

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

PIETRO BAPTISTA DE AZEVEDO

**MANIFESTAÇÕES OFTALMOLÓGICAS E NEUROLÓGICAS EM PORTADORES PRÉ-
SINTOMÁTICOS E SINTOMÁTICOS DE ATAXIA ESPINOCEREBELAR TIPO 7**

Porto Alegre

2017

CIP - Catalogação na Publicação

Azevedo, Pietro
MANIFESTAÇÕES OFTALMOLÓGICAS E NEUROLÓGICAS EM
PORTADORES PRÉ-SINTOMÁTICOS E SINTOMÁTICOS DE ATAXIA
ESPINOCEREBELAR TIPO 7 / Pietro Azevedo. -- 2017.
69 f.
Orientador: Laura Jardim.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto
Alegre, BR-RS, 2017.

1. ataxia espinocerebelar tipo 7. 2. acuidade
visual. 3. OCT. 4. retinopatia. 5. tomografia de
coerência óptica. I. Jardim, Laura, orient. II.
Título.

PIETRO BAPTISTA DE AZEVEDO

MANIFESTAÇÕES OFTALMOLÓGICAS E NEUROLÓGICAS EM PORTADORES PRÉ-SINTOMÁTICOS E SINTOMÁTICOS DE ATAXIA ESPINOCEREBELAR TIPO 7

Dissertação a ser apresentada como requisito parcial para obtenção de Mestre em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas.

Orientadora: Profa. Dra. Laura Bannach Jardim

Porto Alegre
2017

RESUMO

Introdução: a ataxia espinocerebelar tipo 7 (SCA7) é um distúrbio neurodegenerativo autossômico dominante causado por uma repetição CAG expandida (CAGexp) no gene *ATXN7*, resultando na inserção de uma poliglutamina (poliQ) alongada na proteína ataxina-7. Em consequência, pacientes com SCA7 desenvolvem ataxia, espasticidade e outros sintomas neurológicos. A SCA 7 se destaca de outras SCAs por se associar à distrofia retiniana, causando deficiências visuais que podem levar à cegueira. Sendo uma das mais raras SCAs, pequenas séries de casos têm aparecido na literatura. Poucas delas buscaram correlacionar os achados neurológicos com os oftalmológicos; e a fase pré-clínica jamais foi sistematicamente investigada. **Objetivo:** descrever os achados neurológicos e oftalmológicos de uma coorte de casos de SCA 7, comparando as manifestações encontradas em sujeitos sintomáticos com as encontradas em portadores assintomáticos e em parentes não portadores, em uma abordagem exploratória que buscou levantar potenciais biomarcadores de progressão da doença. **Métodos:** trata-se de um estudo transversal onde pacientes com diagnóstico molecular de SCA7 realizado na nossa instituição foram identificados em nossos arquivos protegidos. Tanto eles como seus parentes foram convidados a participar da presente investigação. Sujeitos em risco de 50% foram incluídos se tivessem mais de 18 anos. Após o consentimento, dados clínicos e demográficos foram coletados entre junho de 2016 e setembro de 2017. A seguir, todos os participantes realizaram uma bateria de escalas clínicas voltadas à medida da ataxia (SARA, CCFS, PATA e 8 MW) e das manifestações neurológicas (NESSCA e INAS); um questionário de qualidade de vida relacionada à visão (NEI-VFQ 25); avaliação da acuidade visual melhor corrigida (AVMC), desvio médio em campimetria computadorizada (MD) e espessuras da mácula e da camada de células ganglionares na tomografia de coerência óptica (OCT). A escala SARA e a AVMC foram escolhidas como as variáveis de referência para a gravidade dos quadros. A análise molecular do *ATXN7* foi feita, mas participantes do estudo e avaliadores foram mantidos cegos para seus resultados; os indivíduos em risco interessados em receber seus resultados foram enviados para o programa de testes pré-sintomáticos. Como não houve critérios *a priori* para estimar tamanhos de efeito e como a SCA7 é uma condição rara, não houve como decidir um tamanho de amostra. O estudo foi exploratório e por isso não foram feitas correções para múltiplas testagens. Um p de 0,05 foi eleito para definir significância, e testes estatísticos foram aplicados de acordo com as características das variáveis em estudo. **Resultados:** 12 portadores sintomáticos (grupo 2) e 8 indivíduos em risco (3 portadores - grupo 1 - e 5 não-portadores - grupo 0) foram incluídos neste estudo. Todas as variáveis contínuas à exceção da CAGexp tiveram distribuição

normal. A AVMC estava reduzida em todos os participantes sintomáticos e claramente diferente entre estes e os outros dois grupos ($p < 0,0001$, ANOVA), enquanto os portadores assintomáticos e os não portadores tiveram resultados semelhantes. A AVMC média foi 20/143, 20/18 e 20/20 nos grupos 2, 1 e 0, respectivamente. Não surpreendentemente, o NEI-VFQ 25 também demonstrou uma diferença estatisticamente significativa, mas o que foi inesperado foi a forma progressivamente diferente entre os 3 grupos (grupo 0 = $92,76 \pm 6,7$; grupo 1 = $74,9 \pm 55,5$; grupo 2 = $58,0 \pm 21,3$) ($p = 0,012$, ANOVA com Tukey). O MD mostrou um padrão linear estatisticamente significativo para piorar do grupo controle ($-1,34 \pm 1,15$ dB) para o assintomático ($-2,81 \pm 1,66$ dB) e do grupo assintomático para sintomático ($-10,54 \pm 6,95$ dB) ($p = 0,027$, ANOVA com Tukey). Além disso, o MD correlacionou-se com a AVMC ($p = 0,020$; $r = 0,660$) e apresentou tendência de correlação com a SARA ($p = 0,073$; $r = -0,535$). As medidas de espessura macular distinguem completamente os 3 grupos (grupo 0 = $243,6 \pm 22,2$ μ ; grupo 1 = $204,5 \pm 14,1$ μ ; grupo 2 = $137,95 \pm 34,6$ μ) ($p = 0,0001$, ANOVA) e também se correlacionou significativamente com os dois critérios planejados de gravidade, SARA ($p = 0,050$; $r = -0,577$) e AVMC ($p = 0,007$; $r = 0,730$). **Discussão:** alterações oftalmológicas estavam presentes já nas fases pré-clínicas da doença, quando os escores obtidos das escalas neurológicas ainda não distinguem portadores assintomáticos de não portadores: a espessura macular medida por OCT e o MD medido pela campimetria computadorizada. Esses achados demonstram que o processo neurodegenerativo já se encontra em curso e é detectável por essas medidas anatômicas e funcionais da retina. Além disso, ambas as alterações detectadas em fases pré-clínicas, ao serem estudadas no grupo total de portadores sintomáticos e assintomáticos, se correlacionaram com os nossos padrões-ouro da gravidade da doença, SARA e AVMC. Os dois achados - início em fase pré-clínica e correlação com a progressão da doença medida por escores independentes - sugerem que a espessura macular medida por OCT e o MD medido pela campimetria computadorizada são potenciais candidatos a biomarcadores de estado (de progressão da doença) desde fases pré-manifestas na SCA7.

PALAVRAS-CHAVE: acuidade visual, ataxia espinocerebelar tipo 7, biomarcadores, campimetria computadorizada, OCT, SCA7, retinopatia, tomografia de coerência óptica

ABSTRACT

Background: spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) is an autosomal dominant neurodegenerative disorder caused by an expanded CAG repeat (CAG_{exp}) at *ATXN7* gene, resulting in the insertion of an elongated polyglutamine (polyQ) into the ataxin-7 protein. As a consequence, patients with SCA7 develop ataxia, spasticity and other neurological symptoms. SCA7 stands out from other SCAs by associating it with retinal dystrophy, causing visual deficiencies that can lead to blindness. Being one of the rarest SCAs, small series of cases appear in the literature. Few of them sought to correlate neurological findings with ophthalmologic findings; and the preclinical stage has never been systematically investigated. **Objective:** to describe the neurological and ophthalmological findings of a cohort of cases of SCA7, comparing the manifestations found in symptomatic subjects with those found in asymptomatic carriers and in non-carrier relatives in an approach exploratory study that sought to raise potential biomarkers of disease progression. **Methods:** patients with a molecular diagnosis of SCA7 performed at our institution were identified in our protected files. Both they and their relatives were invited to participate in the present investigation. Subjects at risk of 50% were included if they were older than 18 years. After consent, clinical and demographic data were collected between June 2016 and September 2017. All participants then performed a battery of clinical scales aimed at the measurement of ataxia (SARA, CCFS, PATA and 8 MW) and neurological manifestations (NESSCA and INAS); a visual function questionnaire (NEI-VFQ 25); assessment of better corrected visual acuity (AVMC), mean deviation in computerized campimetry (MD), and thickness of the macula and ganglion cell layer on OCT. The SARA and AVMC scale were chosen as the reference variables for the severity of the frames. Molecular analysis of *ATXN7* was done, but study participants and evaluators were kept blind to their results; the individuals at risk interested in receiving their results were sent to the presymptomatic testing program. As there were no *a priori* criteria for estimating effect sizes and because SCA7 is a rare condition, there was no way to decide on a sample size. The study was exploratory and therefore no corrections were made for multiple tests. A *p* of 0.05 was chosen to define significance, and statistical tests were applied according to the characteristics of the variables under study. **Results:** 12 symptomatic carriers (group 2) and 8 individuals at risk (5 carriers - group 1 - and 3 non-carriers - group 0) were included in this study between June 2016 and September 2017. All continuous variables with the exception of CAG_{exp} had normal distribution. AVMC was reduced in all symptomatic participants and clearly different between these and the other two groups ($p < 0.0001$, ANOVA), while asymptomatic and non-carriers had similar results. The mean BCVA was 20/143, 20/18 and 20/20 in groups 2,1 and

0, respectively. Not surprisingly, NEI-VFQ 25 also showed a statistically significant difference, but what was unexpected was the progressively different form between the 3 groups (group 0 = 92.76 ± 6.7 , group 1 = 74.9 ± 55.5 , group 2 = 58.0 ± 21.3) ($p = 0.012$, ANOVA with Tukey). The MD showed a statistically significant linear pattern to worsen from the control group ($-1.34 \pm 1.15\text{dB}$) to the asymptomatic ($-2.81 \pm 1.66\text{dB}$) and from the asymptomatic to the symptomatic group ($-10.54 \pm 6.95\text{dB}$) ($p = 0.027$, ANOVA with Tukey). In addition, MD correlated with AVMC ($p = 0.020$; $r = 0.660$) and showed a correlation tendency with ARDS ($p = 0.073$; $r = -0.535$). The macular thickness scores completely distinguish the 3 groups (group 0 = $243.6 \pm 22.2 \mu$, group 1 = $204.5 \pm 14.1 \mu$, group 2 = $137.95 \pm 34.6 \mu$) ($p = 0.0001$, ANOVA ...) and also correlated significantly with the two planned criteria of severity, SARA ($p = 0.050$, $r = -0.577$) and AVMC ($p = 0.007$, $r = 0.730$).

Conclusion: ophthalmologic changes were present already in the preclinical stages of the disease, when the scores obtained from the neurological scales did not yet distinguish asymptomatic non-carrier patients: macular thickness measured by OCT and MD measured by computerized campimetry. These findings demonstrate that the neurodegenerative process is already underway and is detectable by these anatomical and functional measures of the retina. In addition, both changes detected in preclinical stages, when studied in the total group of symptomatic and asymptomatic carriers, correlated with our gold standard of disease severity, SARA and AVMC. The two findings - pre-clinical onset and correlation with disease progression measured by independent scores - suggest that the macular thickness measured by OCT and MD as measured by computerized campimetry are potential candidates for disease biomarkers (disease progression) from pre-manifest stages in SCA7.

KEY WORDS: visual acuity, spinocerebellar ataxia type 7, biomarkers, computerized perimetry, OCT, SCA7, retinopathy, optical coherence tomography

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diagrama de fluxo da revisão da literatura

Figura 2 – Ophthalmological characteristics of the three groups

Figura 3 – Correlation between NEI-VFQ 25 and age

Figura 4 – Neurological and ophthalmological characteristics correlated with SARA

Figura 5 – Neurological and ophthalmological characteristics correlated with BCVA

LISTA DE TABELAS

Table 1 – General characteristics of the present cohort

Table 2 – Neurologic findings on 12 symptomatic CAGexp at ATXN7 carriers

Table 3 – Neurological scores results

Table 4 – Ophthalmological results

Table 5 – Comparisons between SARA scores and the other neurologic and ophthalmologic measurements of interest among all ATXN7 CAGexp carriers of the present study

Table 6 – Comparisons between visual acuity as measured by ETDRS (average between both eyes) and the other neurologic and ophthalmologic measurements of interest among all ATXN7 CAGexp carriers of the present study

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADCA	Ataxia autossômica dominante
AVMC	Acuidade visual melhor corrigida
BARS	Brief Ataxia Rating Scale
CAG	Citosina - arginina - guanosina
CAGexp	Expansão da repetição CAG
CAGn	Número de repetições CAG
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCFS	Composite Cerebellar Functional Score
CFN	Camada de fibras nervosas da retina
DRPLA	Dentatorubral-pallidoluysian atrophy
EA	Ataxia episódica
ERG	Eletrorretinograma
ETDRS	Early Treatment Diabetic Retinopathy Study
INAS	Inventory of Non-Ataxia Signs
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
MD	Mean Deviation (desvio médio)
NEI-VFQ 25	National Eye Institute Visual Function Questionnaire-25
NESSCA	Neurological Examination Score for Spinocerebellar Ataxia

OCT	Tomografia de coerência óptica
OPCA	Olivopontocerebellar atrophy
poliQ	Poliglutamina
PubMed	Motor de busca de livre acesso à base de dados MEDLINE de citações e resumos de artigos de investigação em biomedicina
SARA	Scale for the Assessment and Rating of Ataxia
SCA	Ataxia espinocerebelar
SciELO	Scientific Electronic Library Online

SUMÁRIO

ABSTRACT	4
SUMÁRIO	10
1. INTRODUÇÃO	12
1.I REVISÃO DA LITERATURA	12
1.II REFERENCIAL TEÓRICO	13
2. JUSTIFICATIVA	18
3. OBJETIVOS	19
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
5. ARTIGO	25
Abstract	25
I. Introduction	26
II. Methods	27
III. Results	30
IV. Discussion	33
V. References	36
VI. Acknowledgements	39
VII. List of Tables	40
VIII. List of Figures	40
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
7. PERSPECTIVAS FUTURAS	55
8. ANEXOS E/OU APÊNDICES	56

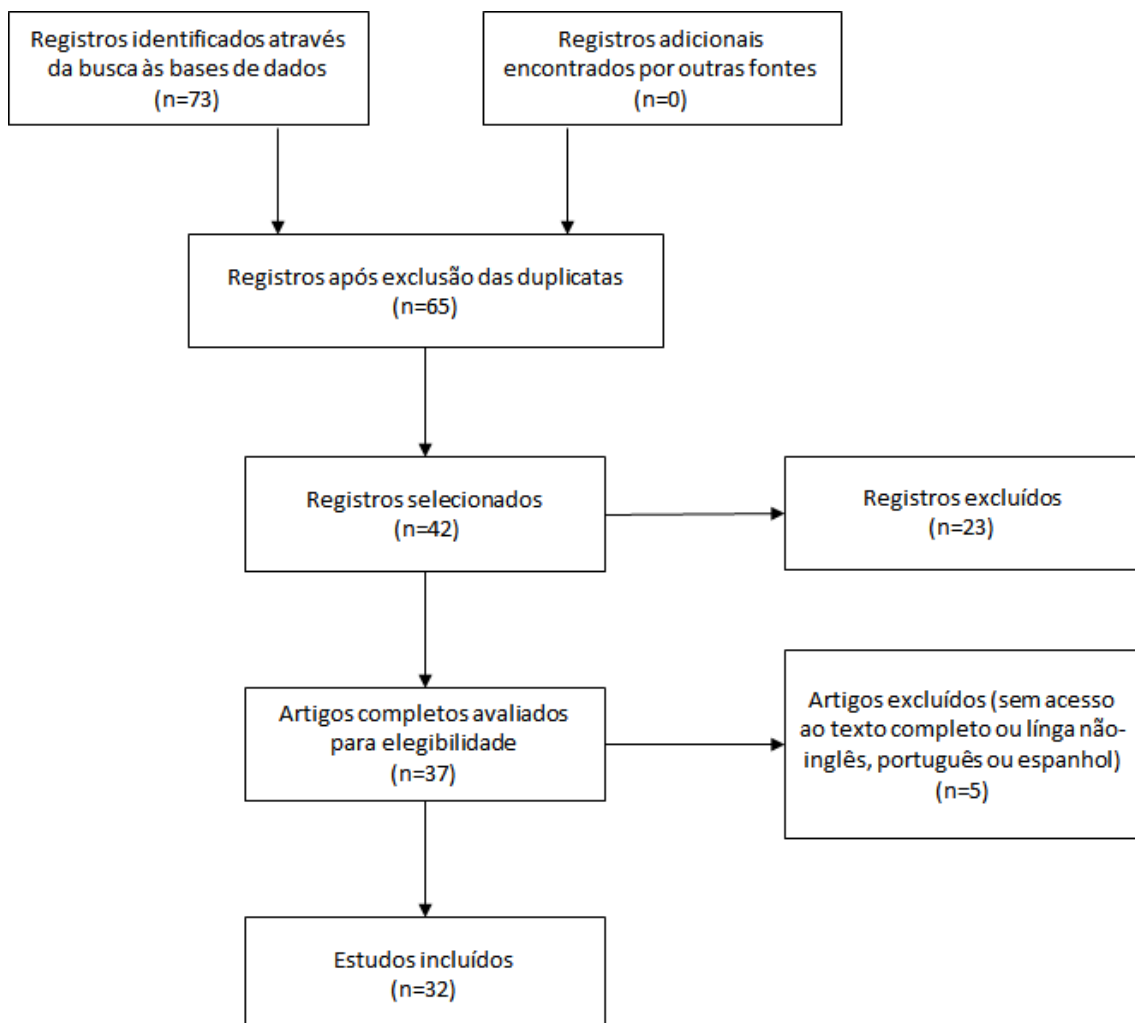
1. INTRODUÇÃO

1.1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações

Foram realizadas buscas nas principais bases de dados (PubMed, SciELO, LILACS, banco de teses da CAPES) com as seguintes palavras-chave: “SCA 7”, “ataxia spinocerebellar type 7”, “eye”, “ophthalmologic”, “ophthalmic”. Foram incluídos todos os estudos que avaliaram alterações oculares e/ou de visão em pacientes com SCA 7, desde que redigidos em inglês, português ou espanhol. Foram excluídos artigos a cujo texto completo não foi possível acesso pelos pesquisadores.

Figura 1. Diagrama de Fluxo da Revisão da Literatura



1.II REFERENCIAL TEÓRICO

Ataxia é definida como um distúrbio do equilíbrio e coordenação motora ocorrendo na ausência de fraqueza muscular e pode surgir de disfunção do cerebelo, sistema vestibular, propriocepção ou de uma combinação destes [Shakkottai, 2013].

1.II.1 Ataxias espinocerebelares

As ataxias espinocerebelares (internacionalmente conhecidas pela sigla SCA, do inglês: spinocerebellar ataxias), são um grupo heterogêneo de condições degenerativas com sintomas causados pela disfunção do tronco cerebral e cerebelo, juntamente com suas conexões, com uma herança de padrão autossômico dominante [Shakkottai, 2013].

Apesar de suas similaridades clínicas, uma grande variedade de causas genéticas está por trás das SCAs. Embora genes distintos representem mais de 30 etiologias de ataxia dominante, as SCAs podem ser agrupadas de acordo com mecanismos moleculares compartilhados, incluindo: ataxias devidas a poliglutaminopatia (SCAs 1, 2, 3, 6, 7, 12, 17 e DRPLA), ataxias associadas à disfunção de canal de íon (ataxias episódicas EA1 a EA4), associadas à desregulação da expressão gênica, curiosamente devidas a repetições em regiões não codificantes (SCAs 8, 10, 12), e ataxias devidas a mutações de ponto em genes que expressam proteínas com diferentes funções no neurônio (como as SCAs 5, 13, 14 e 27) [Shakkottai, 2013].

As ataxias associadas às poliglutaminas (poliQs) são causadas pela expansão de uma repetição CAG codificante. Indivíduos normais têm alelos com repetições CAG de variados tamanhos (CAGn). Quando o tamanho do CAGn ultrapassa um determinado limiar, a repetição CAG passa a ser patogênica e é então chamada de expandida (CAGexp). A presença de uma CAGexp resulta em um trato alongado de glutaminas na proteína codificada pelo gene em questão - a poliQ. O mecanismo exato pelo qual uma poliQ causa ataxia é desconhecido [Shakkottai 2013]. Potenciais mecanismos são: proteína mal dobrada (*misfolding*) ocupando excessivamente o sistema de controle de qualidade proteica das células, formação de complexos oligoméricos tóxicos, desregulação transcricional, disfunção mitocondrial e transporte axonal deficiente.

A CAGexp é a principal determinante da idade de início nas poliglutaminopatias: quanto maior a CAGexp, mais precoce é a idade de início e mais grave é o quadro clínico. Além disso, a CAGexp é instável nas divisões celulares, como meioses, em especial quando atravessa uma espermatogênese. Em consequência, diferentes tamanhos de CAGexp são

transmitidas à prole, a CAGexp tendendo aparentemente a se expandir mais do que a se contrair. Por isso, as ataxias por poliQ apresentam o fenômeno da antecipação, onde os primeiros sintomas aparecem mais cedo em gerações sucessivas [Donis, 2015].

1.II.2 Ataxia espinocerebelar tipo 7

A ataxia espinocerebelar tipo 7 (SCA 7), previamente conhecida como ataxia autossômica dominante tipo II (ADCA II) e ataxia olivopontocerebelar tipo III (OPCA III) [Aleman, 2002], é uma condição neurodegenerativa autossômica dominante caracterizada por ataxia cerebelar progressiva, incluindo disartria e disfagia, e distrofia retiniana com perda progressiva da visão central resultando em cegueira nos adultos afetados. O aparecimento no início da infância tem um curso especialmente rápido e agressivo.

A CAGexp instável responsável pela SCA7 está dentro do gene *ATXN7*, codificante para a proteína conhecida como ataxina-7 [David, 1998], com 892 aminoácidos [Ilg, 2014]. A poliQ na ataxina-7 leva a inclusões nucleares e à degeneração seletiva de neurônios e de fotorreceptores. Estudos iniciais da CAGn do gene *ATXN7* indicaram que indivíduos normais possuem repetições entre 7 e 34 CAGs e que expansões além de 37 CAGs (as CAGexp) produzem o fenótipo da doença SCA7 [David, 1997; Garden, 2008]. CAGexp entre 37 e >460 já foram documentadas em pacientes com SCA7 [David, 1997; Garden, 2008] e há forte correlação inversa entre idade de surgimento dos primeiros sintomas e comprimento do CAGexp, ou seja, longas repetições tendem a se associar a idades de início mais precoces [Johansson, 1998; David, 1998; Gu, 2000; Guan, 2010]. No Brasil, na coorte de 30 sujeitos sintomáticos e colecionada pelo nosso grupo até 2013, o índice de correlação entre idade de início e CAGexp foi de 0,8 [de Castilhos, 2014].

A SCA7 é considerada uma das mais raras SCAs, com uma prevalência mundial menor do que 1: 100.000 indivíduos [Velázquez-Pérez, 2015]. No Brasil, parece ser a terceira SCA mais comum e ser mais comum no Rio de Janeiro do que no Rio Grande do Sul [de Castilhos, 2014].

1.II.2.a Início dos sintomas na SCA7

O início dos sintomas da SCA 7 dá-se por volta dos 32.74 ± 17.87 anos (média \pm desvio padrão) [Velázquez-Pérez, 2015], variando da primeira infância (com curso acelerado

e morte prematura) à quinta ou, ocasionalmente, sexta década (com degeneração retiniana e ataxia cerebelar lentamente progressivas) [Shakkottai, 2013].

Na infância, a ataxia pode não ser óbvia; perda de massa muscular, fraqueza e hipotonia são comuns [Aleman, 2002]. Os bebês com doença grave e expansões de mais de 180 repetições CAG tem hipotonia neonatal, atraso no desenvolvimento, disfagia, insuficiência cardíaca congestiva, atrofia cerebral e cerebelar e doença retiniana [David, 1997]. Naqueles com doença de início infantil, a degeneração cerebelar e do tronco encefálico é tão rápida que degeneração da retina e queixa de perda de visão pode não ser evidente. Nosso grupo recentemente descreveu uma criança afetada com início dos sintomas aos 12 meses [Donis, 2015]

O tamanho do CAGexp parece estar relacionado não somente à idade de início, mas também à gravidade do quadro [Velázquez-Pérez, 2015]. Quando sintomas iniciais ocorrem antes ou durante a adolescência, cegueira pela degeneração retiniana pode ocorrer dentro de poucos anos, podendo os portadores tornarem-se cegos dentro de uma década ou menos [Garden, 2008]. Em adultos, a ataxia cerebelar progressiva (dismetria, disdiadococinesia e incoordenação) pode preceder, mas usualmente segue, o início dos sintomas visuais [Garden, 2008].

1.II.2.b Manifestações neurológicas

As primeiras e principais manifestações neurológicas são as devidas à incoordenação do movimento: dismetria, disdiadococinesia, ataxia de marcha e disartria. A idade de início das manifestações neurológicas é inversamente proporcional ao tamanho do CAGexp, com um $r = -0.837$ [Velázquez-Pérez, 2015]. Apesar da taxa de progressão variar, o resultado final é disartria grave, disfagia e estado de acamado com perda do controle motor.

Reflexos tendíneos vivos e espasticidade se tornam evidentes com o progresso da doença e afetam virtualmente todos os afetados [Velázquez-Pérez, 2015]. Os movimentos sacádicos oculares se tornam marcadamente lentos.

Declínio cognitivo e psicose foram relatados [Johansson, 1998]. A testagem neuropsiquiátrica de alguns indivíduos com SCA 7 revelou déficits seletivos na cognição social [David, 1998].

Muito pouco ainda se sabe sobre a progressão da doença. Até onde sabemos, apenas dois estudos de história natural da SCA7 foram até o momento publicados [Tezenas

du Montcel, 2012; Horton, 2013]; o tamanho dessas coortes dá ideia da raridade dessa condição. No primeiro, dez pacientes SCA7 foram incluídos em um estudo prospectivo de 24 meses sobre SCAs, realizado em sete centros franceses. A progressão das manifestações atáxicas foi medida pela Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) [Schmitz-Hübsch, 2006] e pelo Composite Cerebellar Functional Score (CCFS) [Tezenas du Montcel, 2008]. O estudo não especificou quantos sujeitos SCA7 terminaram as observações. A SARA progrediu em média $1,6 \pm 0,4$ pontos por ano, enquanto os escores CCFS foram praticamente estáveis no período (média [EP], $+0.009$ [0.013] por ano; $P = 0,46$). No segundo, oito sujeitos sintomáticos pertencentes a uma mesma família foram acompanhados pela escala BARS durante 10 anos consecutivos; dados métricos sobre a progressão não foram informados [Horton, 2013].

1.II.2.c Manifestações oftalmológicas na SCA7

A maior parte dos estudos sobre manifestações oftalmológicas na SCA7 são relatos de caso com amostras pequenas e em geral limitadas a uma única família [Aleman, 2002; Abe, 2000; Thurtell, 2009; Miller, 2009; Watkins, 2013]. Recentemente, um estudo relatou as manifestações neurológicas e oftalmológicas de 50 afetados, provenientes de oito famílias mexicanas [Velázquez-Pérez, 2015]. Alterações oculares podem ser relacionadas à ataxia dos movimentos extraoculares (diplopia, estrabismo, movimentos sacádicos): de fato, sacadas lentas foram identificadas em virtualmente todos os afetados, enquanto oftalmoplegia foi um achado predominante em pacientes com início antes dos 18 anos. No entanto, o que diferencia a SCA 7 das demais SCAs são as alterações retinianas e estas não foram estudadas nesta grande série de casos. As alterações retinianas da SCA7 são compatíveis com uma distrofia de cones e bastonetes: disfunção maior no centro e periferia do que na média periferia [Aleman, 2002; Hugosson, 2009], sendo evidenciada ao eletrorretinograma (ERG) multifocal e *full-field* [David, 1998; Guan, 2010; Thurtell, 2009; Morrow, 1999; Manrique, 2009; Katagiri, 2015], e pela baixa acuidade visual [Ilg, 2014; Abe, 2000; Thurtell, 2009; Miller, 2009; Watkins, 2013; Morrow, 1999; Manrique, 2009; Martin, 1999]. A mácula costuma ter aparência granular grosseira [Aleman, 2002; David, 1998; Abe, 2000; Miller, 2009; Morrow, 1999; Katagiri, 2015], mas outras alterações já foram descritas (maculopatia em alvo, atrofia peripapilar e atenuação arteriolar), assim como alterações à tomografia de coerência óptica (OCT) [Watkins, 2013; Manrique, 2009; Ahn, 2005; Hugosson, 2009]. Pode haver alteração na discriminação de cores (eixo tritan) [Thurtell, 2009; Watkins, 2013; Morrow, 1999; Martin, 1999].

A cegueira parcial ou cegueira total para cores, detectada pelo teste de Ishihara, foi mais comum entre pacientes com início na vida adulta, enquanto a cegueira total afetou 85% dos sujeitos com início antes dos 18 anos [Velázquez-Pérez, 2015].

Dois estudos demonstraram alterações no segmento anterior do olho (baixa contagem endotelial e aumento da espessura corneana) [Miller, 2009; Campos-Romo, 2017]. Um estudo recente relatou associação entre os resultados do eletrorretinograma (ERG) e a gravidade da ataxia medida pela Brief Ataxia Rating Scale (BARS), mas não apresentou uma análise métrica ou estatística sobre esses dados [Horton, 2013]; ainda assim, seus autores propuseram que o ERG fosse candidato a biomarcador do início da doença.

Embora os presentes relatos de caso pareçam sugerir que não haja correlação importante entre os achados oftalmológicos e as manifestações neurológicas ou a duração da doença, a ausência de estudos sistemáticos entre os dois comprometimentos impede uma definição clara sobre o tema [Yin, 2007].

2. JUSTIFICATIVA

O envolvimento de múltiplas estruturas oculares na SCA 7 está associado a graves incapacidades de caráter progressivo nos afetados por essa condição. No entanto, há uma escassez ou mesmo uma ausência de estudos na literatura que avaliem essas alterações em portadores assintomáticos e que as comparem com as características neurológicas e moleculares: a maior parte dos estudos atuais sobre manifestações oftalmológicas na SCA 7 são apenas descritivos e com pequeno número de indivíduos sintomáticos.

Por isso, nosso estudo se justifica. Ele descreve os achados obtidos de forma transversal e subsidia estudos subsequentes, como os de história natural, de associação e até mesmo ensaios clínicos

3. OBJETIVOS

I. Objetivo primário

Descrever e comparar as alterações oftalmológicas e neurológicas encontradas numa coorte de casos sintomáticos SCA 7 e em seus familiares portadores assintomáticos e não portadores.

II. Objetivos secundários

Comparar os sujeitos sintomáticos portadores de SCA 7 e seus familiares portadores assintomáticos e não portadores nos seguintes itens:

- a acuidade visual e os campos visuais
- a movimentação ocular
- a pressão ocular
- aspectos anatômicos através da biomicroscopia, retinografia e, de forma ainda mais precisa, do OCT
- a qualidade de vida relacionada à visão
- correlacionar as variáveis anteriores com as manifestações neurológicas, medidas por escalas clínicas, com a idade de início da doença e com a gravidade da mutação

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Shakkottai VG1, Fogel BL. Clinical neurogenetics: autosomal dominant spinocerebellar ataxia. *Neurol Clin.* 2013 Nov;31(4):987-1007. doi: 10.1016/j.ncl.2013.04.006. Epub 2013 Jul 30. PMID: 24176420
2. Donis KC1, Mattos EP2, Silva AA3, Furtado GV2, Saraiva-Pereira ML4, Jardim LB5, Saute JA6. Infantile spinocerebellar ataxia type 7: Case report and a review of the literature. *J Neurol Sci.* 2015 Jul 15;354(1-2):118-21. doi: 10.1016/j.jns.2015.04.040. Epub 2015 May 5.
3. Aleman TS, Cideciyan A V, Volpe NJ, Stevanin G, Brice A, Jacobson SG. Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) shows a cone-rod dystrophy phenotype. *Exp Eye Res.* 2002;74(6):737-745. doi:S0014483502911693 [pii].
4. David G, Giunti P, Abbas N, Coullin P, Stevanin G, Horta W, Gemmill R, Weissenbach J, Wood N, Cunha S, Drabkin H, Harding AE, Agid Y, Brice A. The gene for autosomal dominant cerebellar ataxia type II is located in a 5-cM region in 3p12-p13: genetic and physical mapping of the SCA7 locus. *Am J Hum Genet.* 1996 Dec;59(6):1328-36.
5. Ilg W, Bastian AJ, Boesch S, Burciu RG, Celnik P, Claaßen J, Feil K, Kalla R, Miyai I, Nachbauer W, Schöls L, Strupp M, Synofzik M, Teufel J, Timmann D. Consensus paper: management of degenerative cerebellar disorders. *Cerebellum.* 2014 Apr;13(2):248-68. doi: 10.1007/s12311-013-0531-6.
6. Johansson J, Forsgren L, Sandgren O, Brice A, Holmgren G, Holmberg M. Expanded CAG repeats in Swedish spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) patients: effect of CAG repeat length on the clinical manifestation. *Hum Mol Genet.* 1998 Feb;7(2):171-6.
7. Gu W, Wang Y, Liu X, Zhou B, Zhou Y, Wang G. Molecular and clinical study of spinocerebellar ataxia type 7 in Chinese kindreds. *Arch Neurol.* 2000;57(10):1513-1518. doi:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2012.12.006.
8. Guan Y, Han Y, Deng B, Liu M, Jiang J, Wu S. Clinical and genetic study of a Chinese family with spinocerebellar ataxia type 7. *Neurol India.* 2010;58(4):622. doi:10.4103/0028-3886.68674.
9. 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 Neurogenetica. *Cerebellum.* 2014 Feb;13(1):17-28

10. Velázquez-Pérez L1, Cerecedo-Zapata CM, Hernández-Hernández O, Martínez-Cruz E, Tapia-Guerrero YS, González-Piña R, Salas-Vargas J, Rodríguez-Labrada R, Gurrola-Betancourth R, Leyva-García N, Cisneros B, Magaña JJ. A comprehensive clinical and genetic study of a large Mexican population with spinocerebellar ataxia type 7. *Neurogenetics*. 2015 Jan;16(1):11-21. doi: 10.1007/s10048-014-0424-y. Epub 2014 Oct 16.
11. David G, Abbas N, Stevanin G, et al. Cloning of the SCA7 gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. *Nat Genet*. 1997;17(1):65-70. doi:10.1038/ng0997-65.
12. Garden G. Spinocerebellar ataxia type 7. [updated 2012 Dec 20] , GeneReviews[online]; Aug 27 1998 [Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1256>. Accessed: January 12, 2015].
13. Tezenas du Montcel S1, Charles P, Goizet C, Marelli C, Ribai P, Vincitorio C, Anheim M, Guyant-Maréchal L, Le Bayon A, Vandenberghe N, Tchikviladzé M, Devos D, Le Ber I, N'Guyen K, Cazeneuve C, Tallaksen C, Brice A, Durr A. Factors influencing disease progression in autosomal dominant cerebellar ataxia and spastic paraplegia. *Arch Neurol*. 2012 Apr;69(4):500-8. doi: 10.1001/archneurol.2011.2713.
14. Horton LC1, Frosch MP, Vangel MG, Weigel-DiFranco C, Berson EL, Schmahmann JD. Spinocerebellar ataxia type 7: clinical course, phenotype-genotype correlations, and neuropathology. *Cerebellum*. 2013 Apr;12(2):176-93. doi: 10.1007/s12311-012-0412-4
15. 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 Jun 13;66(11):1717-20.
16. du Montcel ST, Charles P, Ribai P, Goizet C, Le Bayon A, Labauge P, Guyant-Maréchal L, Forlani S, Jauffret C, Vandenberghe N, N'guyen K, Le Ber I, Devos D, Vincitorio CM, Manto MU, Tison F, Hannequin D, Ruberg M, Brice A, Durr A. Composite cerebellar functional severity score: validation of a quantitative score of cerebellar impairment. *Brain*. 2008 May;131(Pt 5):1352-61.
17. Abe T, Tsuda T, Yoshida M, Wada Y, Kano T, Itoyama Y, Tamai M. *Arch Ophthalmol*. 2000 Oct;118(10):1415-21. Macular degeneration associated with aberrant expansion of trinucleotide repeat of the SCA7 gene in 2 Japanese families
18. Thurtell MJ, Fraser JA, Bala E, et al. Two patients with spinocerebellar ataxia type 7 presenting with profound binocular visual loss yet minimal ophthalmoscopic findings. *J Neuroophthalmol*. 2009;29(3):187-191. doi:10.1097/WNO.0b013e3181b41764.

19. Miller RC, Tewari A, Miller JA, Garbern J, Van Stavern GP. Neuro-ophthalmologic features of spinocerebellar ataxia type 7. *J Neuroophthalmol*. 2009;29(3):180-186. doi:10.1097/WNO.0b013e3181b1b3f8.
20. Watkins WM, Schoenberger SD, Lavin P, Agarwal A. Circumscribed outer foveolar defects in spinocerebellar ataxia type 7. *Retin Cases Brief Rep*. 2013;7(3):294-296.
21. Hugosson T, Gränse L, Ponjavic V, Andréasson S. Macular dysfunction and morphology in spinocerebellar ataxia type 7 (SCA 7). *Ophthalmic Genet*. 2009 Mar;30(1):1-6. doi: 10.1080/13816810802454081. PMID: 19172503
22. Morrow MJ, Zinn AB, Tucker T, Leigh RJ. Maculopathy in spinocerebellar ataxia type 7. *Neurology*. 1999;53(0028-3878):244.
23. Manrique RK, Noval S, Aguilar-Amat MJ, Arpa J, Rosa I, Contreras I. Ophthalmic features of spinocerebellar ataxia type 7. *J Neuroophthalmol*. 2009 Sep;29(3):174-9. doi: 10.1097/WNO.0b013e3181b2828e.
24. Katagiri S, Hayashi T, Takeuchi T, et al. Somatic instability of expanded CAG repeats of ATXN7 in Japanese patients with spinocerebellar ataxia type 7. *Doc Ophthalmol*. 2015;130(3):189-195. doi:10.1007/s10633-015-9488-8.
25. Martin J, Van Regemorter N, Del-Favero J, Löfgren a, Van Broeckhoven C. Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) - correlations between phenotype and genotype in one large Belgian family. *J Neurol Sci*. 1999;168(1):37-46. doi:S0022510X99001768 [pii].
26. Ahn JK, Seo JM, Chung H, Yu HG. Anatomical and functional characteristics in atrophic maculopathy associated with spinocerebellar ataxia type 7. *Am J Ophthalmol*. 2005 May;139(5):923-5. PMID: 15860307
27. Campos-Romo A, Graue-Hernandez EO, Pedro-Aguilar L, Hernandez-Camarena JC, Rivera-De la Parra D, Galvez V, Diaz R, Jimenez-Corona A, Fernandez-Ruiz J. Ophthalmic features of spinocerebellar ataxia type 7. *Eye (Lond)*. 2017 Aug 11. doi: 10.1038/eye.2017.135. [Epub ahead of print] PMID: 28799562
28. Yin XZ, Zhang BR, Wu DW, Tian J, Zhang H. The clinical features and gene mutation analysis in a pedigree of spinocerebellar ataxia type 7. *Yi Chuan*. 2007;29(6):688-692. doi:0253-9772(2007)06-688-05 [pii].
29. David G, Giunti P, Abbas N, Coullin P, Stevanin G, Horta W, Gemmill R, Weissenbach J, Wood N, Cunha S, Drabkin H, Harding AE, Agid Y, Brice A. The gene for autosomal dominant cerebellar ataxia type II is located in a 5-cM region in 3p12-p13: genetic and physical mapping of the SCA7 locus. *Am J Hum Genet*. 1996 Dec;59(6):1328-36.

30. Giunti P, Stevanin G, Worth PF, David G, Brice A, Wood NW. Molecular and clinical study of 18 families with ADCA type II: evidence for genetic heterogeneity and de novo mutation. *Am J Hum Genet.* 1999 Jun;64(6):1594-603
31. Bryer A1, Krause A, Bill P, Davids V, Bryant D, Butler J, Heckmann J, Ramesar R, Greenberg J. The hereditary adult-onset ataxias in South Africa. *J Neurol Sci.* 2003 Dec 15; Inaba H1, Yabe I, Yashima M, Soma H, Nakamura Y, Houzen H, Sasaki H. Unusual retinal phenotypes in an SCA7 family. *Intern Med.* 2009;48(16):1461-4. Epub 2009 Aug 17
32. de Castilhos RM1, 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 Neurogenetica. Spinocerebellar ataxias in Brazil--frequencies and modulating effects of related genes. *Cerebellum.* 2014 Feb;13(1):17-28.
33. Ramachandran PS, Bhattarai S, Singh P, Boudreau RL, Thompson S, Laspada AR, Drack AV, Davidson BL. RNA interference-based therapy for spinocerebellar ataxia type 7 retinal degeneration. *PLoS One.* 2014 Apr 23;9(4):e95362.
34. Scholefield J, Watson L, Smith D, Greenberg J, Wood MJ. Allele-specific silencing of mutant Ataxin-7 in SCA7 patient-derived fibroblasts. *Eur J Hum Genet.* 2014 Dec;22(12):1369-75. doi: 10.1038/ejhg.2014.39. Epub 2014 Mar 26.
35. Benton CS, de Silva R, Rutledge SL, Bohlega S, Ashizawa T, Zoghbi HY (1998) Molecular and clinical studies in SCA-7 define a broad clinical spectrum and the infantile phenotype. *Neurology* 51:1081–1086
36. Simão LM, Lana-Peixoto MA, Araújo CR, Moreira MA, Teixeira AL. The Brazilian version of the 25-Item National Eye Institute Visual Function Questionnaire: translation, reliability and validity. *Arq Bras Oftalmol.* 2008 Jul-Aug;71(4):540-6.
37. Farnsworth D. The Farnsworth Dichotomous Test for Color Blindness – Panel D-15. New York: Psychological Corporation, 1947
38. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting-out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16(3):1215.
39. Jin DK, Oh MR, Song SM, Koh SW, Lee M, Kim GM, Lee WY, Chung CS, Lee KH, Im JH, Lee MJ, Kim JW, Lee MS (1999). Frequency of spinocerebellar ataxia types 1,2,3,6,7 and dentatorubral pallidoluysian atrophy mutations in Korean patients with spinocerebellar ataxia. *J Neurol* 246:207-210.
40. Schöls L, Amoiridis G, Buttner T, Przuntek H, Epplen JT, Riess O (1997). Autosomal dominant cerebellar ataxia: phenotypic differences in genetically defined subtypes? *Neurology* 42:924-932.

41. du Montcel ST, Charles P, Ribai P, Goizet C, Le Bayon A, Labauge P, Guyant-Maréchal L, Forlani S, Jauffret C, Vandenberghe N, N'guyen K, Le Ber I, Devos D, Vincitorio CM, Manto MU, Tison F, Hannequin D, Ruberg M, Brice A, Durr A. Composite cerebellar functional severity score: validation of a quantitative score of cerebellar impairment. *Brain*. 2008 May;131(Pt 5):1352-61.
42. 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
43. Klein R, Klein BE, Moss SE, DeMets D. Inter-observer variation in refraction and visual acuity measurement using a standardized protocol. *Ophthalmology*. 1983 Nov;90(11):1357-9.
44. Schmitz-Hübsch T, Coudert M, Bauer P, Giunti P, Globas C, Baliko L, Filla A, Mariotti C, Rakowicz M, Charles P, Ribai P, Szymanski S, Infante J, van de Warrenburg BP, Dürr A, Timmann D, Boesch S, Fancellu R, Rola R, Depondt C, Schöls L, Zdienicka E, Kang JS, Döhlinger S, Kremer B, Stephenson DA, Melegh B, Pandolfo M, di Donato S, du Montcel ST, Klockgether T. Spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, and 6: disease severity and nonataxia symptoms. *Neurology*. 2008 Sep 23;71(13):982-9.
45. Jardim LB, Silveira I, Pereira ML, Ferro A, Alonso I, do Céu Moreira M, Mendonça P, Ferreirinha F, Sequeiros J, Giugliani R. A survey of spinocerebellar ataxia in South Brazil - 66 new cases with Machado-Joseph disease, SCA7, SCA8, or unidentified disease-causing mutations. *J Neurol*. 2001 Oct;248(10):870-6.
46. Schuler-Faccini L, Osorio CM, Romariz F, Paneque M, Sequeiros J, Jardim LB. Genetic counseling and presymptomatic testing programs for Machado-Joseph Disease: lessons from Brazil and Portugal. *Genet Mol Biol*. 2014 Mar;37(1 Suppl):263-70.
47. García-Velázquez LE1, Canizales-Quinteros S, Romero-Hidalgo S, Ochoa-Morales A, Martínez-Ruano L, Márquez-Luna C, Acuña-Alonzo V, Villarreal-Molina MT, Alonso-Vilatela ME, Yescas-Gómez P. Founder effect and ancestral origin of the spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) mutation in Mexican families. *Neurogenetics*. 2014 Mar;15(1):13-7. doi: 10.1007/s10048-013-0387-4. Epub 2013 Dec 28.

5. ARTIGO

Ophthalmological and neurological manifestations of presymptomatic and symptomatic carriers of spinocerebellar ataxia type 7

Pietro Baptista Azevedo 1,2, Anastácia Guimarães Rocha 3, Leda Maria Neumann Keim 4, Daniel Lavinsky 2, Gabriel Vasata Furtado 5,10 Eduardo Preusser Mattos 5,10, Fernando Regla Vargas 4,6, Daniel Lavinsky 2,3, Maria Luiza Saraiva Pereira 5,7,9,10, Laura Bannach Jardim 1,3,5,8,9,10, on behalf of Rede Neurogenetica.

1 Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil

2 Serviço de Oftalmologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil

3 Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil

4 Hospital Gaffrée e Guinle, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brazil

5 Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil

6 Laboratório de Epidemiologia de Malformações Congênitas, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil

7 Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil

8 Departamento de Medicina Interna, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil

9 Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil

10 Laboratório de Investigação Genética, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil

Abstract

Background: spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) is an autosomal dominant neurodegenerative disorder caused by a CAG repeat expansion of *ATXN7* gene, resulting in an elongated polyglutamine (polyQ) tract. In consequence, SCA7 patients develop ataxia, spasticity and other neurological symptoms. SCA 7 stands out from other SCAs for having retinal dystrophy, causing visual impairments that can lead to blindness. **Objective:** to

describe and compare the neurological and ophthalmological findings in a cohort of SCA 7 symptomatic and presymptomatic cases older than 18 years. **Methods:** after consent, participants were evaluated by ataxia (SARA, CCFS, PATA and 8-MW) and neurological scores (NESSCA and INAS); a visual quality of life questionnaire (NEI-VFQ 25); evaluation of best corrected visual acuity (BCVA), median deviation in computerized perimetry (MD) and macular and ganglion cell layer thicknesses in optical coherence tomography (OCT). Molecular analysis of the *ATXN7* was done blindly; at risk individuals interested in receiving their results were sent to pre-symptomatic testing program. **Results:** Between June 2016 and September 2017, 12 symptomatic carriers (group 2) and 8 at risk individuals (5 carriers - group 1 - and 3 non-carriers - group 0) accepted and were enrolled in this study. BCVA was decreased in all symptomatics participants and clearly different between these and the others ($p < 0,0001$); the mean BCVA was 20/143, 20/18 and 20/20 in groups 2,1 and 0, respectively. NEI-VFQ 25 was progressively different among the three groups (group 0= 92.76 ± 6.7 ; group 1= 74.9 ± 55.5 ; group 2= 58.0 ± 21.3) ($p = 0.012$). MD showed a statistically significant linear pattern to get worse from the control group (-1.34 ± 1.15 dB) to the asymptomatic ($-2.81 \pm 1,66$ dB), and from the asymptomatic to the symptomatic groups (-10.54 ± 6.95 dB) ($p = 0.027$). Besides, MD correlated with BCVA ($p = 0.020$; $r = 0.660$), and showed a trend to correlate with SARA ($p = 0.073$; $r = -0.535$). Macular thickness scores completely distinguish the three groups (group 0= $243.6 \pm 22.2 \mu$; group 1= $204.5 \pm 14.1 \mu$; group 2= $137.95 \pm 34.6 \mu$) ($p = 0.0001$) and also was significantly correlated with both planned criteria of severity, SARA ($p = 0.050$; $r = -0.577$) and BCVA ($p = 0.007$; $r = 0.730$). **Conclusion:** NEI-VFQ 25, perimetry (MD), macular thickness and nerve fibers layer thickness, were altered in a progressive manner since the preclinical period in SCA7, getting worse during symptomatic stages of disease. Besides detecting alterations in preclinical stages, macular thickness and MD correlated to planned standards of disease severity, SARA and/or BCVA. Hence, we suggest that macular thickness and MD are good candidates for state biomarkers of SCA7.

I. Introduction

Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) is an autosomal dominant neurodegenerative disorder caused by a CAG repeat expansion (from 37 to 460 repeats or more) in the coding region of *ATXN7* gene [David, 1996; Garden, 2012], resulting in an elongated polyglutamine (polyQ) tract in the ataxin-7 protein. As in other polyQ diseases, there is an inverse correlation between age at onset (OA) and the length of the expanded CAG repeat (CAGexp) at *ATXN7*; the CAGexp is unstable upon cellular divisions, especially during meiosis. Mutant ataxin-7 accumulates in neurons and forms insoluble neuronal intranuclear inclusions (NIIs), a

hallmark of SCA7 and other polyQ disorders. Nlls are associated to selective cell degeneration, especially affecting Purkinje cells in the cerebellum and photoreceptors in the retina [Benton, 1998]. As a result, SCA7 patients develop ataxia, spasticity, dysphagia, dysarthria and visual impairments that can lead to blindness. Without a modifying disease therapy, the disorder usually starts in adulthood and is related to a reduced survival.

SCA7 is one of the less frequent CAG trinucleotide repeat ataxias worldwide - SCA1, 2, 3, 6, 7, 17, dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA) -, representing less than 6% of all SCAs in several populations [Garden, 2012; de Castilhos, 2014; Jin, 1999; Schols, 1997]. On one side, SCA7 has been related to severe anticipation phenomena, which would prevent the transmission of expanded alleles to next generations [Donis, 2015]; on the other side, *de novo* mutations have been documented and would explain the persistence of this condition in populations [Stevanin, 1998; Bauer, 2004; Mittal, 2005]. In any case, one important effect of the low SCA7 prevalence is the rarity of large case series and cohorts published in the literature. Only two cross-sectional studies reported more than 45 symptomatic subjects [Giunti, 1999; Velázquez-Pérez, 2015]; other two cohort studies described longitudinal results about 10 to 13 symptomatic carriers [Tezenas du Montcel, 2012; Horton, 2013]. None of these studies looked for characteristics of the pre-clinical stages of the disease, neither covered SCA7 ophthalmological manifestations in depth. Indeed, visual acuity, perimetry, biomicroscopy of the anterior segment and fundus, tomographic macular and electroretinographic analyses have been described in small case series that might have missed the chance of identifying these variables as potential surrogate markers for future trials.

Formerly, we had the opportunity to report on 3 and later on 30 SCA7 symptomatic carriers from Brazil [Jardim, 2001; de Castilhos, 2014]. Now our aim was to characterize the neurologic and ophthalmologic manifestations of SCA7 in presymptomatic and symptomatic carriers living in two large Brazilian cities, in an exploratory, cross-sectional study, in order to raise preliminary suggestions about potential biomarkers of disease state.

II. Methods

Symptomatic SCA7 individuals with a molecular diagnosis performed at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, as well as their at 50% risk relatives older than 18 years, were invited to participate. At risk relatives who were not prior tested agreed to not receive molecular results associated to the present study; those who decided to perform the pre-symptomatic testing (PST) were referred to the PST program of our institutions. The study was performed

between June 2016 and September 2017 in research centers and outpatient clinics of University hospitals of Porto Alegre, Rio Grande do Sul state, and Rio de Janeiro, Rio de Janeiro state, Brazil.

Informed consent was obtained from each participant. This study was approved by the Ethics Committees (EC) from Hospital de Clínicas de Porto Alegre and from Hospital Gafrée e Guinle (UNIRIO), being registered at Plataforma Brasil as CAAE 52703516.8.0000.5327.

II.1 Clinical and Neurologic evaluations

After consent, age at onset (AO) of gait ataxia and age at onset of visual losses of the symptomatic individuals as well as age, gender and other demographic information of all participants were obtained. The Brazilian version of National Eye Institute Visual Functioning Questionnaire (NEI-VFQ 25) [Simão, 2008] was answered by themselves or with the help of the researchers, if the subject needed assistance. Decreasing NEI-VFQ 25 describe worsening in the quality of life related to vision.

An investigator trained in the scales (AGR) applied the following clinical scales in the study participants: Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) [Schmitz-Hübsch, 2006], Composite-Cerebellar-Functional-Score (CCFS) [Tezenas du Montcel, 2008], the Inventory of Non-Ataxia Symptoms (INAS) [Schmitz-Hübsch, 2008], and the Neurological Examination Score for Spinocerebellar Ataxias (NESSCA) [Kieling, 2008]. As well established, increasing in NESSCA, SARA and CCFS scores describe worsening of symptoms.

II.2 Ophthalmologic evaluations

Ophthalmological evaluations were applied by a trained ophthalmologist (PBA) up to 30 days after neurological examinations.

Best corrected visual acuity (central vision) (BCVA) was measured according to the parameters of Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) [Klein, 1983], and results were expressed in logarithm of the minimal angle of resolution (logMAR) for analysis. Farnsworth-Munsell D-15 test [Farnsworth, 1947] was performed to get information about color vision, and categorical results were obtained. Visual fields were obtained by computer perimetry (Humphrey Field Analyzer 745, Carl Zeiss Medtech Inc, Dublin, EUA). Losses were described as a mean deviation (MD) which is created from the total deviation (which is the difference between the measured threshold for each retinal point tested and the age-corrected normal) by adjusting it an amount equal to an average of the 17 worst test points.

This helps eliminate “background noise,” such as the generalized depression of a cataract. Negative numbers represent loss of visual fields.

Pupillary reflexes were clinically evaluated, whereas abnormalities of fixation, smooth pursuit and saccades were registered at INAS specific items.

The evaluation of anterior segment included slit-lamp biomicroscopy and corneal thickness by Ultrasound pachymetry (OcuScan RxP; Alcon Laboratories, Inc., Fort Worth, TX, USA).

Intraocular pressure (IOP) was measured by the applanation tonometers of Goldmann AT900 or Perkins MK2, both from Haag Streit AGIP. Results up to 21 mmHg were considered normal [Colton, 1980].

Retina was examined with fundus slit-lamp biomicroscopy, clinical pictures and optical coherence tomography (OCT). Macular thickness as well as retinal layers structure were done with a spectral domain-OCT (Cirrus HD-OCT, Carl Zeiss Medtech Inc, Dublin, EUA) in Rio de Janeiro-RJ participants and swept source-OCT (DRI OCT Triton plus, Topcon inc.,) in Porto Alegre-RS participants, and compared to normal controls given by the manufacturers. Categorical results as well as measures of macula and nerve fiber layers were also obtained.

II.3 Molecular analyses

Genomic DNA was obtained from peripheral blood sample by the salting out method [Miller, 1998]. Region of interest of the *ATXN7* gene was amplified using gene-specific primers flanking the repeat tract, being one of them fluorescent-labeled. Following amplification, PCR products were separated on an ABI3130xl Genetic Analyzer. In addition, all cases were also analyzed by a modified approach of the repeat primed-PCR (TP-PCR) methodology, aiming to detect longer expanded alleles. Capillary electrophoresis was also applied in order to resolve amplified fragments.

II.4 Analyses

All investigators but the PIs (MLSP and LBJ) were kept blind to molecular results obtained from subjects at 50% risk. LBJ added them to the database at the end of the study duration, and turned all data pseudonymous. Three groups were therefore obtained: related controls (non-carriers, group 0), asymptomatic (group 1) and symptomatic carriers of *ATXN7* expansions (group 2).

All quantitative variables but CAG repeats at *ATXN7*, intraocular pressures and corneal thickness presented normal distributions on one-sample Kolmogorov-Smirnov test. Group characteristics were compared with unpaired student t-test or chi-square test. Correlations were performed with Pearson correlation test or Spearman rho followed by linear regression model when required.

Since SARA has been shown to significantly change after after 12 months in SCA7 symptomatic carriers - the scores worsened 1.6 (0.4) points per year ($p < 0.001$) [Tezenas du Montcel, 2012] -, this clinical scale was chosen as the gold-standard variable of disease severity. As visual impairment measurement was one of the main targets of the present study, we have also arbitrated that BCVA would be the other standard criterion of SCA7 severity to be compared to the other instruments under study.

This study was exploratory and, although a $p < 0.05$ was chosen to support the assumptions made, controlling for multiple testings was not performed.

III. Results

From 2001 to 2017, 10 families were diagnosed as segregating SCA7 in Rio Grande do Sul and Rio de Janeiro states; since one of these pedigrees was represented by only one at risk subject living in the Northeast part of the country, our recruitments included subjects from nine families. By 2017, 15 symptomatic and 29 subjects at 50% risk were identified from these nine families by telephone calls as living individuals, and were invited to participate in this study. Three symptomatic carriers were bedridden and unable to come to the study centers due to transport difficulties. Twelve symptomatic carriers and eight at risk individuals agreed to participate and were enrolled in this study.

Table 1 summarizes the general characteristics of the three groups, while **Table 2** describes the neurological findings on symptomatic carriers. As expected, asymptomatic carriers tended to be younger than the other groups and to carry shorter CAGexp than those carried by the symptomatic group. Neurologic scales NESSCA, SARA and INAS count were able to separate all symptomatic from asymptomatic carriers; however, none of them was able to distinguish asymptomatic carriers from related controls (**Table 3**).

In contrast, several scores obtained from ophthalmologic observations showed results progressively worse from the control group to the asymptomatic, and from the asymptomatic to the symptomatic groups (**Table 4** and **Figure 2A to 2D**): NEI-VFQ 25, mean deviation on

perimetry, macular thickness and nerve fibers layer thickness (both by OCT). Macular thickness scores were completely different between groups (**Table 4** and **Figure 2C**).

CAGexp correlated to AO in the present cohort ($r = -0.678$, $p = 0.031$).

III.1 Visual acuity, color vision evaluation, perimetry and ocular motility

Besides the 3 bedridden subjects (who were not included in this study), four participants were not able to perform all ophthalmologic tests.

BCVA was decreased in all symptomatic participants (group 2) and clearly different between these and the others ($p < 0.0001$) (**Table 4**); the mean BCVA was 20/143 (LogMAR -0,85), 20/18 (LogMAR 0,04) and 20/20 (LogMAR 0) in groups 2,1 and 0, respectively.

Keeping this finding in mind, it is not surprising that NEI-VFQ 25 has also demonstrated a statistically significant difference. However, a progressively different way among those the 3 groups (group 0= 92.76 ± 6.7 ; group 1= 74.9 ± 55.5 ; group 2= 58.0 ± 21.3) ($p = 0.012$) was an unexpected finding (**Table 4** and **Figure 2A**).

All symptomatic carriers had some degree of color vision impairment at Farnsworth-Munsell D-15 test (9/12) or did not perform the test due poor vision acuity (3/12). Just one asymptomatic subject had showed changes at the same evaluation.

Two subjects did not accomplish perimetry because they were unable to remain positioned for the minimum time required. Mean deviation (MD) showed a statistically significant linear pattern to get worse from the control group (-1.34 ± 1.15 dB) to the asymptomatic ($-2.81 \pm 1,66$ dB), and from the asymptomatic to the symptomatic groups (-10.54 ± 6.95 dB) ($p = 0.027$). Besides, MD correlated with BCVA ($p = 0.020$; $r = 0.660$) (**Table 4** and **Figure 2B**) and showed a trend to correlate with SARA ($p = 0.073$; $r = -0.535$) (**Table 5** and **Figure 4D**).

Among the 12 symptomatic CAGexp at *ATXN7* carriers, 10 were able of perform eye movements tests. Slow saccades was the most prevalent eye movement disorder (6/10) followed by gazed-evoked nystagmus (5/10) and ophthalmoparesis (3/10) (**Table 2**). Slow saccadic eye movement was distributed similarly between patients with early- and adult-onset disease, while ophthalmoplegia was clearly a predominant feature of the patients with early onset.

III.2 Biomicroscopy of the anterior segment and pachymetry

Due to reduced mobility, 2 subjects were unable to perform slit-lamp biomicroscopy and 1 was unable to perform the US pachymetry. None of the participants presented clinical corneal edema and corneal thickness did not differ among groups (group 0= 490 ± 56 ; group 1= 508 ± 32 ; group 2= 521 ± 46) (**Table 4**). Two participants presented palpebral ptosis and one presented palpebral vitiligo. Another subject presented paralytic mydriasis. One subject was pseudophakic while the remaining subjects did not have clinically significant cataract.

III.3 Fundoscopic examination

On fundoscopic examination, maculopathy was noted in all symptomatic cases with variable degrees of severity and in none of the asymptomatic ones. The most common finding was: macular granular appearance. One subject showed retinitis pigmentosa-like findings (waxy pallor of the head of optic nerve and bone spicules in mid-periphery retina), none of the others had optic nerve alterations.

III.4 Tomographic analysis

Three subjects were unable to perform the OCT examination. Macular OCT analysis demonstrated that all 9 symptomatic cases had some degree of foveal thinning. The mean macular thickness and nerve fibers layer thickness were in a progressive manner statistically different among groups (**Table 4** and **Figure 2C-D**).

Median nerve fibers layer thickness was $79.3 \pm 10.4\mu\text{m}$ (range 63-91.5) in symptomatic cases, $91 \pm 22.6\mu\text{m}$ (range 75-107 μm) in asymptomatic carriers and $100.7 \pm 11.8\mu\text{m}$ (range 84.5-113 μm) in controls ($p= 0.037$) (**Table 4** and **Figure 2D**).

Macular thickness scores completely distinguish symptomatic subjects ($137.95 \pm 34.6\mu$) from presymptomatic carriers ($204.5 \pm 14.1\mu$) as well as presymptomatic carriers from controls ($243.6 \pm 22.2\mu$) ($p= 0.0001$) (**Table 4** and **Figure 2C**). Macular thickness was significantly correlated with both planned criteria of severity, SARA ($p= 0.050$; $r= -0.577$) (**Table 5** and **Figure 4C**) and BCVA ($p= 0.007$; $r= 0.730$) (**Table 6** and **Figure 5C**).

III.5 Associations between the diverse scales in use with independent variables related to disease severity, and with gold-standard variables of disease severity SARA and visual acuity (BCVA)

Neurologic and ophthalmologic scores were then compared to age, disease duration since the first symptom, and CAGexp, either by correlation and by comparison between groups stratified by median of age (41 years), disease duration (10 years) or CAGexp (44 CAGexp). These comparisons disclosed that NEI-VFQ 25 was associated with age and with DD (**Figure 4**).

The gold-standard of disease severity SARA was correlated with NESSCA and INAS count (**Table 5** and **Figures 4A** and **B**) as well as with macular thickness (**Figure 4C**). Perimetry MD showed a trend to correlate with it (**Figure 4D**).

Visual acuity as measured by BCVA (average between both eyes) was also correlated to some parameters under investigation: INAS count, perimetry MD and macular thickness; and showed a trend to be associated to NESSCA and NEI-VFQ 25 (**Table 6** and **Figures 5A** to **E**).

IV. Discussion

The present cross-sectional study raised evidences that NEI-VFQ 25, perimetry (mean deviation), macular thickness and nerve fibers layer thickness were progressively altered since preclinical period in SCA7, worsening during symptomatic stages of disease. At the same time, during preclinical period, all clinical scales scores related to neurologic manifestations were normal. Early visual fields and fovea losses suggested that the pathological process was already in course, even prior symptoms in carriers. Both parameters correlated with SARA scores, suggesting that they might be good candidates as disease state biomarkers.

Although three presymptomatic SCA7 carriers had been mentioned in a former study [Horton, 2013], to the best of our knowledge, this was the first comprehensive description of neurologic scales and ophthalmological findings in preclinical stages of disease, again in three subjects. In fact, although at least 29 subjects at 50% risk were alive at the time of the present report in the cities where the study was conducted, eight agreed to participate. Therefore the number of asymptomatic carriers - three - was in agreement with a priori expectation related to our recruitment success.

Neurologic characteristics observed in present symptomatic carriers were in agreement with literature [David, 1996; Giunti, 1999; Bryer, 2003; Inaba, 2009; Thurtell, 2009; Horton, 2013; de Castilhos, 2014; Velázquez-Pérez, 2015]. As expected, spasticity and eye movement disorders were particularly frequent. Visual losses seem to prevent ocular movement exam at later stages of disease (Table 2).

SARA has been the most used clinical scale in SCA7, followed by CCFS and the Brief Ataxia Rating Scale (BARS) [Tezenas du Montcel, 2012; Horton, 2013; Velázquez-Pérez, 2015; Campos-Romo, 2017]. In a twelve months period, CCFS did not change in SCA7 while SARA scores worsened significantly - or 1.6 (0.4) points per year ($p < 0.001$) [Tezenas du Montcel, 2012] -, meaning that this score is not only valid for SCA7 but showed responsiveness to disease progression. However, SARA measures only ataxic manifestations, whereas SCA7 shows a broader burden spectrum, the most important being visual loss. Therefore non-ataxic as well as ophthalmologic instruments to measure disease progression are required for future longitudinal studies and trials. Even with a limited sample size, our results showed that NESSCA and INAS count, but not CCFS, have external validation criteria to be used in SCA7. However, and as expected, none of them distinguished pre-symptomatic from control subjects.

Evaluations of visual acuity, including color vision, visual fields, and of the posterior segment of the eye, were good candidate biomarkers of SCA7 disease progression, not only due to their quantitative characteristics but mostly due to their clinical significance for the disease.

Visual impairment due to macular deterioration has been studied in different ways in some case series, varying from two to 23 symptomatic carriers [David, 1996; Abe, 2000; Aleman, 2002; Bryer, 2003; Ahn, 2004; Manrique, 2009; Inaba, 2009; Hugosson, 2009; Thurtell, 2009; Campos-Romo, 2017]. We assessed visual impairment by the mean deviation (MD) on computerized perimetry and as a logarithm of the minimal angle of resolution on best corrected visual acuity in ETDRS chart. Symptomatic subjects showed dramatically different results from controls, while presymptomatic carriers did not (**Table x3**).

Mean deviation (MD) on visual fields as measured by computer perimetry showed promising characteristics. First, MD showed a linear pattern to get worse from the control group to the asymptomatic, and from the asymptomatic to the symptomatic groups (**Table x3** and **Figure 2B**). MD correlated with BCVA, and showed a trend to correlate with SARA. Therefore, MD is a good candidate to stage biomarker to be tested in a longitudinal observation.

Retinal abnormalities might be anatomically studied by retinographies and OCT. Retinal function is better evaluated by electroretinogram (ERG). Although altered ERG have been

documented in SCA7 and was already proposed as a biomarker of this disease [Aleman, 2002; Ahn, 2004; Thurtell, 2009; Inaba, 2009; Hugosson, 2009; Horton, 2013; Campos-Romo, 2017], ERG was not included in the present study. OCT has been used in case reports and case series and showed macular thinning as a common feature in SCA7 [Aleman, 2002; Ahn, 2005; Manrique, 2009; Hugosson, 2009; Campos-Romo, 2017]; retinal nerve fiber layer thinning was less frequently described [Manrique, 2009]. We were able to detect that both macular and nerve fibers layer thickness were altered in symptomatic and presymptomatic SCA7 carriers in a progressive manner; in special, macular thickness scores were able to completely distinguish pre-symptomatic carriers from controls and from symptomatic subjects (**Table x3** and **Figure 2C**). Finally, macular thickness was significantly correlated with both planned criteria of severity, SARA and BCVA. Although the number of preclinical subjects under study was limited and prevent any conclusive statement, our results suggest that macular thickness is a good candidate biomarker and should be followed in a longitudinal manner.

Anterior segment analyses did not show alterations in the present cohort as well as intraocular pressures. For instance, endothelial cell density of cornea by specular microscopy has been measured in SCA7, either with normal results [Abe, 2000] or with reduced densities [Manrique, 2009; Campos-Romo, 2017], but we did not performed this exam at the present study.

Preclinical studies pointed that mutant ataxin-7 silencing and other gene therapy approaches were successful in reducing retinal degeneration [Ramachandran, 2014; Scholefield, 2014]. Clinical trials are expected in a near future. Knowledge about progression rate not only of ataxia but also of retinal degeneration in SCA7 is therefore imperative. Since vision and retina are very accessible to clinical observations, it is not surprising that visual field and OCT studies showed altered results on pre-clinical stages. Hopefully these quantitative variables can present metric characteristics of stage biomarkers in a future longitudinal observation. Several questions deserve further analyses - for instance, if rate of progression of retinal and cerebellar deteriorations are similar or not, or why disease starts sometimes with visual loss, sometimes with gait ataxia. In our study, for instance, macular thinning correlated with SARA - maybe retina and cerebellar dysfunctions have similar progression rates -, but it was present before SARA abnormalities started - suggesting that OCT was more sensitive to subclinical disease process than clinical scores.

Finally, NEI-VFQ 25 presented some of the most interesting results of the present exploration. As a quality of life score related to vision, NEI-VFQ 25 is closer to a clinically meaningful endpoint than other parameters under study. However, NEI-VFQ 25 was tightly

related to age, suggesting that further observations on psychometric characteristics are essential for this questionnaire.

Our study was limited mainly by the sample size. SCA7 literature showed a great amount of small case series, mainly when the topic is eye examination. The best solution to circumvent this handicap is to build a SCA7 register or to help future meta-analysis so that studies with power to detect reasonable effect sizes can be done.

We conclude that scales covering extra-cerebellar manifestations such as NESSCA and INAS are valid to be tested longitudinally in SCA7 carriers. However, the best candidates for state biomarkers of this disease, raised by the present research, were macular thickness as measured by OCT, and mean deviation as measured by computerized perimetry. Both detected alterations in pre-clinical stages and both were correlated to our gold standards of disease severity, SARA or BCVA.

V. References

1. David G, Giunti P, Abbas N, Coullin P, Stevanin G, Horta W, Gemmill R, Weissenbach J, Wood N, Cunha S, Drabkin H, Harding AE, Agid Y, Brice A. The gene for autosomal dominant cerebellar ataxia type II is located in a 5-cM region in 3p12-p13: genetic and physical mapping of the SCA7 locus. *Am J Hum Genet.* 1996 Dec;59(6):1328-36.
2. Garden G. Spinocerebellar ataxia type 7. [updated 2012 Dec 20], GeneReviews[online]; Aug 27 1998 [Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1256>. Accessed: January 12, 2015].
3. Benton CS, de Silva R, Rutledge SL, Bohlega S, Ashizawa T, Zoghbi HY (1998) Molecular and clinical studies in SCA-7 define a broad clinical spectrum and the infantile phenotype. *Neurology* 51:1081–1086
4. 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 Neurogenetica. *Cerebellum.* 2014 Feb;13(1):17-28
5. Jin DK, Oh MR, Song SM, Koh SW, Lee M, Kim GM, Lee WY, Chung CS, Lee KH, Im JH, Lee MJ, Kim JW, Lee MS (1999). Frequency of spinocerebellar ataxia types 1,2,3,6,7 and dentatorubral pallidoluysian atrophy mutations in Korean patients with spinocerebellar ataxia. *J Neurol* 246:207-210.

6. Schöls L, Amoiridis G, Buttner T, Przuntek H, Epplen JT, Riess O (1997). Autosomal dominant cerebellar ataxia: phenotypic differences in genetically defined subtypes? *Neurology* 42:924-932.
7. Donis KC¹, Mattos EP², Silva AA³, Furtado GV², Saraiva-Pereira ML⁴, Jardim LB⁵, Saute JA⁶. Infantile spinocerebellar ataxia type 7: Case report and a review of the literature. *J Neurol Sci.* 2015 Jul 15;354(1-2):118-21. doi: 10.1016/j.jns.2015.04.040. Epub 2015 May 5.
8. Stevanin G¹, Giunti P, Belal GD, Dürr A, Ruberg M, Wood N, Brice A. De novo expansion of intermediate alleles in spinocerebellar ataxia 7. *Hum Mol Genet.* 1998 Oct;7(11):1809-13.
9. Bauer P, Kraus J, Matoska V, Brouckova M, Zumrova A, Goetz P. Large de novo expansion of CAG repeats in patient with sporadic spinocerebellar ataxia type 7. *J Neurol.* 2004 Aug;251(8):1023-4.
10. Mittal U, Roy S, Jain S, Srivastava AK, Mukerji M. Post-zygotic de novo trinucleotide repeat expansion at spinocerebellar ataxia type 7 locus: evidence from an Indian family. *J Hum Genet.* 2005;50(3):155-7. Epub 2005 Mar 5.
11. Giunti P, Stevanin G, Worth PF, David G, Brice A, Wood NW. Molecular and clinical study of 18 families with ADCA type II: evidence for genetic heterogeneity and de novo mutation. *Am J Hum Genet.* 1999 Jun;64(6):1594-603.
12. Velázquez-Pérez L¹, Cerecedo-Zapata CM, Hernández-Hernández O, Martínez-Cruz E, Tapia-Guerrero YS, González-Piña R, Salas-Vargas J, Rodríguez-Labrada R, Gurrola-Betancourth R, Leyva-García N, Cisneros B, Magaña JJ. A comprehensive clinical and genetic study of a large Mexican population with spinocerebellar ataxia type 7. *Neurogenetics.* 2015 Jan;16(1):11-21. doi: 10.1007/s10048-014-0424-y. Epub 2014 Oct 16.
13. Tezenas du Montcel S¹, Charles P, Goizet C, Marelli C, Ribai P, Vincitorio C, Anheim M, Guyant-Maréchal L, Le Bayon A, Vandenberghe N, Tchikviladzé M, Devos D, Le Ber I, N'Guyen K, Cazeneuve C, Tallaksen C, Brice A, Dürr A. Factors influencing disease progression in autosomal dominant cerebellar ataxia and spastic paraplegia. *Arch Neurol.* 2012 Apr;69(4):500-8. doi: 10.1001/archneurol.2011.2713.
14. Horton LC¹, Frosch MP, Vangel MG, Weigel-DiFranco C, Berson EL, Schmahmann JD. Spinocerebellar ataxia type 7: clinical course, phenotype-genotype correlations, and neuropathology. *Cerebellum.* 2013 Apr;12(2):176-93. doi: 10.1007/s12311-012-0412-4.
15. Jardim LB, Silveira I, Pereira ML, Ferro A, Alonso I, do Céu Moreira M, Mendonça P, Ferreirinha F, Sequeiros J, Giugliani R. A survey of spinocerebellar ataxia in South

- Brazil - 66 new cases with Machado-Joseph disease, SCA7, SCA8, or unidentified disease-causing mutations. *J Neurol*. 2001 Oct;248(10):870-6.
16. Simão LM, Lana-Peixoto MA, Araújo CR, Moreira MA, Teixeira AL. The Brazilian version of the 25-Item National Eye Institute Visual Function Questionnaire: translation, reliability and validity. *Arq Bras Oftalmol*. 2008 Jul-Aug;71(4):540-6.
 17. 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 Jun 13;66(11):1717-20.
 18. du Montcel ST, Charles P, Ribai P, Goizet C, Le Bayon A, Labauge P, Guyant-Maréchal L, Forlani S, Jauffret C, Vandenberghe N, N'guyen K, Le Ber I, Devos D, Vincitorio CM, Manto MU, Tison F, Hannequin D, Ruberg M, Brice A, Dürr A. Composite cerebellar functional severity score: validation of a quantitative score of cerebellar impairment. *Brain*. 2008 May;131(Pt 5):1352-61.
 19. Schmitz-Hübsch T, Coudert M, Bauer P, Giunti P, Globas C, Baliko L, Filla A, Mariotti C, Rakowicz M, Charles P, Ribai P, Szymanski S, Infante J, van de Warrenburg BP, Dürr A, Timmann D, Boesch S, Fancellu R, Rola R, Depondt C, Schöls L, Zdienicka E, Kang JS, Döhlinger S, Kremer B, Stephenson DA, Melegh B, Pandolfo M, di Donato S, du Montcel ST, Klockgether T. Spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, and 6: disease severity and nonataxia symptoms. *Neurology*. 2008 Sep 23;71(13):982-9.
 20. 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
 21. Klein R, Klein BE, Moss SE, DeMets D. Inter-observer variation in refraction and visual acuity measurement using a standardized protocol. *Ophthalmology*. 1983 Nov;90(11):1357-9.
 22. Farnsworth D. The Farnsworth Dichotomous Test for Color Blindness – Panel D-15. New York: Psychological Corporation, 1947
 23. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting-out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(3):1215.
 24. Bryer A1, Krause A, Bill P, Davids V, Bryant D, Butler J, Heckmann J, Ramesar R, Greenberg J. The hereditary adult-onset ataxias in South Africa. *J Neurol Sci*. 2003 Dec 15;216(1):47-54.
 25. Inaba H1, Yabe I, Yashima M, Soma H, Nakamura Y, Houzen H, Sasaki H. Unusual retinal phenotypes in an SCA7 family. *Intern Med*. 2009;48(16):1461-4. Epub 2009 Aug 17.

26. Thurtell MJ, Fraser JA, Bala E, et al. Two patients with spinocerebellar ataxia type 7 presenting with profound binocular visual loss yet minimal ophthalmoscopic findings. *J Neuroophthalmol.* 2009;29(3):187-191. doi:10.1097/WNO.0b013e3181b41764.
27. Campos-Romo A, Graue-Hernandez EO, Pedro-Aguilar L, Hernandez-Camarena JC, Rivera-De la Parra D, Galvez V, Diaz R, Jimenez-Corona A, Fernandez-Ruiz J. Ophthalmic features of spinocerebellar ataxia type 7. *Eye (Lond).* 2017 Aug 11. doi: 10.1038/eye.2017.135. [Epub ahead of print] PMID: 28799562
28. Abe T, Tsuda T, Yoshida M, Wada Y, Kano T, Itoyama Y, Tamai M. *Arch Ophthalmol.* 2000 Oct;118(10):1415-21. Macular degeneration associated with aberrant expansion of trinucleotide repeat of the SCA7 gene in 2 Japanese families.
29. Aleman TS, Cideciyan AV, Volpe NJ, Stevanin G, Brice A, Jacobson SG. Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) shows a cone-rod dystrophy phenotype. *Exp Eye Res.* 2002 Jun;74(6):737-45. PMID: 12126946
30. Ahn JK, Seo JM, Chung H, Yu HG. Anatomical and functional characteristics in atrophic maculopathy associated with spinocerebellar ataxia type 7. *Am J Ophthalmol.* 2005 May;139(5):923-5. PMID: 15860307
31. Manrique RK, Noval S, Aguilar-Amat MJ, Arpa J, Rosa I, Contreras I. Ophthalmic features of spinocerebellar ataxia type 7. *J Neuroophthalmol.* 2009 Sep;29(3):174-9. doi: 10.1097/WNO.0b013e3181b2828e. PMID: 19726937
32. Hugosson T, Gränse L, Ponjavic V, Andréasson S. Macular dysfunction and morphology in spinocerebellar ataxia type 7 (SCA 7). *Ophthalmic Genet.* 2009 Mar;30(1):1-6. doi: 10.1080/13816810802454081. PMID: 19172503
33. Ramachandran PS, Bhattarai S, Singh P, Boudreau RL, Thompson S, Laspada AR, Drack AV, Davidson BL. RNA interference-based therapy for spinocerebellar ataxia type 7 retinal degeneration. *PLoS One.* 2014 Apr 23;9(4):e95362. doi: 10.1371/journal.pone.0095362. eCollection 2014. PMID: 24759684
34. Scholefield J, Watson L, Smith D, Greenberg J, Wood MJ. Allele-specific silencing of mutant Ataxin-7 in SCA7 patient-derived fibroblasts. *Eur J Hum Genet.* 2014 Dec;22(12):1369-75. doi: 10.1038/ejhg.2014.39. Epub 2014 Mar 26. PMID: 24667781

VI. Acknowledgements

We are in debt to patients and families who participated in the present study.

This study was supported by HCPA-FIPE (GPPG 16-0093). EPM was supported by CAPES. MLSP and LBJ were supported by CNPq.

VII. List of Tables

Table 1 – General characteristics of the present cohort

Table 2 – Neurologic findings on 12 symptomatic CAGexp at ATXN7 carriers

Table 3 – Neurological scores results

Table 4 – Ophthalmological results

Table 5 – Comparisons between SARA scores and the other neurologic and ophthalmologic measurements of interest among all ATXN7 CAGexp carriers of the present study

Table 6 – Comparisons between visual acuity as measured by ETDRS (average between both eyes) and the other neurologic and ophthalmologic measurements of interest among all ATXN7 CAGexp carriers of the present study

VIII. List of Figures

Figure 2 – Ophthalmological characteristics of the three groups

Figure 3 – Correlation between NEI-VFQ 25 and age

Figure 4 – Neurological and ophthalmological characteristics correlated with SARA

Figure 5 – Neurological and ophthalmological characteristics correlated with BCVA

Table 1 – General characteristics of the present cohort

	Carriers of CAGexp at ATXN7		Controls (group 0)	<i>p</i>
	Symptomatic subjects (group 2)	Asymptomatic subjects (group 1)		
N (females)	12 (4)	3 (3)	5 (3)	
Age **	39.7 (16.2)	30.7 (9)	38 (12.9)	ns #
CAG repeat, short allele ***	10 (7-11)	10 (10-11)	10 (10-11)	
CAG repeat, large allele ***	44 (39-60)##	42 (39-42)##	10 (10-13)	ns##
Age at onset of first symptom **	28.6 (13.1) 9 to 42			
Disease duration **	9.5 (6.1) 1 to 21			

* ANOVA; ** m (sd) range; *** Median (range); # ANOVA; ## Kruskal-Wallis test.

Table 2 – Neurologic findings on 12 symptomatic CAGexp at ATXN7 carriers

	Number	%
Gait ataxia	11/12	91.7%
Pyramidal findings	11/12	91.7%
	Brisk reflexes	1/11
	Brisk reflexes plus spasticity and/or Babinski sign	10/11
Dysarthria	11/12	91.7%
Dysphagia	6/12	50%
Fasciculations	3/12	25%
Sensory losses	7/12	58.3 %
Dystonia	7/12	58.3%
Urinary urgency	5/12	41.7%
Cramps	5/12	41.7%
Vertigo	4/12	33.3%
Impaired visual acuity according to INAS	11/11	100%
Eye movement disorder		
	Slow saccades	6/10
	Saccadic interruptions on pursuit	0/10
	Gazed-evoked nystagmus	5/10
	Ophthalmoparesis	3/10

Table 3 – Neurological scores results

SARA **	18.87 (10.1) 0.5-39	1 (1.3) 0-2.5	0.9 (1) 0-2	0.001 *
CCFS **	1.14 (0.6) 0.13-2.50	0.94 (0.17) 0.82-1.14	0.93 (0.50) 0.33-1.72	ns
NESSCA **	15.25 (7.8) 1-28	1.3 (1.2) 0-2	2.2 (1.3) 1-4	0.001 *
INAScount **	5.17 (2.4) 0 to 8	0.33 (0.57) 0-1	0.4 (0.55) 0-1	0.0001 *

* média (desvio-padrão) variação; ** ANOVA

Table 4 – Ophthalmological results

NEI-VFQ 25 **	58.0 (21.27) 14.5-83.4	74.9 (22.5) 50.5-94.8	92.76 (6.7) 84.7-99.16)	0.012 *
BCVA ** (in LogMAR)	-0.86 (0.53) -1.3 to 0.12	0.04 (0.07) 0 to 0.12	0 (0) 0	0.0001 *
PIO, average of both eyes mmHg **	12.4 (3.1) 6-16	13 (1.4) 12-14	10.8 (1) 10-12	ns
Corneal thickness **	521 (46) 424-574	508 (32) 486-544	490 (56) 442-584	ns
perimetry MD **	-10.54 (6.95) -28 to -4.76	-2.81 (1,66) -4.47 to - 1.15	-1.34 (1.15) -2.9 to -0.39	0.027
OCT Macular thickness **	137.95 (34.6) 83-184	204.5 (14.1) 194.5-214.5	243.6 (22.2) 217-267	0.0001
OCT Nerve fibers layer thickness **	79.3 (10.4) 63-91.5	91 (22.6) 75-107	100.7 (11.8) 84.5-113	0.037

* média (desvio-padrão) variação; ** ANOVA

Table 5 – Comparisons between SARA scores and the other neurologic and ophthalmologic measurements of interest among all ATXN7 CAGexp carriers of the present study

	Pearson correlation with SARA scores, all 15 carriers	
	<i>r</i>	<i>p</i>
CCFS	-0.210	0.45
NESSCA	0.963	0.0001
INAScount	0.873	0.0001
NEI-VFQ 25	-0.309	0.283
BCVA	-0.358	0.19
Perimetry MD	-0.535	0.073
OCT Macular thickness	-0.577	0.05
OCT Nerve fibers layer thickness	-0.194	0.567

Table 6 – Comparisons between visual acuity as measured by ETDRS (average between both eyes) and the other neurologic and ophthalmologic measurements of interest among all ATXN7 CAGexp carriers of the present study

	Pearson correlation with ETDRS average scores, all 15 carriers	
	<i>r</i>	<i>p</i>
CCFS	-0.393	0.147
NESSCA	-0.444	0.098
INAScount	-0.624	0.013
NEI-VFQ 25	0.523	0.055
Perimetry MD	0.660	0.020
OCT Macular thickness	0.730	0.007
OCT Nerve fibers layer thickness	0.180	0.596

Figure 2 – Ophthalmological characteristics of the three groups

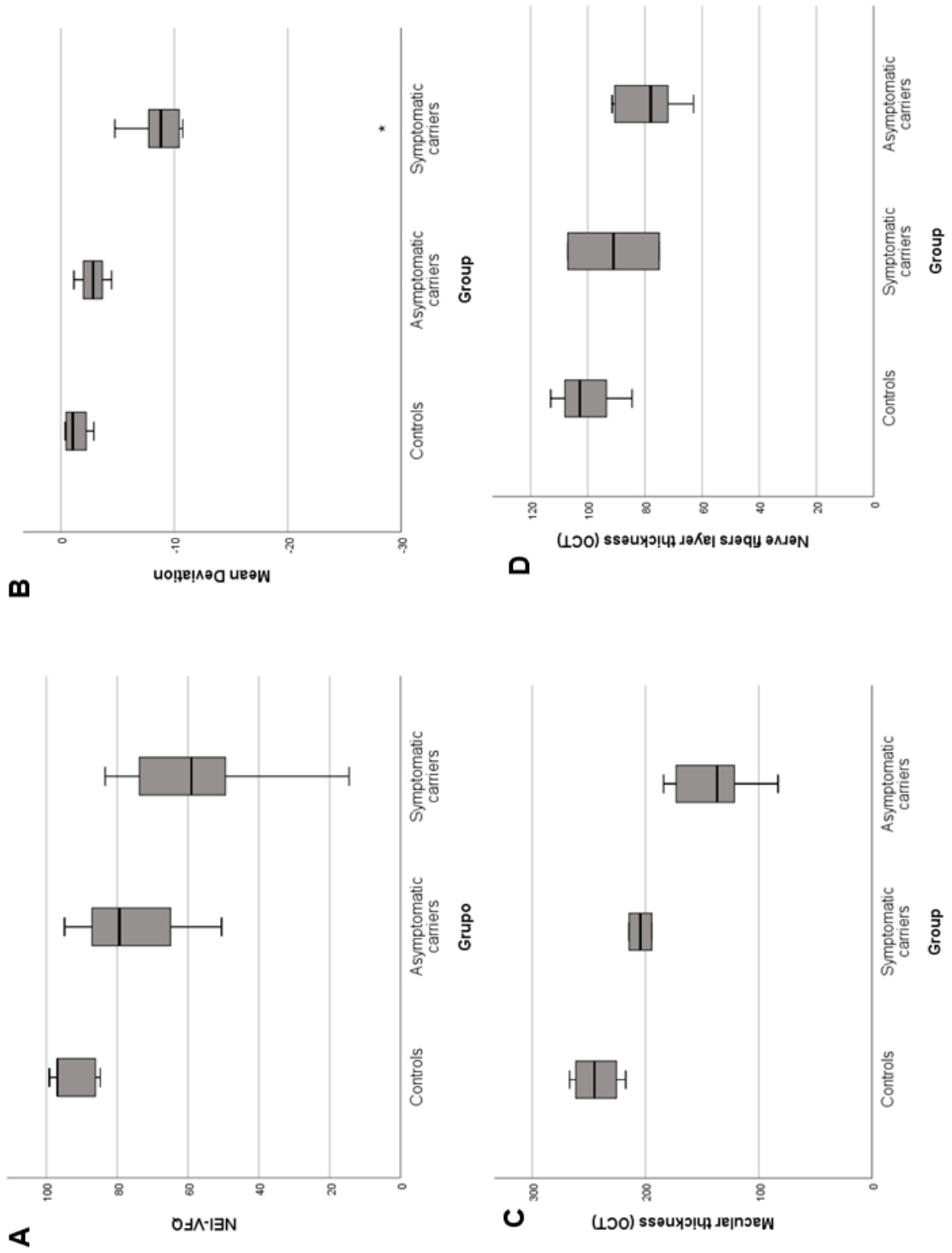


Figure 3 – Correlation between NEI-VFQ 25 and age

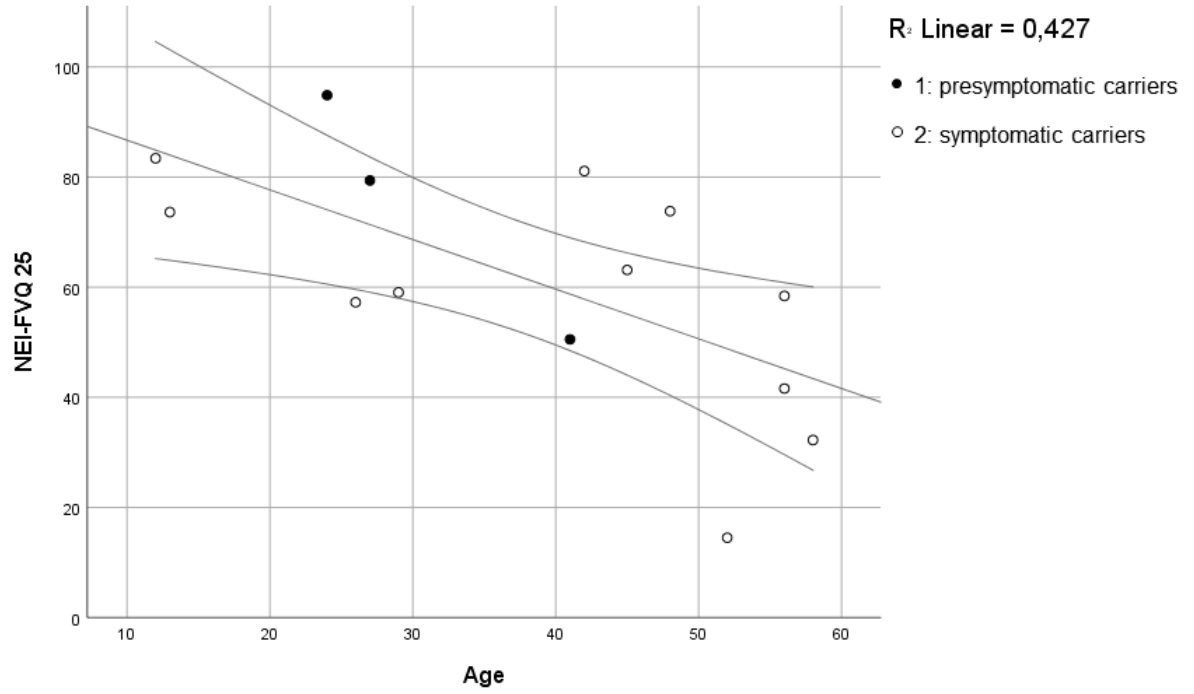


Figure 4 – Neurological and ophthalmological characteristics correlated with SARA

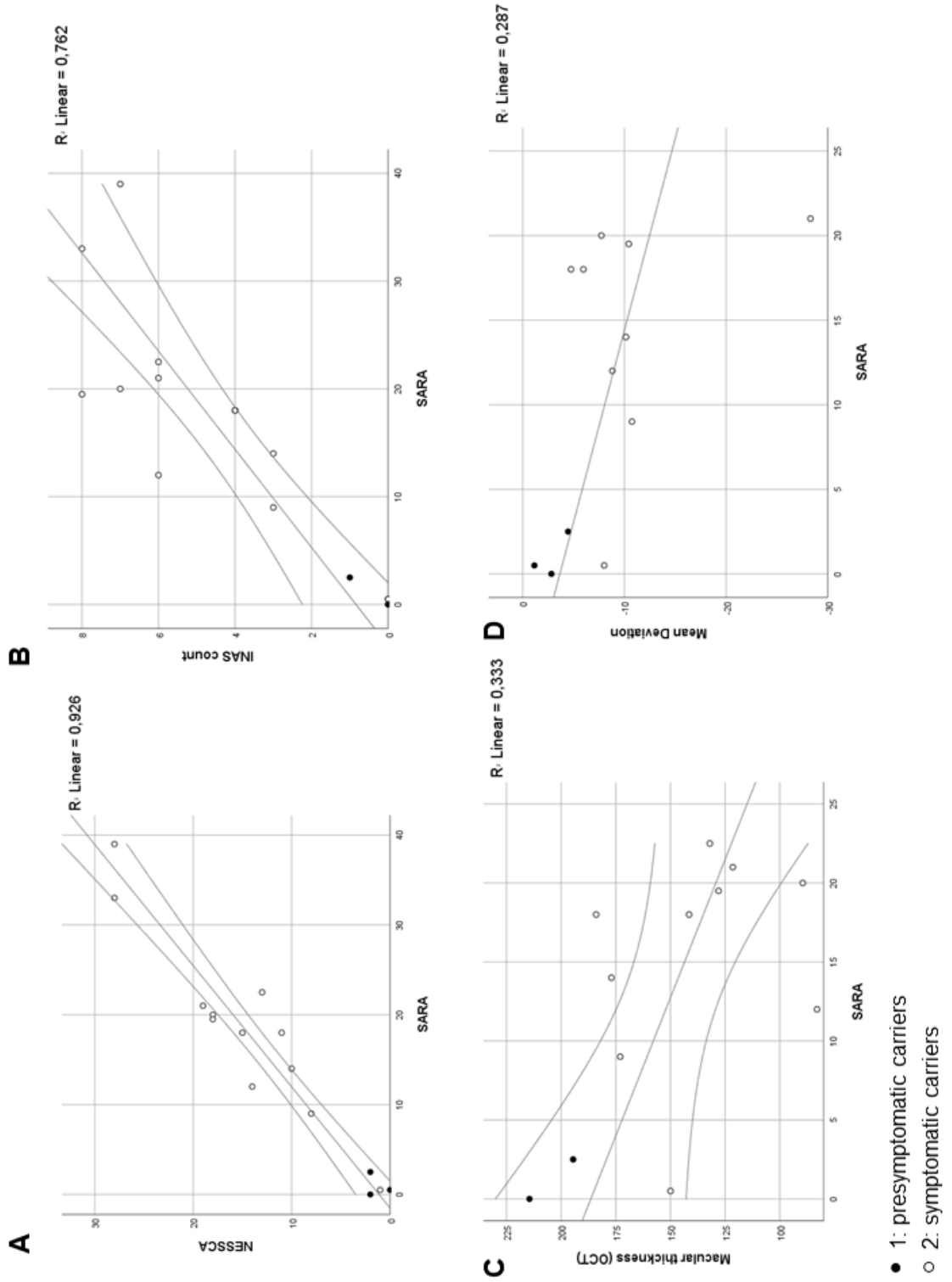
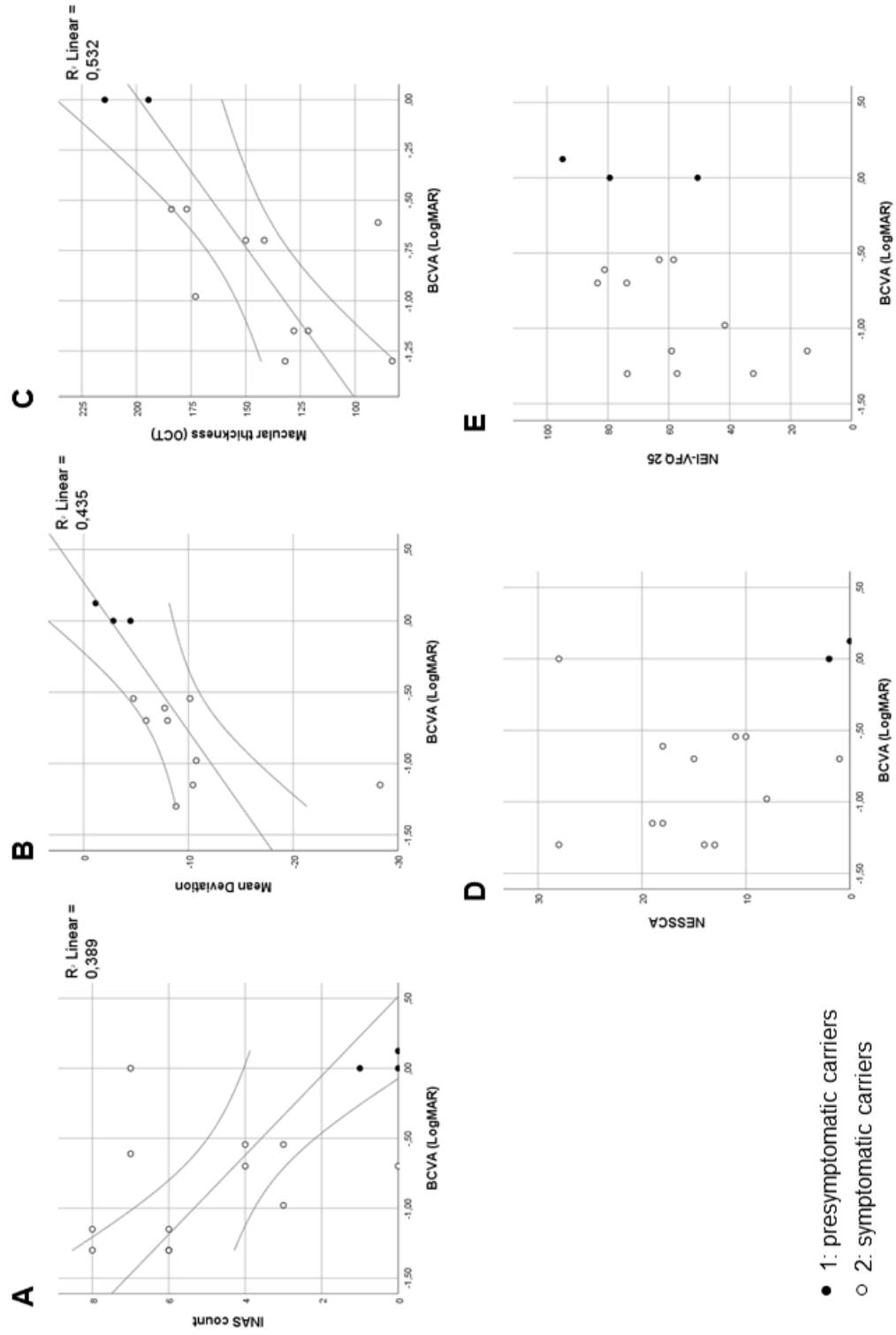


Figure 5 – Neurological and ophthalmological characteristics correlated with BCVA



6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como descrevemos na **Discussão** do artigo a ser submetido em periódico com circulação internacional (acima), o presente estudo transversal levantou evidências de que o NEI-VFQ 25, a campimetria computadorizada (MD), a espessura macular e da camada de fibras nervosas peripapilar no OCT estão alteradas de forma progressiva desde o período pré-clínico na SCA7, piorando durante as fases sintomáticas da doença. Ao mesmo tempo, durante o período pré-clínico, todas as escalas relacionadas às manifestações neurológicas mostraram pontuações normais. As perdas no campo de visão e foveais mostraram que o processo patológico já estava em curso antes que os portadores da mutação apresentassem qualquer sintoma. Ambos se correlacionaram com as pontuações na SARA, sugerindo que estes podem ser bons candidatos como biomarcadores do estado de doença.

Apesar de três portadores de SCA7 pré-sintomáticos terem sido mencionados em um estudo anterior [Horton, 2013], pelo melhor de nosso conhecimento, o nosso trabalho é a primeira descrição em profundidade de escalas neurológicas e achados oftalmológicos em fases pré-clínicas da doença, novamente em três indivíduos. Na verdade, embora pelo menos 29 em dos indivíduos em risco de 50% estivessem vivos no momento do presente relatório, nas cidades em estudo, oito concordaram em participar. Portanto, o número de transportadores assintomáticos - três - está de acordo com uma expectativa *a priori* relacionada ao sucesso do nosso recrutamento.

As características neurológicas observadas nos portadores sintomáticos presentes estavam de acordo com a literatura [David, 1996; Giunti, 1999; Bryer, 2003; Inaba, 2009; Thurtell, 2009; Horton, 2013; de Castilhos 2014; Velázquez-Pérez, 2015]. Como esperado, a espasticidade e os distúrbios do movimento dos olhos são particularmente frequentes.

A SARA tem sido a escala clínica mais usada na SCA7, seguida da CCFS e da Brief Ataxia Rating Scale (BARS) [Tezenas du Montcel, 2012; Horton, 2013; Velázquez-Pérez, 2015; Campos-Romo, 2017]. Em um período de doze meses, a CCFS não mudou em SCA7, enquanto as pontuações de SARA pioraram significativamente - ou 1,6 (0,4) pontos por ano ($p < 0,001$) [Tezenas du Montcel, 2012], o que significa que esse resultado não é apenas válido para SCA7, mas mostrou responsividade à progressão da doença. No entanto, o SARA mede apenas manifestações atáxicas, enquanto o SCA7 mostra um espectro de carga mais amplo, sendo a perda visual a mais importante. Portanto, instrumentos oftalmológicos e não-atáxicos são necessários para medir a progressão da doença em futuros estudos e ensaios longitudinais. Mesmo com um tamanho de amostra limitado, nossos resultados mostraram que NESSCA (Neurological Examination Score for Spinocerebellar Ataxia) e INAS (Inventory of Non-Ataxia Signs), mas não CCFS, possuem

critérios de validação externa para serem usados na SCA7. No entanto, e como esperado, nenhum deles distinguiu pré-sintomáticos dos sujeitos controle.

As avaliações da acuidade visual, incluindo a visão de cores, o campo visual e no segmento posterior do olho, foram bons biomarcadores candidatos da progressão da doença SCA7, não só devido às suas características quantitativas, mas principalmente por causa de seu significado clínico.

A deficiência visual devido à deterioração macular foi estudada de diferentes maneiras, em séries de casos variando de dois a 23 portadores sintomáticos [David, 1996; Abe, 2000; Aleman, 2002; Bryer, 2003; Ahn, 2004; Manrique, 2009; Inaba, 2009; Hugosson, 2009; Thurtell, 2009; Campos-Romo, 2017]. Avaliamos a deficiência visual pelo desvio médio (MD) na campimetria computadorizada e como logaritmo do ângulo mínimo de resolução sobre acuidade visual melhor corrigida (AVMC) na tabela ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study). Os indivíduos sintomáticos mostraram resultados dramaticamente diferentes dos controles, enquanto os portadores pré-sintomáticos não (Tabela 4).

O desvio médio (MD) na campimetria computadorizada mostrou características promissoras. Primeiro, o MD mostrou um padrão linear para pior do grupo controle para o assintomático e do grupo assintomático para o sintomático (Tabela 4 e Figura 2B). O MD correlacionou-se com o AVMC e mostrou uma tendência de se correlacionar com SARA. Portanto, o MD é um bom candidato a biomarcador a ser testado em uma observação longitudinal.

As anormalidades da retina podem ser anatomicamente estudadas por retinografia e OCT. A função da retina é melhor avaliada pelo eletrorretinograma (ERG). Embora ERG alterado tenha sido documentado em SCA7 e já foi proposto como um biomarcador desta doença [Aleman, 2002; Ahn, 2004; Thurtell, 2009; Inaba, 2009; Hugosson, 2009; Horton, 2013; Campos-Romo, 2017], o ERG não foi incluído no presente estudo. OCT tem sido usado em relatos e séries de casos e detectou que o afinamento macular é comum em SCA7 [Aleman, 2002; Ahn, 2005; Manrique, 2009; Hugosson, 2009; Campos-Romo, 2017]; O afinamento da camada de fibras nervosas da retina (CFN) foi menos frequentemente descrito [Manrique, 2009]. Conseguimos detectar tanto a mácula quanto a camada de fibras nervosas está alterada de forma progressiva em portadores de SCA 7 sintomáticos e pré-sintomáticos; em especial, os escores de espessura macular foram capazes de distinguir completamente os portadores pré-sintomáticos dos controles e de indivíduos sintomáticos (Tabela 4 e Figura 2C). Finalmente, a espessura macular foi significativamente correlacionada com os critérios planejados de gravidade, SARA e AVMC. Embora o número

de sujeitos pré-clínicos em estudo tenha sido bastante pequeno e evite qualquer afirmação conclusiva, nossos resultados sugerem que a espessura macular é um bom candidato a biomarcador e deve ser seguida longitudinalmente.

As análises do segmento anterior não mostraram alterações na coorte atual, bem como a pressão intraocular. Em estudos anteriores, a densidade de células endoteliais da córnea medida por microscopia especular foi aferida em pacientes SCA7, com resultados normais [Abe, 2000] ou com densidades reduzidas [Manrique, 2009; Campos-Romo, 2017], mas não realizamos este exame no presente estudo.

Estudos pré-clínicos apontaram que o silenciamento de ataxina-7 mutante e outras abordagens de terapia genética foram bem-sucedidas na redução da degeneração da retina [Ramachandran, 2014; Scholefield, 2014]. Ensaios clínicos são esperados num futuro próximo. O conhecimento sobre a taxa de progressão não só da ataxia, mas também da degeneração da retina no SCA7 é, portanto, imperativo. Uma vez que a visão e a retina são muito acessíveis às observações clínicas, não é uma surpresa que campimetria e os estudos de OCT tenham dado origem a resultados alterados nas fases pré-clínicas. Esperamos que essas variáveis quantitativas possam apresentar características métricas dos biomarcadores de estado em uma observação longitudinal futura. Várias questões merecem análises adicionais - por exemplo, se as velocidades de progressão das deteriorações da retina e cerebelar são semelhantes ou não, ou por que a doença começa às vezes com perda visual, às vezes com ataxia de marcha. Em nosso estudo, por exemplo, o afinamento macular correlacionou-se com SARA - talvez a retina e as disfunções cerebelares tenham taxas de progressão semelhantes -, mas estava presente antes que as anormalidades de SARA começassem - sugerindo que a OCT é mais sensível ao processo da doença subclínica do que os escores clínicos.

Finalmente, o NEI-VFQ 25 apresentou alguns dos resultados mais interessantes da presente pesquisa. Como um índice de qualidade de vida relacionado à visão, NEI-VFQ 25 está mais próximo de um desfecho clinicamente significativo do que os outros parâmetros em estudo. No entanto, o NEI-VFQ 25 estava fortemente relacionado à idade, sugerindo que outras observações sobre características psicométricas são necessárias para este questionário.

Mas nosso estudo foi principalmente limitado pelo tamanho da amostra. A literatura sobre SCA7 mostra uma abundância de pequenas séries de casos, principalmente quando o tópico é o exame ocular, e parece que a nossa descrição se junta à essa tendência de pequenos estudos. No item a seguir, apresentarei duas sugestões para superar esse *handicap* não só nosso, mas dos demais estudiosos da SCA7. Apesar de suas limitações,

nosso estudo teve vários méritos. Primeiro, fomos capazes de mostrar que as escalas que cobrem manifestações extracerebelares NESSCA e INAS são válidas para serem testadas longitudinalmente em portadores de SCA7. Como já dissemos antes, escalas desse tipo serão essenciais para documentar a progressão dos *handicaps* neurológicos, vários deles muito incapacitantes, em futuros ensaios clínicos da SCA7. Em segundo lugar, nossos resultados mais interessantes e originais foram os que apontaram para a espessura macular medida por OCT e o desvio médio, medido pela campimetria computadorizada, como sendo os melhores candidatos a biomarcadores de estado dessa doença. Ambas as alterações detectadas em fases pré-clínicas e ambas foram correlacionadas com nossos padrões ouro de gravidade da doença, SARA e AVMC.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como vimos, aumentar a amostra se faz necessário, mas, como citamos anteriormente, a SCA 7 é umas das ataxias hereditárias mais raras. Com isso, necessita-se um trabalho conjunto de vários centros de pesquisa para criar um registro SCA 7 ou para estudos multicêntricos. Outra forma seria a realização de meta-análises de estudos menores.

Como já enfatizamos, nosso estudo foi limitado pelo tamanho da amostra, mas essa limitação é compartilhada por praticamente todas as demais investigações semelhantes publicadas na literatura. Isso acontece porque a SCA7 é extremamente rara e estudos unicêntricos só poderão alcançar tamanhos amostrais com mais poder se tiverem a "sorte" de toparem com isolados geográficos que reúnam vários descendentes de um afetado por conta de um efeito fundador [Garcia-Velázquez, 2014], a exemplo do que acontece na província de Veracruz, no México. Entretanto, estudos de isolados correm o risco de não poderem ser universalmente aplicados, por envolverem apenas uma única grande família.

A melhor solução para contornar essa desvantagem é construir um registro SCA7, no qual os dados obtidos de diversos centros seriam agrupados. Consórcios internacionais têm sido construídos com essa finalidade para outras doenças, mas dependem de financiamentos globais e de reuniões entre pesquisadores para se determinarem as metas consensuais.

Enquanto tal consórcio não se constitui, nossa melhor contribuição será tornar disponível nosso banco de dados. Dessa forma, ajudaremos futuras metanálises para que estudos com poder para detectar tamanhos de efeito razoáveis possam ser feitos.

A segunda perspectiva é a de expandirmos nosso estudo transversalmente, para tentar incluir mais sujeitos, e longitudinalmente, para medirmos a progressão das variáveis em estudo ao longo do tempo. De fato, como é nossa intenção voltar a estudar os participantes desse estudo em intervalos de 12 meses, em seguida apresentaremos essa emenda ao projeto original. Com isso, talvez sejamos capazes de obter informações adicionais sobre a velocidade de progressão das escalas clínicas neurológicas e também do NEI-VFQ 25, da campimetria computadorizada (MD), da espessura macular e da camada de fibras nervosas peripapilar no OCT. A obtenção da impressão global dos pacientes sobre seu estado (o PGI) poderá ajudar a definir se alguma variável será responsiva às mudanças de percepção dos doentes. Quem sabe sejamos capazes de comparar a sensibilidade desses instrumentos entre si, através das médias padronizadas de resposta (os SRM). Toda essa expectativa deve ser, no entanto, criticamente coibida pelos nossos limites de tamanho amostral.

8. ANEXOS E/OU APÊNDICES

**Projeto: MANIFESTAÇÕES OFTALMOLÓGICAS NA ATAXIA ESPINOCEREBELAR TIPO 7
GPPG 16-0093**

FOLHA DE IDENTIFICAÇÃO				
Nome Completo:				
Família:	Data de nascimento:	Data		
	_ _ / _ _ / _ _ _ _	_ _ / _ _ / _ _ _ _		
HCPA Prontuário:	Idade atual:	<input type="checkbox"/> Sintomático <input type="checkbox"/> Em risco de 50%		
	_ _ _			
Se for sintomático, preencher:	Idade de início dos sintomas? _ _ _	Qual o primeiro sintoma?		
Idade de início da ataxia?	Duração da doença	CAGn do Paciente		
_ _ _ _	_ _ _	_ _ _ _ (Peq)/ _ _ _ _ (Gde)		
Nome da mãe				
Nome do pai				
Nome do responsável (se menor de 18 anos)				
Endereço 1 (Ponto de Ref.)		Fone Residencial ()		
		Fone Celular ()		
E-mail 1:		E-mail 2:		
Médico/estudante assistente	PBA	CO	AG	GB

Medicamentos de Uso Contínuo:

Nome do Fármaco	Dose	Posologia

FISIOTERAPIA? SIM NÃO FREQUENCIA SEMANAL: __X TEMPO DE INICIO: _ _ / _ _ _ _

FONOTERAPIA? SIM NÃO FREQUENCIA SEMANAL: __X TEMPO DE INICIO: _ _ / _ _ _ _

FICHA CLÍNICA - CONSULTA BASELINE
(Realizar Assinatura do TCLE)

Nome:

Data:

Assistente:

Após você realizará as escalas clínicas

- INAS
- NESSCA
- SARA
- 9-Hole Peg Board
 - Click Test
 - PATA rate
 - 8-MW

Peso:	Altura
-------	--------

Observação sobre o exame físico não contemplada nas escalas (descrever):

*******coletar amostra de sangue se indivíduo for um FAMILIAR EM RISCO**

FICHA OFTALMOLÓGICA - CONSULTA BASELINE

Nome:

Data:

Assistente:

		OD		OE	
topografia corneana	ver imagem?				
	OD				
	OE				
KER					
RED					
	EE				
AV	Decimal				
	LogMAR				
MEO					
Pupila	fotomotor				
	consensual				
Testes de cores	alterado?				
Bio	pálpebra e cílios				

	conjuntiva				
	córnea				
	endotélio				
	CA				
	íris				
	crystalino				
PIO		medida	corrigida	medida	corrigida
	pré				
	pós				
Paquimetria					
CV	fóvea				
	GHT				
	MD				
	PSD				
	descrição subjativa				
FO	papila				
	escavação				
	mácula				
	polo posterior				
	periferia				
OCT	espessura CFN				
	espessura macular				

	descrição subjativa		

Observações:

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nº do projeto CAAE 52703516.8.0000.5327

Título do Projeto: MANIFESTAÇÕES OFTALMOLÓGICAS NA ATAXIA ESPINOCEREBELAR TIPO 7

INFORMAÇÕES AOS INDIVÍDUOS **SINTOMÁTICOS** CONVIDADOS A PARTICIPAR DO ESTUDO

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é analisar as manifestações oftalmológicas na ataxia espinocerebelar tipo 7 (SCA7). Nossa intenção é compreender melhor essas manifestações e buscar a aquisição de conhecimento que possibilite uma medida de acompanhamento das mesmas, no tempo. Esta pesquisa está sendo realizada conjuntamente pelos serviços de Oftalmologia, Neurologia e Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você aceitar participar da pesquisa, os procedimentos envolvidos em sua participação são os seguintes: dois encontros para realizarmos uma entrevista clínica e dois exames físicos: o neurológico e o oftalmológico. No nosso primeiro encontro, faremos uma entrevista e um exame neurológico padronizado, feito com escalas clínicas. Essa consulta deverá durar por volta de uma hora.

Em até 30 dias dessa primeira avaliação, uma segunda consulta deverá ser feita para realizarmos o exame oftalmológico que consistirá da avaliação da sua acuidade visual para enxergar letras e cores e depois da aplicação de instrumentos e de luzes para medir a pressão intraocular, a transparência e o aspecto dos componentes do seu olho (como córnea, cristalino e retina). Com esses instrumentos, também obteremos uma fotografia da sua retina (retinografia) e faremos uma tomografia do seu olho, chamada de tomografia de coerência óptica (OCT). A consulta com essa entrevista e exame oftalmológico deverá durar por volta de uma hora e meia.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são relacionados ao eventual desconforto de uma entrevista, e à coleta de sangue e ao exame oftalmológico. A coleta de sangue pode se associar a: mal-estar passageiro, mancha roxa no local e cansaço. Você poderá ficar com a visão borrada por até 4 horas após o exame oftalmológico, pois o mesmo pode produzir perda de foco e intolerância à luz ambiental ou externa, além do desconforto de alguns minutos provocado pela luz do *flash* da retinografia.

Finalmente, há um pequeno risco de a dilatação da pupila produzir aumento da pressão intraocular. Para evitar essa complicação, você será liberado apenas depois de realizar uma segunda medida dessa pressão (chamada de tonometria), ao final de todos os exames. Se houver aumento da pressão, você receberá tratamento imediato e adequado.

A participação no estudo não trará benefício direto ou imediato para você. Mas a pesquisa poderá ajudar a entender melhor os mecanismos relacionados à doença, e com isso favorecer novas pesquisas para futuros tratamentos.

Rubrica do participante _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 1 de 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não autorizar a participação, ou ainda, retirar a autorização e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos, porém, poderá ser ressarcido por despesas decorrentes de sua participação, cujos custos serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o nome não aparecerá na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Laura Bannach Jardim, pelo telefone (51) 3359-8011, com o pesquisador Pietro Baptista de Azevedo, pelo telefone (51) 3359-8247 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 3359-7640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

Rubrica do participante _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 2 de 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - responsáveis

Nº do projeto CAAE 52703516.8.0000.5327

Título do Projeto: **MANIFESTAÇÕES OFTALMOLÓGICAS NA ATAXIA ESPINOCEREBELAR TIPO 7**

INFORMAÇÕES AOS RESPONSÁVEIS DE INDIVÍDUOS **SINTOMÁTICOS**
CONVIDADOS A PARTICIPAR DO ESTUDO

A pessoa pela qual você é responsável está sendo convidada a participar de uma pesquisa cujo objetivo é analisar as manifestações oftalmológicas na ataxia espinocerebelar tipo 7 (SCA7). Nossa intenção é compreender melhor essas manifestações e buscar a aquisição de conhecimento que possibilite uma medida de acompanhamento das mesmas, no tempo. Esta pesquisa está sendo realizada conjuntamente pelos serviços de Oftalmologia, Neurologia e Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você concordar com a participação na pesquisa, os procedimentos envolvidos são os seguintes: dois encontros para realizarmos uma entrevista clínica e dois exames físicos: o neurológico e o oftalmológico. No nosso primeiro encontro, faremos uma entrevista e um exame neurológico padronizado, feito com escalas clínicas. Essa consulta deverá durar por volta de uma hora.

Em até 30 dias dessa primeira avaliação, uma segunda consulta deverá ser feita para realizarmos o exame oftalmológico que consistirá da avaliação da acuidade visual para enxergar letras e cores e depois da aplicação de instrumentos e de luzes para medir a pressão intraocular, a transparência e o aspecto dos componentes do olho (como córnea, cristalino e retina). Com esses instrumentos, também obteremos uma fotografia da retina (retinografia) e faremos uma tomografia do olho, chamada de tomografia de coerência óptica (OCT). A consulta com essa entrevista e exame oftalmológico deverá durar por volta de uma hora e meia.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são relacionados ao eventual desconforto de uma entrevista, e à coleta de sangue e ao exame oftalmológico. A coleta de sangue pode se associar a: mal-estar passageiro, mancha roxa no local e cansaço. A pessoa pela qual você é responsável poderá ficar com a visão borrada por até 4 horas após o exame oftalmológico, pois o mesmo pode produzir perda de foco e intolerância a luz ambiental ou externa, além do desconforto de alguns minutos provocado pela luz do *flash* da retinografia.

Finalmente, há um pequeno risco de a dilatação da pupila produzir aumento da pressão intraocular. Para evitar essa complicação, a pessoa pela qual você é responsável será liberada apenas depois de realizar uma segunda medida dessa pressão (chamada de tonometria), ao final de todos os exames. Se houver aumento da pressão, receberá tratamento imediato e adequado.

Rubrica do responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 1 de 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - responsáveis

A participação no estudo não trará benefício direto ou imediato para você ou à pessoa pela qual você é responsável. Mas a pesquisa poderá ajudar a entender melhor os mecanismos relacionados à doença, e com isso favorecer novas pesquisas para futuros tratamentos. A participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não autorizar a participação, ou ainda, retirar a autorização e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação da pessoa pela qual você é responsável na pesquisa e não haverá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos, porém, poderá ser ressarcido por despesas decorrentes de sua participação, cujos custos serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante da participação na pesquisa, a pessoa pela qual você é responsável receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o nome não aparecerá na publicação dos resultados.

Caso tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Laura Bannach Jardim, pelo telefone (51) 3359-8011, com o pesquisador Pietro Baptista de Azevedo, pelo telefone (51) 3359-8247 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 3359-7640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o responsável pelo participante e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Nome do responsável (grau de parentesco)

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

Rubrica do responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 2 de 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nº do projeto CAAE 52703516.8.0000.5327

Título do Projeto: **MANIFESTAÇÕES OFTALMOLÓGICAS NA ATAXIA ESPINOCEREBELAR TIPO 7**

INFORMAÇÕES AOS INDIVÍDUOS **ASSINTOMÁTICOS** CONVIDADOS A PARTICIPAR DO ESTUDO

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é analisar as manifestações oftalmológicas na ataxia espinocerebelar tipo 7 (SCA7), por ser parente (filho/a, pai, mãe, irmão ou irmã) de um portador da SCA7. Nossa intenção é compreender melhor essas manifestações e buscar a aquisição de conhecimento que possibilite uma medida de acompanhamento das mesmas, no tempo.. Esta pesquisa está sendo realizada conjuntamente pelos serviços de Oftalmologia, Neurologia e Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você aceitar participar da pesquisa, os procedimentos envolvidos em sua participação são os seguintes: dois encontros para realizarmos uma entrevista clínica e dois exames físicos: o neurológico e o oftalmológico. No nosso primeiro encontro, faremos uma entrevista e um exame neurológico padronizado, feito com escalas clínicas. Essa consulta deverá durar por volta de uma hora. Ao final da mesma, realizaremos a coleta de uma amostra de 10 ml de sangue, para estudarmos o gene da SCA7.

Em até 30 dias dessa primeira avaliação, uma segunda consulta deverá ser feita para realizarmos o exame oftalmológico que consistirá da avaliação da sua acuidade visual para enxergar letras e cores e depois da aplicação de instrumentos e de luzes para medir a pressão intraocular, a transparência e o aspecto dos componentes do seu olho (como córnea, cristalino e retina). Com esses instrumentos, também obteremos uma fotografia da sua retina (retinografia) e faremos uma tomografia do seu olho, chamada de tomografia de coerência óptica (OCT). A consulta com essa entrevista e exame oftalmológico deverá durar por volta de uma hora e meia.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são relacionados ao eventual desconforto de uma entrevista, e à coleta de sangue e ao exame oftalmológico. A coleta de sangue pode se associar a: mal-estar passageiro, mancha roxa no local e cansaço. Você poderá ficar com a visão borrada por até 4 horas após o exame oftalmológico, pois o mesmo pode produzir perda de foco e intolerância a luz ambiental ou externa, além do desconforto de alguns minutos provocado pela luz do *flash* da retinografia.

Finalmente, há um pequeno risco de a dilatação da pupila produzir aumento da pressão intra-ocular. Para evitar essa complicação, você será liberado apenas depois de realizar uma segunda medida dessa pressão (chamada de tonometria), ao final de todos os exames. Se houver aumento da pressão, você receberá tratamento imediato e adequado.

Rubrica do participante _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 1 de 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A participação no estudo não trará benefício direto ou imediato para você. Mas a pesquisa poderá ajudar a entender melhor os mecanismos relacionados à doença, e com isso favorecer novas pesquisas para futuros tratamentos.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos, porém, poderá ser ressarcido por despesas decorrentes de sua participação, cujos custos serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o seu nome não aparecerá na publicação dos resultados. A sua amostra de sangue será identificada com um código apenas e chegará anônima (não associada ao seu nome) nos nossos laboratórios. O resultado da sua análise também não estará associado ao seu nome, o que implica que ele tampouco estará disponível para você ou para seus familiares, em qualquer tempo no futuro. Se você desejar saber se é ou não portador da mutação que causa a SCA7, você será encaminhado ao ambulatório assistencial de diagnóstico preditivo do HCPA, onde então receberá aconselhamento genético com todas as informações e poderá ser testado de acordo com a sua vontade.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Laura Bannach Jardim, pelo telefone (51) 3359-8011, com o pesquisador Pietro Baptista de Azevedo, pelo telefone (51) 3359-8247 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 3359-7640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

Rubrica do participante _____

Rubrica do pesquisador _____

Página 2 de 2

STROBE Statement—Checklist of items that should be included in reports of *cross-sectional studies*

	Item No	Recommendation
Title and abstract	1	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract (b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found
Introduction		
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses
Methods		
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection
Participants	6	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable
Data sources/ measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias
Study size	10	Explain how the study size was arrived at
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding (b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions (c) Explain how missing data were addressed (d) If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy (e) Describe any sensitivity analyses
Results		
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed (b) Give reasons for non-participation at each stage (c) Consider use of a flow diagram
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders (b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest
Outcome data	15*	Report numbers of outcome events or summary measures
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included (b) Report category boundaries when continuous variables were categorized (c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses
Discussion		
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results
Other information		
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based

*Give information separately for exposed and unexposed groups.

Note: An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at www.strobe-statement.org.