):521-3. Review.
- 29- Maciel P, Gaspar C, DeStefano al et al. Correlation between CAG repeat length and clinical features in Machado– Joseph disease. *Am J Hum Genet* 1995;57:54–61.
- 30- Maciel P, Costa MC, Ferro A, Rousseau M, Santos CS, Gaspar C, Barros J, Rouleau GA, Coutinho P, Sequeiros J. Improvement in the molecular diagnosis of Machado-Joseph disease. *Arch Neurol*. 2001 Nov;58(11):1821-7
- 31- Manto MU. The wide spectrum of spinocerebellar ataxias (SCAs). *The Cerebellum*. 2005; 4: 2–6
- 32- Mariotti C, Fancellu R, Di Donato S. An overview of the patient with ataxia. *J Neurol*. 2005 May;252(5):511-8.
- 33- Martins S, Coutinho P, Silveira I, Giunti P, Jardim LB, Calafell F, Sequeiros J, Amorim A. Cis-acting factors promoting the CAG intergenerational instability in Machado-Joseph disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2008 Jun 5;147B(4):439-46.
- 34- Maruyama H, Kawakami H, Kohriyama T, Sakai T, Doyu M, Sobue G, Seto M, Tsujihata M, Oh-i T, Nishio T, Sunohara N, Takahashi R, Ohtake T, Hayashi M, Nishimura M, Saida T, Abe K, Itoyama Y, Matsumoto H, Nakamura S. CAG repeat length and disease duration in Machado-Joseph disease: a new clinical classification. *J Neurol Sci*. 1997 Nov 25;152(2):166-71.
- 35- Maruyama H, Izumi Y, Morino H, Oda M, Toji H, Nakamura S, Kawakami H. Difference in disease-free survival curve and regional distribution according to subtype of spinocerebellar ataxia: a study of 1,286 Japanese patients. *Am J Med Genet*. 2002 Jul 8;114(5):578-83.
- 36- Masino L, Musi V, Menon RP, et al (2003) Domain architecture of the polyglutamine protein ataxin-3: a globular domain followed by a flexible tail. *FEBS Lett* 549: 21–25.
- 37- Matilla T, McCall A, Subramony SH, Zoghbi HY. Molecular and clinical correlations in spinocerebellar ataxia type 3 and Machado-Joseph disease. *Ann Neurol*. 1995 Jul;38(1):68-72.
- 38- Monte TL, Rieder CR, Tort AB, Rockenback I, Pereira ML, Silveira I, Ferro A, Sequeiros J, Jardim LB. Use of fluoxetine for treatment of Machado-Joseph disease: an open-label study. *Acta Neurol Scand*. 2003;107:207–10.

- 39- Murata Y, Yamaguchi S, Kawakami H, Imon Y, Maruyama H, Sakai T, Kazuta T, Ohtake T, Nishimura M, Saida T, Chiba S, Oh-i T, Nakamura S. Characteristic magnetic resonance imaging findings in Machado-Joseph disease. *Arch Neurol*. 1998 Jan;55(1):33-7.
- 40- Nakano KK, Dawson DM, Spence A. Machado disease. A hereditary ataxia in Portuguese emigrants to Massachusetts. *Neurology* 1972;22:49-55.
- 41- Onodera O, Idezuka J, Igarashi S, Takiyama Y, Endo K, Takano H, Oyake M, Tanaka H, Inuzuka T, Hayashi T, Yuasa T, Ito J, Miyatake T, Tsuji S. Progressive atrophy of cerebellum and brainstem as a function of age and the size of the expanded CAG repeats in the MJD1 gene in Machado-Joseph disease. *Ann Neurol*. 1998;43:288-96.
- 42- Paulson HL. Protein fate in neurodegenerative proteinopathies: polyglutamine diseases join the (mis)fold. *Am J Hum Genet*. 1999 Feb;64(2):339-45.
- 43- Pedrosa JL, Braga-Neto P, Radvany J, Barsottini, OGP. Machado-Joseph disease in Brazil: from the first descriptions to the emergence as the most common spinocerebellar ataxia. *Arq Neuropsiquiatr* 2012;70(8):630-632.
- 44- Prestes PR, Saraiva-Pereira ML, Silveira I, Sequeiros J, Jardim LB. Machado-Joseph disease enhances genetic fitness: a comparison between affected and unaffected women and between MJD and the general population. *Ann Hum Genet*. 2008;72:57-64.
- 45- Radvany J, Ávila JO, Gabbai AA, Bacheschi LA. Doença de Machado-Joseph no Brasil: o relato das primeiras duas famílias [Abstract]. *Arq Neuropsiquiatr* 1988; (supl.):46B
- 46- Radvany J, Camargo CH, Costa ZM, Fonseca NC, Nascimento ED. Machado-Joseph disease of Azorean ancestry in Brazil: the Catarina kindred. Neurological, neuroimaging, psychiatric and neuropsychological findings in the largest known family, the "Catarina" kindred. *Arq Neuropsiquiatr* 1993;51:21-30.
- 47- Ranum LP, Lundgren JK, Schut LJ, Ahrens MJ, Perlman S, Aita J, Bird TD, Gomez C, Orr HT. Spinocerebellar ataxia type 1 and Machado-Joseph disease: incidence of CAG expansions among adult-onset ataxia patients from 311 families with dominant, recessive, or sporadic ataxia. *Am J Hum Genet*. 1995 Sep;57(3):603-8.
- 48- Rosenberg RN, Nyhan WL, Bay C, Shore P. Autosomal dominant striatonigral degeneration: a clinical, pathologic, and biochemical study of a new genetic disorder. *Neurology* 1976;26:703-714.
- 49- Sakai T, Kawakami H. Machado-Joseph disease: A proposal of spastic paraplegic subtype. *Neurology*. 1996 Mar;46(3):846-7. No abstract available.
- 50- Saute JA, Donis KC, Serrano-Munuera C, Genis D, Ramirez LT, Mazzetti P, Pérez LV, Latorre P, Sequeiros J, Matilla-Dueñas A, Jardim LB; Iberoamerican Multidisciplinary Network for the Study of Movement Disorders (RIBERMOV) Study Group. Ataxia rating scales psychometric profiles, natural history and their application in clinical trials. *Cerebellum*. 2012 Jun;11(2):488-504.
- 51- Saute JA, de Castilhos RM, Monte TL, Schumacher-Schuh AF, Donis KC, D'Ávila R, Souza GN, Russo AD, Furtado GV, Gheno TC, de Souza DO, Portela LV, Saraiva-Pereira

ML, Camey SA, Torman VB, de Mello Rieder CR, Jardim LB. A randomized, phase 2 clinical trial of lithium carbonate in Machado-Joseph disease. *Mov Disord*. 2014 Apr;29(4):568-73.

52- Saute JA e Jardim LB. Machado Joseph disease: clinical and genetic aspects, and current treatment. *Expert Opinion on Orphan Drugs* (2015) 3(5).

53- Schmitz-Hübsch T, du Montcel ST, Baliko L, Berciano J, Boesch S, Depondt C, Giunti P, Globas C, Infante J, Kang JS, Kremer B, Mariotti C, Melegh B, Pandolfo M, Rakowicz M, Ribai P, Rola R, Schöls L, Szymanski S, van de Warrenburg BP, Dürr A, Klockgether T, Fancellu R. Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale. *Neurology*. 2006. 13;66:1717-20.

54- Schöls L, Bauer P, Schmidt T, Schulte T, Riess O. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet Neurol* 2004; 3: 291–304

55- Schöls L, Amoiridis G, Eppelen JT, Langkafel M, Przuntek H, Riess O. Relations between genotype and phenotype in German patients with the Machado-Joseph disease mutation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1996;61:466–70.

56- Sequeiros J, Coutinho P. Epidemiology and Clinical Aspects of Machado-Joseph Disease. In: Harding A and Deufel T, eds. *Hereditary Ataxias*. Adv Neurol, vol. 61. New York: Raven Press; 1993:139-153.

57- Sequeiros J. Genética Clássica e Genética Molecular da Doença de Machado-Joseph. In: Sequeiros J, editor. *O Teste Preditivo da Doença de Machado-Joseph*. Primeira edição. Porto: UNL-GENE, IBMC; 1996 (a): 33-48.

58- Sobue G, Doyu M, Nakao N, Shimada N, Mitsuma T, Maruyama H, Kawakami S, Nakamura S. Homozygosity for Machado-Joseph disease gene enhances phenotypic severity. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1996 Mar;60(3):354-6.

59- Soong B, Paulson HL – Spinocerebellar ataxias: an update. *Curr Opin Neurol* 2007;20:438-446

* 60- Takei A, Fukazawa T, Hamada T, Sohma H, Yabe I, Sasaki H, Tashiro K. Effects of tandospirone on "5-HT1A receptor-associated symptoms" in patients with Machado-Joseph disease: an open-label study. *Clin Neuropharmacol*. 2004;27:9–13.

61- Takiyama Y, Nishizawa M, Tanaka H – The gene for Machado-Joseph disease maps to human chromosome 14q. *Nat Gen* 1993;4:300-303

62- Teive HAG, Arruda WO, Trevisol-Bittencourt PC. Doença de Machado-Joseph. Descrição de cinco membros de uma família. *Arq Neuro psiquiat* 1991; 49:172-179.

63- Trouillas P, Takayanagi T, Hallett M, Currier RD, Subramony SH, Wessel K, Bryer A, Diener HC, Massaquoi S, Gomez CM, Coutinho P, Ben Hamida M, Campanella G, Filla A, Schut L, Timann D, Honnorat J, Nighoghossian N, Manyam B. International Cooperative Ataxia Rating Scale for pharmacological assessment of the cerebellar syndrome. The Ataxia Neuropharmacology Committee of the World Federation of Neurology. *J Neurol Sci*. 1997 Feb 12;145(2):205-11.

- 64- Tuite PJ, Rogaeva EA, St George-Hyslop PH, Lang AE. Dopa-responsive parkinsonism phenotype of Machado-Joseph disease: confirmation of 14q CAG expansion. *Ann Neurol*. 1995 Oct;38(4):684-7.
- 65- Vale J, Bugalho P, Silveira I, Sequeiros J, Guimarães J, Coutinho P. Autosomal dominant cerebellar ataxia: frequency analysis and clinical characterization of 45 families from Portugal. *Eur J Neurol*. 2010;17:124–8.
- 66- van Schaik IN, Jöbsis GJ, Vermeulen M, Keizers H, Bolhuis PA, de Visser M. Machado-Joseph disease presenting as severe asymmetric proximal neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997 Oct;63(4):534-6.
- 67- van de Warrenburg BP, Sinke RJ, Verschuuren-Bemelmans CC, et al. Spinocerebellar ataxias in the Netherlands: prevalence and age at onset variance analysis. *Neurology* 2002; 58:702-708.
- 68- Waragai M, Ogawara K, Takaya Y, Hayashi M. Efficacy of TRH-T for spinocerebellar degeneration--the relation between clinical features and effect of TRH therapy. *Rinsho Shinkeigaku*. 1997 Jul;37(7):587-94.
- 69- Wessel K, Langenberger K, Nitschke MF, Kömpf D. Double-blind crossover study with physostigmine in patients with degenerative cerebellar diseases. *Arch Neurol*. 1997 Apr;54(4):397-400.
- 70- Woods BT, Schaumburg HH. Nigro-spino-dental degeneration with nuclear ophthalmoplegia. A unique and partially treatable clinico-pathological entity. *J Neurol Sci* 1972; 17: 149-166.
- 71- www.geneclinics.com
- 72- Yamada S, Nishimiya J, Nakajima T, Taketazu F. Linear high intensity area along the medial margin of the internal segment of the globus pallidus in Machado-Joseph disease patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;76:573–5.
- 73- Zhao Y, Tan EK, Law HY, Yoon CS, Wong MC, Ng I. Prevalence and ethnic differences of autosomal-dominant cerebellar ataxia in Singapore. *Clin Genet*. 2002;62:478–81
- 74- Zhou YX, Takiyama Y, Igarashi S, et al. Machado-Joseph disease in four Chinese pedigrees: molecular analysis of 15 patients including two juvenile cases and clinical correlations. *Neurology* 1997;48:482-5.

ANEXOS

Scale for the assessment and rating of ataxia (SARA)

Paciente:

Data:

Examinador:

Avaliação:

Baseline?

6 meses?

12 meses?

Avaliação:		Baseline?	6 meses?	12 meses?	
<p>1) Gait</p> <p>Proband is asked (1) to walk at a safe distance parallel to a wall including a half-turn (turn around to face the opposite direction of gait) and (2) to walk in tandem (heels to toes) without support.</p> <p>0 Normal, no difficulties in walking, turning and walking tandem (up to one misstep allowed)</p> <p>1 Slight difficulties, only visible when walking 10 consecutive steps in tandem</p> <p>2 Clearly abnormal, tandem walking >10 steps not possible</p> <p>3 Considerable staggering, difficulties in half-turn, but without support</p> <p>4 Marked staggering, intermittent support of the wall required</p> <p>5 Severe staggering, permanent support of one stick or light support by one arm required</p> <p>6 Walking > 10 m only with strong support (two special sticks or stroller or accompanying person)</p> <p>7 Walking < 10 m only with strong support (two special sticks or stroller or accompanying person)</p> <p>8 Unable to walk, even supported</p>			<p>2) Stance</p> <p>Proband is asked to stand (1) in natural position, (2) with feet together in parallel (big toes touching each other) and (3) in tandem (both feet on one line, no space between heel and toe). Proband does not wear shoes, eyes are open. For each condition, three trials are allowed. Best trial is rated.</p> <p>0 Normal, able to stand in tandem for > 10 s</p> <p>1 Able to stand with feet together without sway, but not in tandem for > 10s</p> <p>2 Able to stand with feet together for > 10 s, but only with sway</p> <p>3 Able to stand for > 10 s without support in natural position, but not with feet together</p> <p>4 Able to stand for >10 s in natural position only with intermittent support</p> <p>5 Able to stand >10 s in natural position only with constant support of one arm</p> <p>6 Unable to stand for >10 s even with constant support of one arm</p>		
Score			Score		

3) Sitting Proband is asked to sit on an examination bed without support of feet, eyes open and arms outstretched to the front. 0 Normal, no difficulties sitting >10 sec 1 Slight difficulties, intermittent sway 2 Constant sway, but able to sit > 10 s without support 3 Able to sit for > 10 s only with intermittent support 4 Unable to sit for >10 s without continuous support			4) Speech disturbance Speech is assessed during normal conversation. 0 Normal 1 Suggestion of speech disturbance 2 Impaired speech, but easy to understand 3 Occasional words difficult to understand 4 Many words difficult to understand 5 Only single words understandable 6 Speech unintelligible / anarthria		
Score			Score		
5) Finger chase Rated separately for each side Proband sits comfortably. If necessary, support of feet and trunk is allowed. Examiner sits in front of proband and performs 5 consecutive sudden and fast pointing movements in unpredictable directions in a frontal plane, at about 50 % of proband's reach. Movements have an amplitude of 30 cm and a frequency of 1 movement every 2 s. Proband is asked to follow the movements with his index finger, as fast and precisely as possible. Average performance of last 3 movements is rated. 0 No dysmetria 1 Dysmetria, under/ overshooting target <5 cm 2 Dysmetria, under/ overshooting target < 15 cm 3 Dysmetria, under/ overshooting target > 15 cm 4 Unable to perform 5 pointing movements			6) Nose-finger test Rated separately for each side Proband sits comfortably. If necessary, support of feet and trunk is allowed. Proband is asked to point repeatedly with his index finger from his nose to examiner's finger which is in front of the proband at about 90 % of proband's reach. Movements are performed at moderate speed. Average performance of movements is rated according to the amplitude of the kinetic tremor. 0 No tremor 1 Tremor with an amplitude < 2 cm 2 Tremor with an amplitude < 5 cm 3 Tremor with an amplitude > 5 cm 4 Unable to perform 5 pointing movements		
Score	Right	Left	Score	Right	Left
mean of both sides (R+L)/2			mean of both sides (R+L)/2		

7) Fast alternating hand movements			8) Heel-shin slide		
Rated separately for each side			Rated separately for each side		
<p>Proband sits comfortably. If necessary, support of feet and trunk is allowed. Proband is asked to perform 10 cycles of repetitive alternation of pro- and supinations of the hand on his/her thigh as fast and as precise as possible. Movement is demonstrated by examiner at a speed of approx. 10 cycles within 7 s. Exact times for movement execution have to be taken.</p>			<p>Proband lies on examination bed, without sight of his legs. Proband is asked to lift one leg, point with the heel to the opposite knee, slide down along the shin to the ankle, and lay the leg back on the examination bed. The task is performed 3 times. Slide-down movements should be performed within 1 s. If proband slides down without contact to shin in all three trials, rate 4.</p>		
<p>0 Normal, no irregularities (performs <10s)</p> <p>1 Slightly irregular (performs <10s)</p> <p>2 Clearly irregular, single movements difficult to distinguish or relevant interruptions, but performs <10s</p> <p>3 Very irregular, single movements difficult to distinguish or relevant interruptions, performs >10s</p> <p>4 Unable to complete 10 cycles</p>			<p>0 Normal</p> <p>1 Slightly abnormal, contact to shin maintained</p> <p>2 Clearly abnormal, goes off shin up to 3 times during 3 cycles</p> <p>3 Severely abnormal, goes off shin 4 or more times during 3 cycles</p> <p>4 Unable to perform the task</p>		
Score	Right	Left	Score	Right	Left
mean of both sides (R+L)/2			mean of both sides (R+L) / 2		

NESSCA Name: _____ **Date:** _____ **Baseline? 6m?12m?** _____

Item	Proofs	Severity	Score
Gait ataxia	- Walking spontaneously, ten steps, parallel to a wall, and including a half-turn	Absent	0
		Minimal: only while walking on toes, heels, or in tandem	1
	- Walking on toes, on heels, and in tandem	Moderate: gait autonomy preserved	2
		Inability to walk without help	3
		Wheelchair bound or bedridden	4
Limb ataxia	- Finger-to-nose test	Absent	0
(bilateral)	- Test for dysdiadochokinesia (fast alternating pronation and supination of hands,	Minimal: one single altered proof	1
		Moderate: two altered proofs	2

	elbows fixed to his/her sides)	Important: three altered proofs	3
	- Rebound test of Gordon-Holmes	Proofs: (a) dysmetria, (b) fast alternating hand movements, and (c) upper limb rebound. Positive findings can be uni or bilateral.	
Nistagmus		Absent	0
		On extreme gaze; or circular, after saccades	1
		Permanent	2
Progressive external ophthalmoplegia		Absent	0
		Supranuclear: medial longitudinal fasciculus syndrome; or limitation in upward gaze or convergence	1
		Nuclear ophthalmoplegia, with strabismus	2
Pyramidal findings	- Limb reflexes, including patellar and ankle clonus test	Absent	0
		Few brisk reflexes	1
	- Plantar reflex	General hyperreflexia; or clonus; or Babinski sign	2
	- Muscle tone examination	Three findings: (a) general hyperreflexia, (b) spasticity, (c) clonus, (d) Babinski sign; (e) paresis	3
	- Motor strength proofs: extended arms and Mingazzini test (60 sec each)	Four or five of the above mentioned signs	4
Dysarthria		Absent	0
		Mild: Impaired speech, but easy to understand	1
		Moderate: speech understandable, but with difficulty	2
		Severe: speech hardly understandable	3
		Anarthria	4
Dysfagia		Absent	0
		Mild	1
		Important: occurring every day	2

Fasciculations		Absent	0
		Contraction fasciculation in the face	1
		Diffuse, or in other parts of the body	2
Sensory loss	(a) Vibratory sense in the first toes; normal: >11 sec.	Absent	0
	(b) Discrimination between tactile and algescic stimuli using a needle; 10 trials per foot (tpf).	One altered proof: Reduction in (a) or (b) or (c): two to four mistakes, on average of both feet	1
	(c) Discrimination between cold (10°C) and warm (40-60°C) water; 10 tpf	Two altered proofs	2
		Total loss of vibratory sense in toes; or 5 or more mistakes in one of discriminating proofs; or three altered proofs	3
Dystonia		Absent	0
		Mild, triggered by voluntary movements	1
		Moderate, impairing, in some degree, voluntary movements (vm)	2
		Almost constant, severely impairing vm	3
Rigidity		Absent	0
		Moderate: does not prevent total, passive mobilization	1
		Important: prevent total, passive mobilization	2
Bradykinesia	- Patient is asked to perform 10 cycles of repetitive opposition (extension and flexion) of the second finger against the thumb	Absent	0
		Slow movements, with reduction in amplitude	1
		Movements can hardly be done	2
Eyelid retraction		Absent	0
		Present	1
Blepharospasm		Absent	0

		Present	1
Distal amyotrophies	- Inspection of the interossei, tenar and hypotenar muscles	Absent	0
		Present	1
Sphincter function		Normal	0
		Urgency	1
		Incontinence	2
Cramps		Absent	0
		Present	1
Vertigo		Absent	0
		Present	1
Total score			