



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Ciências da Saúde

Doença de Machado-Joseph: Tratamento e Ensaio Clínicos

Ana Filipa da Cunha Gonçalves

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Prof. Doutor Francisco Álvarez Pérez

Covilhã, Março de 2018

Resumo

A doença de Machado-Joseph (DMJ) ou Ataxia Espinocerebelosa tipo 3 pertence à família das doenças de poliglutaminas, um grupo de doenças neurodegenerativas caracterizadas pela expansão do trinucleótido CAG em genes específicos. No caso da DMJ, essa mutação encontra-se no braço longo do cromossoma 14.

A DMJ tem uma expressão clínica e idade de início variáveis, o que torna o diagnóstico difícil e levou à definição da doença em quatro subtipos clínicos.

Em algumas regiões de Portugal, existe uma elevada prevalência desta doença, inevitavelmente fatal, com forte impacto na qualidade de vida dos doentes e seus familiares.

Apesar de ser considerada rara, é a mais frequente ataxia autossómica dominante em todo o mundo. Contudo, atualmente, ainda não existe um tratamento que impeça a sua progressão.

Esta dissertação, sustentada numa diligente revisão da literatura, tem como objetivo descrever diferentes aspetos da doença de Machado-Joseph, tais como uma perspetiva histórica e epidemiológica, características clínicas, neuropatologia, genética, diagnóstico e terapêuticas atualmente em desenvolvimento.

Palavras-chave: Doença de Machado-Joseph, Ataxia espinocerebelosa tipo 3, Ataxina-3, Tratamento, Ensaio Clínico

Abstract

Machado-Joseph disease (MJD) or Spinocerebellar ataxia type 3 belongs to the family of polyglutamine diseases, a group of neurodegenerative diseases characterized by the expansion of the CAG trinucleotide in specific genes. In the case of MJD, this mutation is found on the long arm of chromosome 14.

The MJD has a clinical expression and age of onset variable, which makes the diagnosis difficult and led to the definition of the disease in four clinical subtypes.

In some regions of Portugal, there is a high prevalence of this disease, inevitably fatal, with a strong impact on the quality of life of patients and their families.

Although it is rare, MJD is the most common autosomal dominant ataxia in the world. However, there is currently no treatment that prevents the progression of the disease.

This dissertation, based on the literature review, aims to describe different aspects of Machado-Joseph disease, such as historical and epidemiological perspective, clinical characteristics, neuropathology, genetics, diagnosis and therapeutics currently under development.

Key words: Machado-Joseph disease, Spinocerebellar ataxia type 3, Ataxin-3, Treatment, Clinical trials

Índice Geral

Resumo	ii
Abstract.....	iii
Índice Geral	iv
Índice de figuras	v
Lista de Acrónimos	vi
Introdução.....	1
Objetivos.....	3
Metodologia	4
História e epidemiologia	5
Apresentação Clínica	7
Tipos Clínicos	7
Manifestações Clínicas.....	8
Neuropatologia.....	10
Genética.....	13
Proteína ataxina-3.....	15
Diagnóstico	16
Tratamento.....	17
Tratamento curativo	17
Tratamento Sintomático	20
Casos clínicos de DMJ no CHCB	22
Caso Clínico 1	22
Caso Clínico 2.....	25
Conclusão.....	29
Referências Bibliográficas.....	31
Anexo I.....	40

Índice de figuras

Figura 1: Alterações macroscópicas na AEC3	11
Figura 2: Neurodegeneração na AEC3	12
Figura 3: Inclusão intranuclear na AEC3	12
Figura 4: Representação da estrutura do gene ATXN3	14
Figura 5: Árvore genealógica da família da doente 1.....	22
Figura 6: RMN crânio-encefálica da doente 1.....	24
Figura 7: Árvore genealógica da família da doente 2	25
Figura 8: Corte sagital da RMN crânio-encefálica da doente 2.....	27
Figura 9: Corte axial da RMN crânio-encefálica da doente 2	28

Lista de Acrónimos

ADT: Antidepressivo tricíclico

AEC3: Ataxia espinocerebelosa tipo 3

ATXN3: Ataxina-3 (gene)

Atxn3: Ataxina-3 (proteína)

CAG: Citosina - Adenina - Guanina

CHCB: Centro Hospitalar Cova da Beira

DMJ: Doença de Machado-Joseph

HUGO: Human Genome Organization

iARN: Ácido ribonucleico de interferência

IIN: Inclusões intranucleares

mARN: Ácido ribonucleico mensageiro

MJ: Machado-Joseph

NESSCA: Neurological Examination Score for the Assessment of Spinocerebellar Ataxia

PoliQ: Poliglutaminas

PET: Tomografia por emissão de positrões

QT: Quimioterapia

RMN: Ressonância magnética

RT: Radioterapia

SARA: Scale for the Rating and Assessment of Ataxia

Introdução

A doença de Machado Joseph, também conhecida como ataxia espinocerebelosa tipo 3, pertence à família das doenças de poliglutaminas, que são um grupo de doenças neurodegenerativas caracterizadas pela expansão do trinucleótido CAG em genes específicos^[1]. Foram descritas até à data nove doenças enquadradas na família poliQ: doença de Huntington (DH), atrofia muscular espino-bulbar (AMEB), atrofia dentatorubropalidolusiana (ADRP) e as ataxias espinocerebelosas tipo 1, 2, 3 (DMJ), 6, 7 e 17. Todas as doenças poliQ são herdadas de forma dominante, exceto a AMEB que se transmite ligada ao cromossoma X. São doenças que ocorrem tipicamente na meia-idade e progridem durante cerca de 10 a 30 anos, acabando por levar à morte do doente^[2].

No caso específico da DMJ, a principal manifestação observada é a ataxia, que corresponde a uma síndrome caracterizada por desequilíbrio e incoordenação que pode envolver a marcha, os membros e a fala^[3]. Uma ataxia pode ser causada por uma perturbação ao nível do cerebelo e/ou suas conexões (ataxia cerebelosa) ou ao nível do estímulo propriocetivo, por qualquer defeito relacionado com as vias sensitivas no nervo periférico ou na medula espinhal (ataxia sensitiva)^[3]. Como muitas síndromes atáxicas combinam características de défices cerebelosos e propriocetivos em diversas proporções, é indispensável conhecer a semiologia, para podermos classificar a ataxia dos doentes como cerebelosa, espinhal ou espinocerebelosa, sendo também necessário diferenciá-la de outras causas como intoxicação alcoólica e outros casos de ataxia súbita, como hemorragias, acidentes vasculares cerebelosos e infeções^[3].

A DMJ é uma ataxia espinocerebelosa, podendo, como consequência, afetar a marcha, postura, coordenação dos membros, fala e sistema oculomotor^[3]. Assim sendo, as principais características desta ataxia autossómica dominante são a ataxia progressiva, oftalmoplegia e ainda graus variáveis de sinais piramidais, como hiperreflexia e espasticidade, sinais extrapiramidais, como distonia, rigidez e bradicinesia, ou neuropatia periférica com arreflexia ou amiotrofias^[4]. Contudo, sem manifestação de défice cognitivo, pois ao contrário de outras ataxias espinocerebelosas, na DMJ a função cognitiva mantém-se preservada, mesmo em estádios avançados da doença.^[4]

Os achados clínicos da DMJ foram inicialmente descritos como doenças distintas^[5,6]. No entanto, estudos posteriores levaram ao reconhecimento das manifestações clínicas como espetro da mesma doença^[4].

Inicialmente, o diagnóstico da doença era difícil, pois não existem achados imagiológicos nem manifestações clínicas específicas da mesma^[7]. Só mais tarde, através dos estudos genéticos, foi possível identificar o gene responsável pela DMJ e o diagnóstico passou a ser possível através de testes genéticos, que permitem detetar a mutação no braço longo do cromossoma 14^[7-9]. Foi

assim descoberto que a DMJ é causada por uma repetição trinucleotídea CAG instável no exão 10 do gene ATXN3, que codifica a proteína ataxina-3 mutada, com propriedades neurotóxicas^[10].

O espectro clínico variável da DMJ levou à definição de quatro subtipos clínicos, de acordo com a idade e os sintomas major da patologia, sendo o tipo 2 a forma mais comum da doença^[11]. Esta variabilidade clínica da DMJ depende, por um lado, do tamanho da unidade de repetição CAG e, por outro lado, de uma variação residual que ainda não é compreendida^[10].

A AEC3 é uma patologia com distribuição mundial, mas é considerada rara, com uma prevalência global de 0,3-2:100000^[10].

Devido ao grande número de AEC existentes, à variedade dos sintomas e à raridade da DMJ o diagnóstico transforma-se, por vezes, num desafio^[10]. Dessa forma, deve ser aliado ao quadro clínico e história familiar da doença, o teste genético para confirmação da presença da expansão do trinucleótido CAG no cromossoma 14^[7].

Além disso, apesar de ser a ataxia autossômica dominante mais comum em todo o mundo^[11-13], e ser uma doença com progressiva deterioração e incapacitação, atualmente ainda não existe um tratamento que impeça a progressão da doença, baseando-se a abordagem apenas em tratamentos sintomáticos, sem grande sucesso^[14].

Objetivos

São objetivos primeiros deste trabalho,

- i) descrever diferentes aspetos da Doença de Machado-Joseph, através do enquadramento da sua perspetiva histórica, epidemiologia, apresentação clínica, neuropatologia, genética, diagnóstico e tratamentos em investigação,
- ii) diligenciar uma revisão extensa e alargada da literatura científica e uma análise de dados de doentes Machado-Joseph existentes no Hospital Cova da Beira e,
- iii) elaborar um documento atualizado e abrangente sobre a DMJ, que possa ser consultado por clínicos da Covilhã e outras regiões do país e servir como material de pesquisa e base de conhecimento.

Metodologia

Na revisão da literatura, visando uma sistematização do conhecimento e um levantamento mais aprofundado do denominado *estado da arte*, foram selecionados artigos a partir do motor de busca “PubMed”, sem limite temporal, com as palavras-chave “Polyglutamine Diseases”, “Machado-Joseph Disease”, “Spinocerebellar ataxia type 3”, “Machado-Joseph treatment”, “Machado-Joseph clinical trials” e ainda do “clinicaltrials.gov” com a palavra-chave “Machado-Joseph”.

A seleção dos artigos foi guiada pela importância da temática dos mesmos, a sua atualidade e relevância da fonte que os publica. Foram selecionados apenas ensaios clínicos aleatórios, duplamente cegos, de fase 2 ou 3 com, pelo menos, 20 doentes, para garantir a maior qualidade.

Finalmente procede-se ainda à inclusão de uma série clínica, com a análise dos processos clínicos dos doentes Machado-Joseph existentes no Hospital Cova da Beira. Para tal, foi solicitada e autorizada, pelo Gabinete de Apoio à Investigação e pela Comissão de Ética para a Saúde, a consulta dos processos clínicos desses mesmos doentes.

História e epidemiologia

A DMJ foi descrita, pela primeira vez, em 1972, por Nakano, Dawson e Spence, num doente com ascendência portuguesa, chamado William Machado, como uma “ataxia autossômica dominante” denominada “Doença de Machado”. Segundo os autores, este doente estaria afetado por uma forma progressiva de ataxia, hiporreflexia, nistagmo, amiotrofia e sinais de lesão do cordão posterior da medula^[5]. No mesmo ano, a família Thomas foi reportada, por Woods e Schaumburg, com uma doença caracterizada por alguns sintomas semelhantes, sendo designada como “degenerescência nigro-espino-dentada com oftalmoplegia nuclear”^[15]. Ambas as famílias, Machado e Thomas, são originárias dos Açores, respetivamente da ilha de São Miguel e da ilha das Flores, que emigraram e se enraizaram no Massachusetts (EUA)^[5,15].

Em 1976, a família Joseph, originária da Ilha das Flores e imigrante na Califórnia desde o século XIX, é descrita por Rosenberg, Nyhan e Bay^[6]. A doença desta família foi relatada por estes autores como um “tipo particular de ataxia hereditária autossômica dominante” e nomeada como “Doença de Joseph”.^[6] Os sintomas descritos foram nistagmo, disartria, ataxia progressiva, bradicinesia, fasciculações da língua e da face, distonia, hiperreflexia e sinal de babinski positivo em sete gerações da família^[6].

Em 1977 foi proposto pela primeira vez um só nome para esta doença, “Doença açoriana do sistema nervoso”, por Romanul e Fowler, considerando a constatação das mesmas características numa quarta família, também de ascendência açoriana e residente no estado do Massachusetts^[16,17]. Contudo, esta proposta de unificação não foi aceite, pois além de estigmatizar a população açoriana, negligenciava a existência de famílias não açorianas portadoras da doença noutras partes do mundo^[16,17].

Um ano depois, em 1978, Coutinho e Andrade, após realizarem uma série de estudos em várias famílias açorianas, propuseram o nome “Doença de Machado-Joseph” e descreveram-na como uma patologia única caracterizada por elevada variabilidade clínica. Para abranger as diversas formas de manifestação da doença, classificaram os doentes em três tipos clínicos^[4].

Em 1993, o gene responsável pela DMJ, nomeado MJD1, foi identificado, em famílias japonesas, no braço longo do cromossoma 14^[18], sendo que mais tarde, foi confirmada essa localização em famílias açorianas^[19].

Mais tarde, em 1994, a DMJ recebeu outro nome designado por “Spinocerebellar Ataxia type 3 (SCA3)”, que se tornou um sinónimo da mesma^[20].

Ainda em 1994, o gene MJD1, que passou a ser designado pela HUGO por ATXN3, foi clonado, encontrando-se uma expansão das repetições do trinucleótido CAG no gene dos doentes com DMJ^[8,9]. Por conseguinte, este gene foi considerado responsável pela doença e é o único gene conhecido que se encontra ligado à DMJ^[9]. Através destas descobertas, demonstrou-se ainda que a DMJ pertence a um grupo de doenças conhecidas como doenças de poliglutaminas^[9] e que, atualmente, abarcam nove doenças, entre as quais a DH.

Embora, hoje em dia, seja a ataxia autossômica dominante mais frequente a nível mundial, a AEC3 é considerada rara e tem uma prevalência global de 0,3-2:100 000^[10], representando 15-45% das AEC em todo o planeta^[13].

Esta patologia tem uma distribuição mundial e, curiosamente, a sua prevalência varia de acordo com a região dentro de um país. Como exemplo disso, temos Portugal continental, em que a AEC3 é uma doença escassa, com prevalência de 1 pessoa em cada 100 000. No entanto, no Vale do Tejo, tal já não se verifica, registando-se valores muito superiores, de 1 pessoa em cada 1000^[10,21].

A prevalência na região açoriana é de 1:2402, sendo maior na Ilha das Flores onde se observa uma prevalência de 1:239^[14,22].

Apresentação Clínica

A DMJ é, tipicamente, uma doença de início tardio, manifestando-se, em média, por volta dos 40,2 anos^[14]. No entanto, existe uma grande variabilidade da idade de início, com extremos de idade entre os 7 e os 70 anos^[14]. A duração média da doença, ou seja, o tempo entre o início dos sintomas até à morte do doente, costuma rondar os 20 anos^[14].

A severidade da AEC3 está relacionada com a idade de início da doença e com o tamanho da repetição CAG, sendo que um início precoce está associado com formas mais graves e rapidamente progressivas, assim como, quanto maior for o número de repetições CAG, mais críticos serão os sintomas e mais precoce será o despoletar da doença^[9,23,24].

A DMJ é, normalmente, caracterizada por ataxia, oftalmoplegia externa progressiva, sinais piramidais e extrapiramidais, associados a distonia, espasticidade e amiotrofia periférica, com fraqueza nos membros superiores e inferiores, movimentos intencionais semelhantes a fasciculações nos músculos da língua e da face, rigidez e retração palpebral com aspeto de “olhos arregalados”^[15,20,25]. De todas estas características, falta ainda salientar um dado importante para o diagnóstico diferencial da DMJ, que é a preservação da capacidade cognitiva, pois dentro do vasto leque de AEC existentes, há algumas particularidades que auxiliam o diagnóstico de umas em detrimento de outras. No caso da DMJ, a função cognitiva mantém-se preservada mesmo em estádios avançados da doença^[4].

Entre os doentes MJ, existe uma grande variabilidade clínica, que levou, inicialmente, à definição de entidades clínicas diferentes. Este facto exigiu então a classificação da DMJ em quatro subtipos clínicos, de acordo com a idade de início e os principais sintomas que se manifestavam^[11]. Esta variabilidade clínica existente depende não só do tamanho da unidade de repetição CAG, como também de uma variação residual que ainda não é bem compreendida^[10].

Tipos Clínicos

O tipo 1 da DMJ manifesta-se precocemente, com idade de início entre os 10 e os 30 anos, e é rapidamente progressivo^[26]. Associa uma síndrome atáxica cerebelosa ligeira e oftalmoplegia externa progressiva com sinais piramidais e extrapiramidais predominantes, como distonia, tremores e parkinsonismo^[11].

O tipo 2 é a forma mais frequente da doença, caracterizada por uma ataxia associada a oftalmoplegia externa progressiva, com início entre os 20 e os 50 anos de idade e uma progressão intermédia. Pode ter sinais piramidais e extrapiramidais, mas quando presentes são leves^[10,11,27].

O tipo 3 manifesta-se mais tardiamente, entre os 40 e os 70 anos de idade, e tem uma progressão lenta da sintomatologia. Caracteriza-se pelo predomínio de sinais periféricos, como neuropatia periférica e amiotrofia^[10,11].

O tipo 4 é o tipo clínico mais raro e inclui doentes com sintomatologia parkinsoniana associada a outros sintomas mais comuns da DMJ, que podem responder a L-dopa^[7,11,28,29].

Manifestações Clínicas

A principal e mais precoce característica clínica da AEC3 é uma ataxia lentamente progressiva, sempre com preservação do domínio cognitivo^[4]. Como já referido anteriormente, esta manutenção da função cognitiva é uma particularidade da DMJ importante para o diagnóstico diferencial entre o vasto grupo das ataxias espinocerebelosas.

A maioria dos doentes apresenta-se inicialmente com desequilíbrio e ataxia da marcha^[23]. A marcha atáxica é tipicamente uma marcha titubeante, de base alargada, e com passos de amplitude e direção irregulares, em que a incoordenação não se altera com os olhos abertos ou fechados, podendo, em determinados momentos, ser interpretada, equivocadamente, como intoxicação alcoólica^[3]. Esta ataxia é um sintoma constante, progressivo e que domina o quadro clínico da maioria destes doentes^[11]. Este sintoma pode afetar principalmente os membros quando os doentes mencionam falta de perícia para determinadas atividades, como a escrita, e, no exame físico destes doentes, pode encontrar-se dismetria, evidenciada pela prova “dedo-nariz”, tremor de intenção (oscilações do membro que ocorrem durante o movimento voluntário com o objetivo de atingir um alvo) e disdiadococinésia (irregularidade do ritmo e amplitude nos movimentos alternados rápidos)^[3]. A ataxia axial, mais frequente quando a lesão ocorre no vermis cerebeloso, também se manifesta em doentes MJ^[3]. Estes doentes, frequentemente, apresentam tremor da cabeça e ombros, assim como, instabilidade do tronco, levando a movimentos oscilatórios da cabeça e do tronco^[3].

Nas ataxias cerebelosas, são características as alterações da fala. Essas alterações surgem nos doentes MJ, que podem apresentar fala arrastada, com difícil articulação das palavras e anomalias na colocação e controlo do volume da voz, designada de fala escandida^[3]. São também frequentes hesitações e paragens desnecessárias na fala. Além disso, alguns doentes apresentam disfagia por incoordenação dos músculos da deglutição^[3].

Nesta patologia, as alterações oculomotoras são muito típicas, havendo perturbação na precisão dos movimentos sacádicos, nistagmo e incapacidade de inibir o reflexo vestibulo-ocular^[3]. Em termos visuais, os doentes podem referir visão turva e sensação de movimento do meio circundante^[3].

Os doentes que apresentam um quadro de ataxia sensitiva normalmente têm queixas relacionadas com alterações da sensibilidade, como parestesias e hipostesia^[3]. Estes doentes possuem percepção posicional e vibratória comprometida e podem ter perda dos reflexos osteotendinosos profundos^[3]. Sendo a DMJ uma ataxia espinocerebelosa, poderá apresentar todas estas manifestações em graus variáveis.

Dessa forma, à ataxia cerebelosa inicial, segue-se então regularmente disфонia, disartria, denominada “fala escandida”, e incoordenação dos membros inferiores, sendo que a perda de coordenação dos membros superiores só aparece anos mais tarde^[23].

O segundo sinal clínico mais reiterado na AEC3 é a oftalmoplegia externa progressiva, representada primeiramente por limitações no olhar vertical para cima e limitação da convergência e, mais tardiamente, dificuldades no olhar lateral^[23,27]. Alguns doentes podem também apresentar diplopia e nistagmo, que tende a surgir maioritariamente em movimentos oculares laterais^[30]. Outros doentes apresentam igualmente retração palpebral com a típica aparência de “olhos arregalados”^[23].

Os sinais piramidais, incluindo espasticidade, hiperreflexia osteotendinosa e sinal de Babinski, são também manifestações comuns e afetam sobretudo os membros inferiores. Os sinais extrapiramidais, por sua vez, são observados em graus variáveis nestes doentes, sendo a distonia o sinal mais habitual^[31,32]. Já a bradicinesia e a rigidez, são mais raros e, principalmente, encontrados no tipo clínico 4 da DMJ^[28,29].

Por seu turno, os sinais periféricos podem variar desde ausência de reflexos aquilianos até atrofia muscular e paresia distal. Além disso, podem apresentar diminuição da sensibilidade tátil em diversas áreas do corpo^[24].

Sintomas não motores encontram-se também muitas vezes associados a esta doença. Entre eles encontram-se os distúrbios do sono, que incluem o síndrome das pernas inquietas^[33], distúrbio do sono REM^[33,34], sonolência diurna, apneia do sono, insônia e distúrbio dos movimentos periódicos dos membros^[35]. Podem ainda ser observados sintomas como fadiga^[36], dor crónica^[36], depressão^[37], câibras^[38], disfagia^[28], incontinência urinária, nictúria, intolerância ao frio e distúrbios do suor^[39,40].

Neuropatologia

Na DMJ ocorre um processo de neurodegeneração devido à morte celular causada por toxicidade proteica^[41]. Esta neurodegeneração acontece devido a uma mutação no gene ATXN3, especificamente, uma expansão da repetição do trinucleótido, que leva à produção da proteína ataxina-3 mutada^[41,42]. A função biológica da atxn3 normal ainda não é conhecida^[48]. No entanto, a atxn3 mutada, resultante da mutação descrita, é altamente propensa a agregação e deposita-se no interior das células, despoletando um processo de morte celular, resultante da toxicidade proteica^[41,42].

As áreas do cérebro afetadas por essa neurotoxicidade, que apresentam perda neuronal, detetada através de estudos neuropatológicos, são o cerebelo, o corpo estriado, o tálamo, os núcleos pânticos, rubro, denteado cerebeloso, subtalâmico, substância nigra, os nervos cranianos e a medula espinhal e colunas de Clarke^[4,6,24,43]. Outros estudos neuropatológicos revelaram ainda a existência de degeneração no bulbo, na ponte, no sistema dopaminérgico e colinérgico do mesencéfalo e nos núcleos dos nervos cranianos III a XII, assim como, nos sistemas auditivo, vestibular, visual e somatossensorial^[1]. Enquanto são relatadas alterações na substância cinzenta das múltiplas regiões descritas, a degeneração da substância branca revela-se escassa e confinada ao cerebelo, tronco cerebral e medula espinhal^[1].

A maioria dos cérebros dos doentes MJ, com evolução clínica igual ou superior a 15 anos, pesam menos quando comparados com os cérebros de indivíduos sem patologia^[44].

Estudos de imagem revelaram atrofia da ponte, dos hemisférios e vermis cerebelar, dos gânglios da base e alterações volumétricas do mesencéfalo e bolbo raquidiano. Outra característica muito observada nos cérebros dos doentes MJ é o aumento do quarto ventrículo^[45-47].

A nível funcional, pode ser observado através da PET, uma diminuição do metabolismo da glicose no cerebelo, tronco cerebral, córtex cerebral, tálamo e putâmen de portadores da DMJ^[48-50].

Os agregados proteicos, compostos por várias proteínas como a atxn3 normal e mutada, ubiquitina, chaperones, componentes do proteossoma, entre outras, podem ser encontrados nos cérebros de doentes MJ, como inclusões intranucleares (IIN), tanto em regiões encefálicas afetadas pela patologia como em áreas geralmente preservadas. Dessa forma, o papel deste marcador da DMJ continua por desvendar^[51-53].

O envolvimento dos nervos periféricos em pacientes com DMJ foi descrito desde o final da década de 70^[4]. As características morfológicas da polineuropatia na DMJ foram estudadas através de biópsias nervosas retiradas de 11 doentes, em 1986, onde as amostras coletadas demonstraram degeneração axonal progressiva com maior envolvimento de grandes fibras mielinizadas. A intensidade dessas alterações patológicas variou consideravelmente, sendo leve nos tipos 1 e 2 e grave no tipo 3 da doença. Conclui-se, com este estudo, que o envolvimento dos nervos periféricos é uma característica significativa neste grupo de doenças e que a biópsia do nervo periférico pode ser útil na identificação dos subtipos da DMJ^[54].

Estudos posteriores de condução nervosa demonstraram amplitude reduzida dos potenciais de ação sensoriais como principal característica da neuropatia em pacientes com DMJ^[55,56].

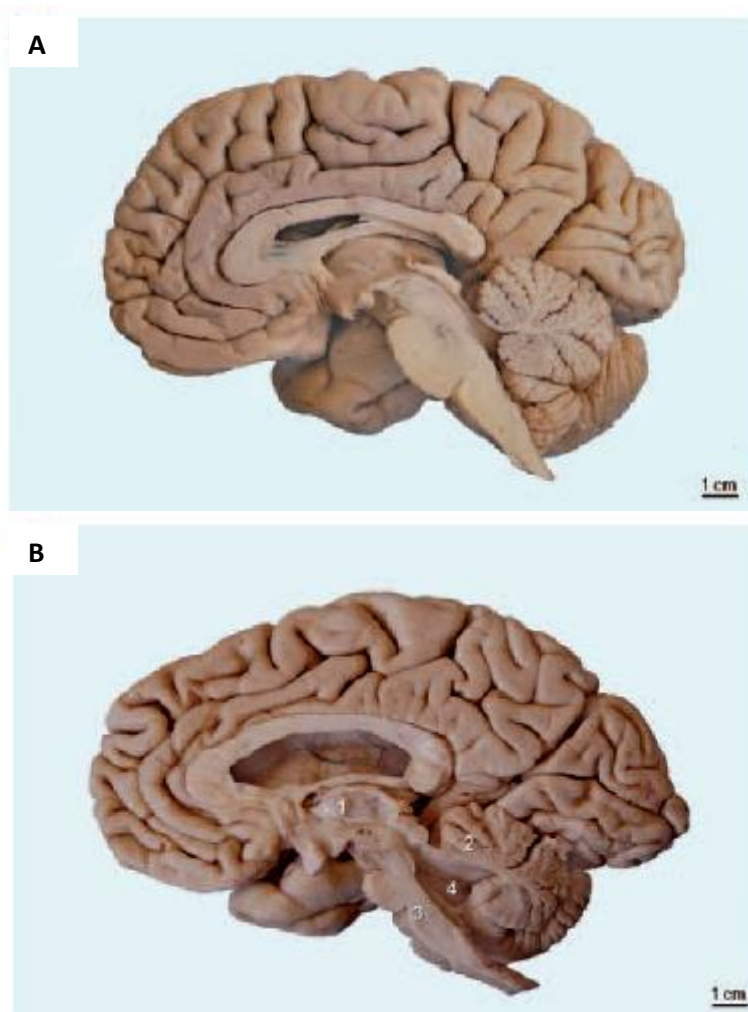


Figura 1: Alterações macroscópicas na AEC3. Em A vê-se um corte sagital do hemisfério cerebral direito de um indivíduo sem história médica de doenças neurológicas ou psiquiátricas. Em B vê-se um corte sagital do hemisfério cerebral direito de um doente com AEC3 geneticamente confirmada, tipo III (morte aos 85 anos; 64 repetições CAG no alelo mutado; início de AEC3 aos 59 anos). Observa-se atrofia do tálamo (1), do cerebelo (2), mesencéfalo, ponte e medula oblongada (3), bem como o alargamento do quarto ventrículo (4). Adaptado de^[1].

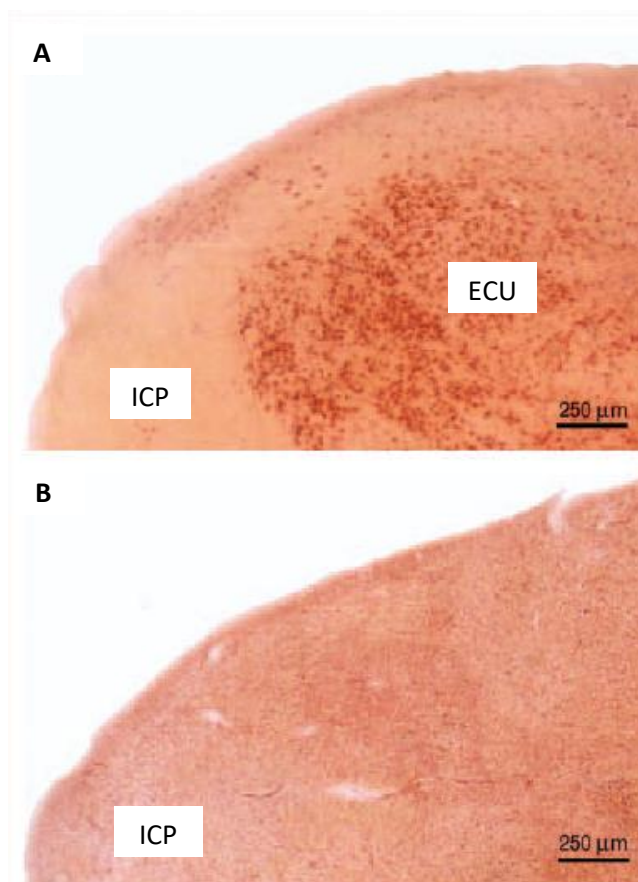


Figura 2: Neurodegeneração na AEC3. Em A vê-se o núcleo cuneiforme acessório (ECU) da medula oblongata de um indivíduo sem história clínica de patologia neurológica ou psiquiátrica. Ao lado do ECU vê-se o pedúnculo cerebelar inferior (ICP).

Em B observa-se um núcleo cuneiforme acessório destruído, de um indivíduo com AEC3 (morte aos 56 anos; 74 repetições CAG; início da DMJ aos 26 anos). A degeneração do ECU é consistentemente associada à ocorrência de ataxia do membro superior em pacientes com AEC3. Adaptado de^[1].

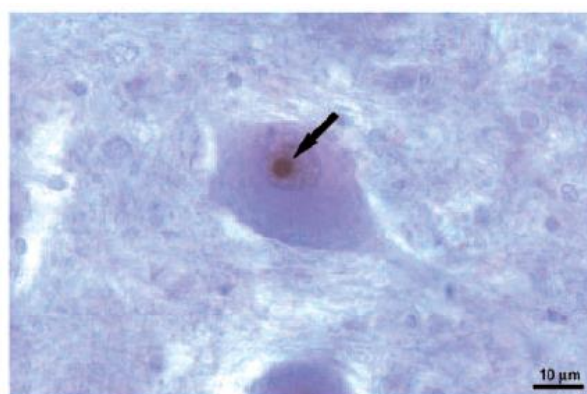


Figura 3: Inclusão intranuclear na AEC3. Adaptado de^[1].

Genética

A DMJ é transmitida de forma autossômica dominante^[12,13], o que significa que, se um dos progenitores for portador do gene mutado existe um risco de 50% de os seus filhos manifestarem a doença. Além disso, a penetrância do gene da DMJ é cerca de 98%, o que indica que os portadores do gene da DMJ irão ser afetados pela doença^[14].

Tal como acontece noutras doenças poliQ, ao longo das gerações constata-se uma tendência para o aumento do número de repetições CAG, e um maior número de repetições CAG está normalmente associado a uma idade de início mais precoce e sintomas mais severos^[57]. Este fenómeno designa-se por Antecipação e ocorre, essencialmente, devido à existência de uma instabilidade intergeracional da expansão de CAG. Existe maior propensão para haver expansão das repetições CAG no alelo mutado dos filhos quando esse alelo é transmitido pelo progenitor masculino^[8,57]. Além disso, existe também instabilidade somática, isto é, o alelo expandido apresenta diferentes tamanhos de repetições CAG em diferentes tecidos, fenómeno designado por mosaicismo somático^[58].

Indivíduos saudáveis apresentam apenas entre 12 a 44 repetições, enquanto que os alelos de indivíduos doentes MJ contém entre 52 a 87 repetições^[21,59]. Por conseguinte, um indivíduo com a DMJ pode ser homocigótico, possuindo dois alelos com 52 a 87 repetições ou ser heterocigótico, com um alelo contendo 52 a 87 repetições e outro com 12 a 44 repetições. Pessoas que têm alelos com repetições CAG compreendidas entre 45 a 51 podem ou não manifestar a doença^[21,60,61].

Em 1993, foi identificada, ao nível do braço longo do cromossoma 14, a possível localização do gene da DMJ^[18]. Um ano depois, em 1994, foi detetado o gene MJD1 com expansão das repetições do trinucleótido CAG. Este gene foi renomeado pelo comité de nomenclatura do HUGO como ATXN3, e foi proposto como sendo o responsável pela doença e é o único gene conhecido associado à DMJ^[9]. Este trabalho demonstrou ainda que a DMJ pertence a um grupo de doenças conhecidas como doenças de poliglutaminas^[9] e que atualmente incluem nove doenças, entre as quais a DH. Em 2001, foi determinada a estrutura da sequência genómica do gene ATXN3, compreendendo 48240bp e 11 exões^[62]. Recentemente, foram descobertos mais dois exões, passando o gene a conter 13 exões^[63].

Em resumo, a DMJ é causada por uma mutação de expansão do trinucleótido CAG, contida no exão 10 do gene ATXN3, que se localiza no braço longo do cromossoma 14 (14q32.1)^[9], e possui cerca de 48240bp e 13 exões, dois deles descobertos recentemente^[59,60].

Estudos posteriores à identificação do gene revelaram que o gene ATXN3 conduz à formação de uma proteína, a ataxina-3, cuja função biológica exata ainda é desconhecida^[41].

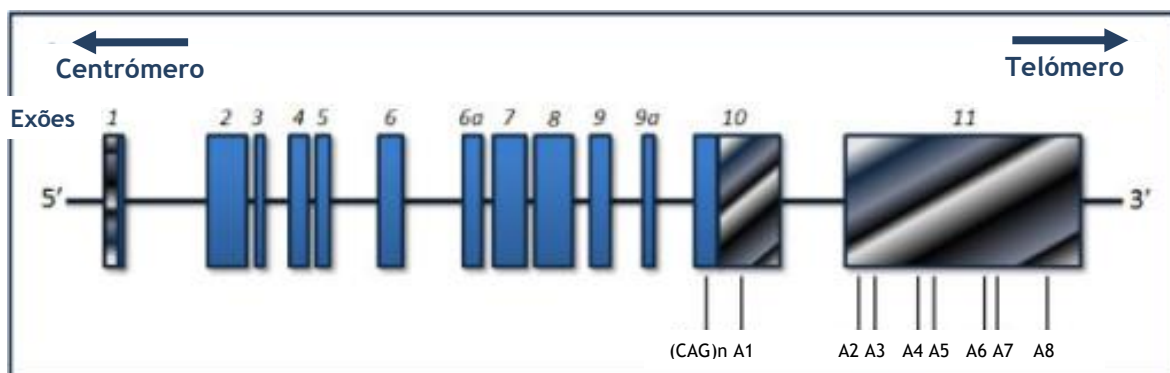


Figura 4: Representação da estrutura do gene ATXN3. Os exões estão representados por caixas retangulares e numerados de 1 a 11. Com linhas horizontais no exão 1 está representada a região 5' não traduzida, e com linhas diagonais em parte do exão 10 e no exão 11 a região 3' não traduzida. A sequência (CAG)n está indicada no exão 10, assim como as regiões de adenilação de A1 a A8. Adaptado de^[12].

Proteína ataxina-3

A proteína ataxina-3 é produto da transcrição e tradução do gene ATXN3 e é constituída por 339 resíduos de aminoácidos e por um número variável de repetições de glutamina^[9]. Esta proteína expressa-se em diferentes células e tecidos do Homem, mas predomina ao nível dos neurónios cerebrais, principalmente no citoplasma, podendo, no entanto, ser também encontrada no núcleo dos mesmos^[41]. A sua função biológica exata ainda não é totalmente conhecida, mas pensa-se ser uma enzima de desubiquitinização, que cliva a ubiquitina a partir de substratos ubiquitinados ou de cadeias de poli-ubiquitina^[10] e, ainda, ter um papel ativo na regulação da transcrição^[41].

A mutação que ocorre na DMJ, por expansão no gene ATXN3, condiciona a formação de uma extensão poliglutamínica anormal na proteína mutada^[9]. Desde cedo se pensou que essa mutação alterava a(s) função(ões) da proteína, levando a um ganho de função deletério para os neurónios^[64] e condicionava o aparecimento da doença. Logo se demonstrou, em 1996 que a atxn-3 mutada era tóxica para as células^[65] e, mais tarde, foram descobertas IIN nas regiões cerebrais afetadas pela DMJ, que continham a atxn-3 anormal^[52].

Mesmo após todos os progressos feitos para caracterizar a função da atxn-3, ainda não há uma explicação clara e perfeita para a patogénese da DMJ. As IINs foram encontradas em regiões afetadas pela DMJ, mas, em alguns locais cerebrais afetados pela doença, estas inclusões não foram detetadas, não se comprovando com toda a certeza o seu papel na destruição neuronal^[58,66]. Estudos apontam para que a expansão poliglutamínica interfira com a função desubiquitinizadora da ataxina-3 normal, condicionando má dobragem da proteína e a sua acumulação nos neurónios. Na sua forma mutada, ela fica então acumulada a nível intracelular, sendo que acima de um determinado limiar acaba por ganhar uma função neurotóxica ou provocar anomalias na transcrição, função das proteínas ou funções específicas das células, o que conduz à progressiva disfunção neuronal e à morte neuronal seletiva por um processo não totalmente conhecido^[10,13,67].

Diagnóstico

O facto de a DMJ ser autossómica dominante, de manifestação tipicamente tardia, conduziu a tentativas de diagnóstico precoce em indivíduos em risco de vir a manifestar a doença, mas que se encontravam assintomáticos. Esta ambição tornou-se possível após a descoberta e caracterização do gene ATXN3, permitindo o diagnóstico através do teste genético molecular.

O teste genético pode ser realizado por qualquer pessoa assintomática com história familiar confirmada de DMJ, com 50% de probabilidade de vir a contrair a doença e que tenha mais de 18 anos e pretenda receber informação genética^[68]. Pode também servir para confirmação diagnóstica em indivíduos sintomáticos com antecedentes familiares de DMJ^[7].

Atualmente, não existem achados clínicos ou de neuro imagem que sejam específicos para a DMJ^[7]. Dessa forma, o diagnóstico da DMJ passa, não só pelo reconhecimento de sinais e sintomas típicos da doença e pela presença de história familiar de DMJ, como também pelo resultado positivo de um teste genético que identifica a mutação de expansão CAG no gene ATXN3 do cromossoma 14^[7]. Este teste diagnóstico é feito através de amplificação por PCR da região trinucleotídea do gene da DMJ, seguido de eletroforese, permitindo determinar o número de repetições CAG (até 100 repetições) do gene ATXN3^[9,69]. A presença de um só alelo causador da doença é diagnóstico de DMJ^[9]. Além de ser um exame acessível, este teste apresenta alta sensibilidade e especificidade^[7].

O diagnóstico pré-natal também é possível através da análise do DNA de células fetais colhidas por amniocentese entre 15-18 semanas de gravidez ou por biópsia das vilosidades coriônicas entre as 10 e as 12 semanas^[69,70]. Antes da realização do teste pré-natal deve ser confirmada a presença da mutação num membro da família, através do teste genético^[69]. A realização deste teste tornou-se bastante polémica, devido à possibilidade de interrupção da gravidez de fetos que transportam a mutação^[69]. No entanto, o facto de a doença acarretar distúrbios familiares, psicológicos e económicos graves^[71] faz com que o diagnóstico pré-natal deva ser oferecido às famílias em risco^[69,70].

Foi ainda descrita uma técnica que permite, com segurança, realizar o diagnóstico de pré-implantação da expansão da repetição CAG da DMJ por PCR com célula única^[72]. Este consiste num teste genético que deve estar disponível para famílias com diagnóstico geneticamente confirmado de DMJ e que pretendam fazer planeamento familiar^[69].

Tratamento

Tratamento curativo

Há vários anos que os cientistas se empenham na obtenção e estudo de modelos celulares e animais que melhor imitem as características fenotípicas da DMJ com vista a encontrarem possíveis agentes terapêuticos preventivos.

Desde a descrição do gene ATXN3, vários modelos *in vitro* e *in vivo* foram gerados para obter informações sobre o(s) mecanismo(s) patogênico(s) e para desenvolver potenciais terapias para a DMJ^[65,73,74]. Embora sejam mais difíceis de produzir e manipular geneticamente do que os modelos de células e invertebrados (como *C. elegans*, *Drosophila*), os modelos de roedores compartilham semelhanças importantes com os seres humanos e são relevantes para estudos pré-clínicos visando a descoberta e desenvolvimento de novos fármacos.

Vários modelos de rato foram descritos para a AEC3 compreendendo modelos de rato transgênicos^[73,75], modelo de rato lentiviral^[74], modelos de rato knock-out^[76] e modelos de rato knock-in^[77].

Várias estratégias têm sido postas à prova e estão a surtir efeitos desejáveis nestes modelos, pelo que, poderão no futuro ser utilizadas em ensaios clínicos controlados e bem estruturados para perceber se terão o mesmo efeito em seres humanos com a patologia.

Um desses estudos baseia-se na técnica de silenciamento pós-transcricional do gene ATXN3 por pequenos iARN's, introduzidos nas células através de plasmídeos ou vírus, com o objetivo de diminuir o nível de expressão da *atxn3* mutante no cérebro, através da degradação do mRNA e consequente redução da síntese da mesma^[78]. Esta técnica já foi testada, mostrando ser capaz de reduzir tanto os níveis de proteína *atxn3* do tipo selvagem como mutante e, consequentemente, aumentar a viabilidade celular, diminuir a apoptose precoce e diminuir a acumulação de agregados de proteína *atxn3* mutante em células DMJ/AEC3^[79-81]. Curiosamente, o silenciamento, em simultâneo, da proteína normal e mutada foi bem tolerado, o que indica que a estratégia de inibir a expressão do gene ATXN3 mesmo que de forma não específica, pode ser considerada como uma estratégia terapêutica a aplicar futuramente em indivíduos afetados. Porém, esta hipótese terá que ser aprofundada e melhor avaliada, antes de se passar para ensaios clínicos humanos, pois ainda não se conseguiu comprovar que no ser humano a *atxn3* é uma proteína descartável^[10]. Por conseguinte, é preciso comprovar a eficácia e segurança deste método a longo prazo^[82,83].

Outra abordagem terapêutica promissora, usando uma estratégia mediada por oligonucleótidos antisense (ASO) complementares do mRNA, que atuam com base nas diferenças de tamanho da sequência CAG, está também direcionada para suprimir a expressão do gene ATXN3, mas sem afetar o alelo normal (alocação seletiva de alelos). Recentemente, Evers et al. propôs para o tratamento da DMJ/AEC3, essa mesma estratégia que consiste na modificação da proteína ATXN3 mutante sem afetar a sua função normal. Esta abordagem consiste na remoção da expansão

CAG usando os ASOs como mediadores para o skipping de exões, que eficazmente conseguiu remover simultaneamente os exões 9 e 10 do mRNA ATXN3 em fibroblastos humanos (a expansão CAG encontra-se no exão 10). A remoção desses exões não teve impacto negativo na capacidade de ligação à ubiquitina da atxn3^[84].

Hoje em dia, sabemos que a proteína mutada produzida pela DMJ/AEC3 é tóxica devido à sua propensão para formar agregados e interações proteína-proteína aberrantes, ao contrário da proteína selvagem^[85,86]. Sabe-se que as proteínas chaperones ou heat shock proteins (HSP) podem neutralizar a toxicidade induzida por proteínas misfolded ou por agregados e, por isso, tornam-se um alvo terapêutico atrativo^[52]. Um estudo realizado num modelo de rato com AEC3, o tratamento crónico com a chaperone 17-DMAG, resultou num atraso da progressão da descoordenação motora e redução da neuropatologia^[87].

Como alternativa surgem os mecanismos que permitem o aumento da degradação da proteína atxn3 mutada, por indução da autofagia ou da via ubiquitina-proteassoma. Um éster da rapamicina, o temsirolimus, diminuiu os níveis citoplasmáticos da ataxina-3 mutante e melhorou o fenótipo da doença em modelos animais, por aumento da autofagia^[88]. No entanto, uma investigação mais recente realizada num modelo de rato com DMJ, onde se procedeu à administração concomitante de temsirolimus e carbonato de lítio, revelou que a combinação deste dois fármacos é prejudicial para os ratinhos, falhando na recuperação de sintomas neurológicos e tendo efeitos neurotóxicos^[87]. Já a sobreexpressão dos níveis de beclina-1, mediada por um vetor viral, permitiu a estimulação da autofagia, com degradação da ataxina-3 mutante e criação de efeitos neuroprotetores num modelo de rato lentiviral com DMJ, principalmente em fases iniciais da doença^[89].

Sabe-se que as proteínas expandidas sofrem um processo de proteólise, transformando-se em pequenos fragmentos tóxicos, que se pensa serem requisitos para a manifestação desta e outras doenças de poliglutaminas. Algumas das enzimas proteolíticas envolvidas são as calpaínas (proteases de cisteína dependentes de cálcio) e as caspases, cujos efeitos da sua inibição já foram testados em modelos DMJ/AEC3. Nesses estudos, a inibição destas enzimas conseguiu prevenir a localização nuclear, a agregação e a toxicidade da atxn3, atrasando a neurodegeneração^[90,91].

A disfunção mitocondrial e o stresse oxidativo desempenham um papel importante na patogénese da AEC3. Vários compostos que melhoram os defeitos do metabolismo energético ou reduzem o stresse oxidativo, como antioxidantes, foram testados com sucesso em modelos celulares e de ratos com DMJ^[92]. A creatina, um composto natural reconhecido pela eficácia em restabelecer o equilíbrio energético na célula, foi testada em modelos de rato MJ, mostrando melhorar o fenótipo motor dos ratinhos. A dieta suplementada com creatina conduziu a uma melhoria da coordenação motora, força nos membros e qualidade da marcha. Surpreendentemente, o tratamento crónico com creatina atrasou o início do aparecimento de diversos sintomas e até aboliu a presença de alguns, o que sugere a suplementação com creatina como uma estratégia eficaz no atraso da progressão da DMJ^[87].

Atualmente, é aceite que as proteínas atxn3 mutantes interagem anormalmente com as histonas acetiltransferases (HAT) e/ou histonas desacetilases (HDAC), alterando os padrões de modificação das histonas e, como consequência, afetam a expressão de genes^[93]. Outra possibilidade em estudo tem como objetivo atuar nesta modulação da transcrição, focando-se em aumentar a acetilação das histonas H3/H4 através de inibidores da desacetilação de histonas (iHDAC), como o butirato de sódio e o valproato, que obtiveram sucesso em modelos com DMJ^[75,94].

Uma vez que a homeostasia do cálcio se encontra alterada na DMJ, uma outra estratégia foi analisada em modelos de rato MJ, usando Dantroleno com o objetivo de estabilizar a sinalização do cálcio intracelular, permitindo uma melhoria do fenótipo motor e redução da perda neuronal^[95]. Mais tarde, um ativador de canais de potássio dependentes do cálcio, o SKA-31, melhorou, não só a função motora dos ratinhos MJ, como também, corrigiu as alterações na despolarização das células de Purkinje^[96].

Outras opções passam pela terapia de substituição das células neurais e estratégias de neuroproteção. No entanto, muitos obstáculos técnicos ainda estão no caminho da tradução destas práticas para a clínica^[97].

Durante os últimos anos foram empregues muitos esforços no sentido de compreender melhor a função da proteína atxn3 e o mecanismo fisiopatológico que leva ao aparecimento da DMJ, para que se possa desenvolver terapêuticas curativas, destinadas a travar esse mecanismo patológico.

Um grande número de ensaios clínicos foram realizados e estão em curso para produzir tratamentos eficazes para as doenças poliQ, sendo que a mais estudada continua a ser a DH. Contudo, resultados notáveis nos ensaios clínicos realizados nesta e noutras doenças poliQ podem ser úteis e produzir efeitos positivos nas restantes doenças poliQ, visto que elas partilham alguns sintomas.

Quanto à DMJ, ensaios clínicos aleatorizados, duplamente cegos, de fase 2 ou 3, foram realizados em 20 ou mais doentes com trimetoprim/sulfametoxazol (Bactrim®), vareniclina (Champix®) e carbonato de lítio^[98,99,100]. Os ensaios clínicos com trimetoprim/sulfametoxazol (Bactrim®) e vareniclina (Champix®) serão falados mais à frente, visto não constituírem uma possível terapêutica curativa, mas sim sintomática.

Em 2014, 62 doentes com AEC3 foram recrutados para um ensaio clínico onde foram distribuídos, de forma aleatória, para receberem tratamento com carbonato de lítio ou placebo durante 24 semanas. Como o lítio revelou exercer efeitos neuroprotetores em modelos pré-clínicos de algumas doenças poliQ, entre elas a DMJ, mas demonstrou também induzir neurotoxicidade em alguns doentes não atáxicos, este estudo foi realizado para avaliar a segurança e eficácia do mesmo na terapêutica de pessoas com DMJ. O lítio demonstrou ser bem tolerado e seguro, mas sem nenhum efeito significativo observado ao nível do score SARA (Anexo I) e NESSCA^[100]. O NESSCA é um score que permite medir a severidade da DMJ e que compreende 18 itens com uma pontuação total de 0 a 40 pontos. São eles perda sensorial, ataxia de membros, ataxia da marcha, fasciculação, oftalmoparesia, amiotrofia distal, bradicinesia, movimentos distónicos, disfunção

dos esfíncteres, rigidez extrapiramidal, blefarospasmo, disartria, alterações piramidais, retração palpebral, disfagia, vertigem, câibras e nistagmo^[101]. Nos restantes scores aplicados verificou-se uma progressão menor^[100]. Assim, estes resultados merecem uma melhor investigação e clarificação^[100].

Os ensaios clínicos controlados, com número relevante de doentes, realizados para a DMJ são muito poucos, como podemos constatar, e, além disso, falharam ou obtiveram pouco sucesso nos seus resultados.

Posto isto, atualmente, não existe nenhum tratamento que permita abrandar ou travar o curso da doença^[7,13,41], visto se desconhecer também o principal mecanismo fisiopatológico da mesma. No entanto, o facto de a DMJ não ser curável não deve dar ao médico a noção de que nada pode ser feito para ajudar estes doentes, pois existem tratamentos farmacológicos e não farmacológicos disponíveis para minimizar a sintomatologia da doença e melhorar a qualidade de vida dos mesmos^[7,10].

Tratamento Sintomático

Apesar da inexistência de uma terapêutica curativa ou preventiva, existe tratamento farmacológico e não farmacológico disponível para minimizar os sintomas destes doentes. Quanto ao tratamento farmacológico de sintomas parkinsonianos, distonia e bradicinesia podem ser usados agonistas dopaminérgicos, amantadina e levodopa^[7,13,69,102]. Para a distonia e espasticidade estão também comprovados os anticolinérgicos, as benzodiazepinas, a carbamazepina, a toxina botulínica e o baclofeno^[7,69]. O baclofeno, assim como os agentes hipnóticos e os miméticos da atropina estão também indicados para os problemas de sono e sialorreia^[7,69]. Os distúrbios do sono devem ser avaliados por polissonografia e tratados de acordo^[69].

A fadiga pode resolver com a administração de amantadina, modafinil ou metilfenidato, e ainda com medidas não farmacológicas como o exercício físico regular, a fisioterapia e a educação e alteração dos comportamentos^[7,69].

As câibras atenuam com a ingestão de magnésio, ou ainda mexiletina ou carbamazepina como alternativas^[7,102].

A depressão deve ser sempre averiguada, nunca ignorando as alterações humorais e emocionais destes doentes, pois as limitações e incapacidades da DMJ acarretam grave impacto no estado psicológico das pessoas afetadas e seus cuidadores. Esta pode beneficiar não só com a toma de antidepressivos, como também com terapia ocupacional^[7,10,13,69]. Os doentes podem até beneficiar com a fisioterapia e terapia da fala, para melhorar o seu humor e autoestima e, além disso, a disfagia e a disartria^[7,10,13,69].

A maioria dos doentes irá necessitar de modificações e adaptações na sua habitação, removendo tapetes e outros obstáculos à sua deambulação, colocando barras de apoio ao longo da casa para melhorar o equilíbrio e movimentação, assentos sanitários próprios e rampas no lugar das escadas. A médio prazo, pode ser útil a aquisição de tecnologias de apoio como auxiliares

da marcha, como andarilhos ou, mais tarde, cadeiras de rodas, e utensílios adaptados para alimentação^[69].

Quanto aos ensaios clínicos efetuados para testar a eficácia de tratamentos sintomáticos, um deles testou os efeitos da toma de trimetoprim/sulfametoxazol (Bactrim®) e o outro utilizou a vareniclina (Champix®).

Em 2001, foi realizado o ensaio clínico com trimetoprim/sulfametoxazol (Bactrim®) em 22 doentes com AEC3. Foram utilizadas doses de 160mg de trimetoprim e 800mg de sulfametoxazol, duas vezes ao dia, durante 2 semanas, seguidas de uma combinação de 80mg de trimetoprim e 400mg de sulfametoxazol, duas vezes ao dia, durante 22 semanas. Quatro estudos realizados anteriormente em doentes MJ afirmaram haver melhoria da espasticidade na DMJ após a toma desta combinação de fármacos. No entanto, estes estudos tinham uma amostra muito pequena de doentes, com nenhuns ou quase nenhuns doentes placebo. Ao contrário desses estudos posteriores, esta terapêutica não revelou melhoria dos sintomas na análise de curto prazo (2 semanas), nem após o cumprimento das 24 semanas de antibioterapia^[98].

Em 2012, o ensaio clínico com vareniclina (Champix®), um agonista parcial dos recetores de acetilcolina nicotínicos neuronais $\alpha 4\beta 2$, com efeitos semelhantes à nicotina e prescrito para o tratamento do tabagismo, foi realizado em 20 doentes com DMJ. Este estudo foi realizado para verificar se o fármaco em causa melhorava os sintomas de disfunção cerebelar encontrados nos doentes com DMJ. Os doentes foram, então, aleatoriamente separados em dois grupos, um grupo a tomar vareniclina durante 8 semanas e outro grupo placebo. O efeito secundário mais comum associado à vareniclina foi a presença de náuseas. Mais tarde, comparados os resultados entre os dois grupos, os que estavam medicados com vareniclina apresentaram melhoria significativa da ataxia, avaliada através do score SARA (Anexo I). Uma fraqueza deste estudo foi a alta taxa de abandono dos placebos (4 dos 10 doentes). Outra fraqueza é o pequeno número de pacientes que participaram do estudo. Por conseguinte, outras pesquisas clínicas e pré-clínicas são necessárias para entender o efeito dos agonistas dos recetores da acetilcolina nicotínicos na AEC3^[99].

Como é evidente, o tratamento sintomático, por si só, não consegue aliviar totalmente o tormento destes doentes nem impedir a progressão da doença, e por isso torna-se urgente descobrir a cura para refrear esta doença.

Casos clínicos de DMJ no CHCB

Caso Clínico 1

Doente 1, caucasiana, do sexo feminino, nascida em 1971. Faleceu em 2016, com 46 anos. Era natural e residente em Portugal Continental, mais especificamente na Covilhã.

O diagnóstico de DMJ foi realizado em 1992, por volta dos 21 anos de idade, quando a doente frequentava a Universidade, por manifestar alterações da marcha e, seguidamente, alterações da fala, tendo sido seguida em consulta de neurologia no Porto. Nos últimos anos antes do falecimento encontrava-se aos cuidados da mãe.

Antecedentes pessoais

Hepatite colestática, histerectomia em 2003 por mioma uterino, neoplasia maligna da mama com mastectomia esquerda em 2013 e realização de QT e RT.

Antecedentes familiares

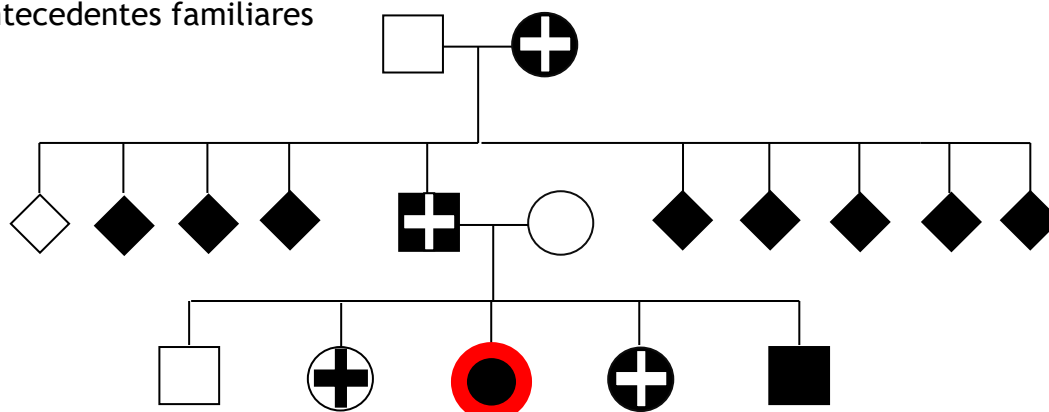


Figura 5: Árvore genealógica da família da doente 1

Legenda:

	Homem vivo sem doença		Homem morto com doença
	Mulher viva sem doença		Mulher morta com doença
	Homem vivo com doença		Sexo indeterminado sem doença
	Mulher viva com doença		Sexo indeterminado com doença
	Mulher morta sem doença		Doente 1

História da doença

Em 1992, aos 21 anos de idade começa a notar perda de equilíbrio e mais tarde alteração da expressão verbal, o que a levou a consultar e a ser seguida pela especialidade de neurologia no Porto, onde a sua irmã também era seguida por DMJ. Foi-lhe então diagnosticado clinicamente e através de teste genético a DMJ. Desde então o agravamento foi progressivo, sendo que em 2013, com 42 anos, já não andava, encontrando-se dependente de uma cadeira de rodas, conseguindo apenas apoiar-se e dar alguns passos hesitantes para realizar as transferências. Deixou de falar completamente, emitindo apenas alguns ruídos incompreensíveis, a partir de 2011. Em 2013 era capaz de comer, mas tinha alguma dificuldade para deglutir líquidos. Contudo, ainda sem necessidade de espessante.

Foi seguida no CHCB desde 1999 até 2004. A partir daí voltou a ser seguida no Porto, até ao ano de 2013, quando foi diagnosticada com neoplasia maligna da mama. Após esse diagnóstico, a mãe solicitou que a doente voltasse a ser seguida no CHCB, e assim foi até à data do seu falecimento. De 2004 até à data de falecimento não existe registo de terapêutica efetuada, além de Socian (amilssuprida) 1id por 20 dias e Wellbutrin (bupropiona) 150mg 1id, que iniciou em 2013, para melhorar o humor, pois a doente ficou depressiva, com pensamentos suicidas, após início de QT e RT. Até 2014 trabalhou numa escola, “ao computador”.

Exame neurológico

No processo existiam apenas dois registos de exame neurológico.

De 2013 - Mutismo, por anartria, pois compreende tudo o que lhe é dito e cumpre ordens. Consegue opor resistência com força razoável (grau 4) em todos os segmentos, mas a movimentação é comprometida por distonia e por ataxia. A posição dos olhos não é conjugada e a doente teria diplopia em certas posições do olhar, segundo a mãe. Reflexos osteotendinosos ausentes nos membros inferiores e presentes, simétricos e hipoativos, nos membros superiores. Observa-se retração palpebral, que é frequente na doença com aparência de exoftalmia pelo olho exposto.

De 2014 - Mutismo, por anartria, pois compreende tudo o que lhe é dito e cumpre ordens. Consegue opor resistência com força razoável (grau 4) em todos os segmentos, mas há paresia distal, na extensão e flexão dos punhos e dedos da mão direita (grau 4). A movimentação é comprometida por distonia e por ataxia. A posição dos olhos não é conjugada e a doente teria diplopia em certas posições do olhar, segundo a mãe. Reflexos osteotendinosos presentes em todos os membros, mais evidentes nos membros esquerdos, com reflexos aquilianos hipoativos. Observa-se a retração palpebral, que é frequente na doença, com aparência de exoftalmia, o que ocorre de modo intermitente e mais no olho esquerdo.

Exames complementares de diagnóstico



Figura 6: RMN crânio-encefálica da doente 1. Realizada em 1999. Nesta RMN pode observar-se a atrofia do cerebelo.

Terapêuticas

Quanto ao tratamento farmacológico, realizou terapêutica com Artane (trixafenid) e Lioseral (baclofeno), que suspendeu em 2004 por ausência de distonia ou espasticidade. Instituído Socian (amilssuprida) e Wellbutrin (bupropiona) em 2013 por síndrome depressiva, associada ao diagnóstico de neoplasia maligna da mama e ciclos de QT e RT. Não existem registos de outros fármacos utilizados. Existência de poucos registos clínicos acerca desta doente no CHCB, provavelmente por ter sido predominantemente seguida no Porto.

Relativamente à terapêutica não farmacológica realizada no CHCB, a doente efetuou fisioterapia, cinesiterapia e terapia ocupacional desde 2000 até 2001. Retomando cinesiterapia de 2014 a 2015.

Caso Clínico 2

Doente 2, caucasiana, sexo feminino, nascida em 1954. Atualmente, com 63 anos de idade. Natural e residente em Portugal Continental, mais especificamente em Alpedrinha.

O diagnóstico de AEC3 foi confirmado em 2014, através de teste genético que confirmou expansão CAG num dos alelos do gene ATXN3. No entanto, a doente já apresentava sintomas como perda de equilíbrio, dificuldade na fala e disfagia para líquidos desde 2000, quando tinha ainda 45 anos de idade, tendo sido diagnosticada com atrofia olivo-ponto-cerebelosa, com base em alterações verificadas em RMN crânio-encefálica. A doente trabalhou no escritório da Misericórdia de Alpedrinha até 2016, ano em que se reformou. A filha, que tem atualmente 35 anos, é quem a acompanha e auxilia.

Antecedentes pessoais

Artrite reumatóide diagnosticada aproximadamente em 2000, atrofia olivo-ponto-cerebelosa desde 2000, diagnóstico esse que foi mais tarde substituído por DMJ, em 2014.

Antecedentes familiares

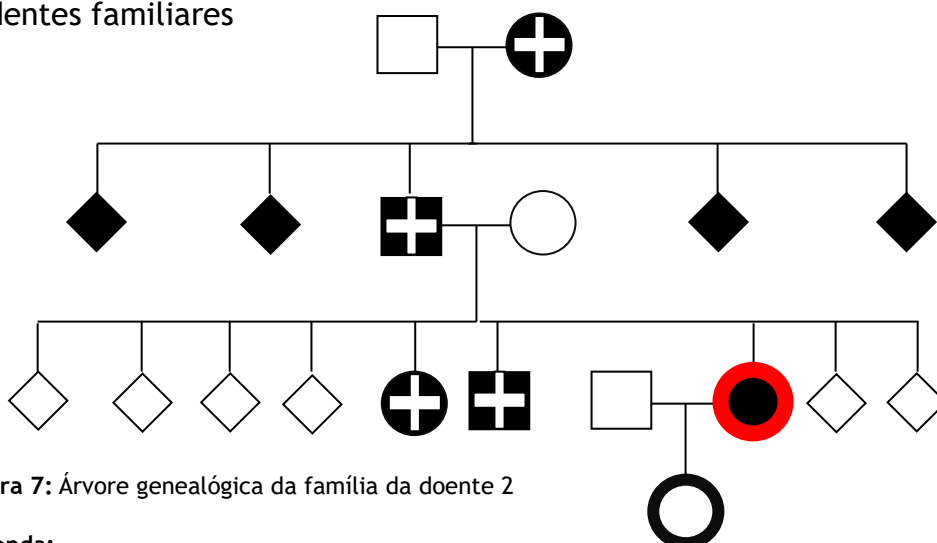


Figura 7: Árvore genealógica da família da doente 2

Legenda:

	Homem vivo sem doença		Homem morto com doença
	Mulher viva sem doença		Mulher morta com doença
	Sexo indeterminado sem doença		Mulher portadora da doença
	Sexo indeterminado com doença		Doente 2

A distribuição da doença na árvore genealógica sugere uma ataxia de hereditariedade autossômica dominante, que abrange pelo menos 3 gerações. A doente tem uma filha assintomática de 35 anos, que realizou o teste preditivo, confirmando-se ser portadora da DMJ.

História da doença

Diagnosticada com atrofia olivo-ponto-cerebelosa em 2000, depois de começar com perda do equilíbrio, dificuldade para falar e disfagia para líquidos. A doente começou a ser seguida no CHCB em 2012, com suspeita de ataxia cerebelosa de hereditariedade autossômica dominante associada a polineuropatia. Segundo a doente, os sintomas referidos anteriormente foram agravando progressivamente, tendo a doente notado franco agravamento principalmente de 2011 para 2012. Na primeira consulta a doente encontrava-se a realizar apenas terapêutica farmacológica com: Magnesium, Socian (amilssuprida), Bialzepam retard. Foi realizado o exame neurológico e pedido o estudo genético para AEC3.

Em 2013 houve agravamento da ataxia, caminhando apenas com a ajuda de terceiros. A doente negava dor e parestesias, mas alegava ter câibras nos músculos das pernas. Permanecia com disfagia para líquidos, mas sem necessidade de espessante.

Em 2014, o diagnóstico de AEC3 foi confirmado com o resultado positivo do teste preditivo.

Em 2015, a doente começou a referir perda de apetite, emagrecendo bastante, pesando apenas 38kg.

Durante um ano conseguiu aumentar o seu peso, sendo que em 2016 já pesava 49kg. Nesse ano, a doente queixava-se de polaquiúria e nictúria, referindo dormir mal, pois acordava muitas vezes para urinar.

Em 2017, a doente caminhava poucos metros com a ajuda de terceiros, mas encontrava-se animada. Referiu dormir melhor com o tratamento, mas tem muitos pesadelos. Nunca teve queixas nem alterações cognitivas.

Exame neurológico

O exame neurológico realizado na primeira consulta em 2012 revelou:

- Disartria escandida;
- Mobilidade ocular normal, nistagmo no olhar lateral com fase rápida no olhar externo;
- Tetraparesia e hipotrofia muscular;
- Arreflexia global;
- Reflexos cutâneo-plantares flexores;
- Hipoestesia tátil e térmica, preservando a sensibilidade vibratória e artrocínética;
- Dismetria dedo-nariz ligeira, que não piora ao fechar os olhos;
- Não pode manter a postura bípede com os pés juntos;
- Marcha atáxica;

- Sinal de Stewart-Holmes presente.

Exames complementares de diagnóstico

- EMG (1999): sugestivo de polineuropatia axonal sensitivo-motora;
- RMN crânio-encefálica (1999): atrofia do cerebelo;
- EMG (2013): polineuropatia sensitivo-motora axonal;
- RMN crânio-encefálica (2013): atrofia do cerebelo e da ponte, assim como atrofia cerebral.



Figura 8: Corte sagital da RMN crânio-encefálica da doente 2. Realizada em 2013.

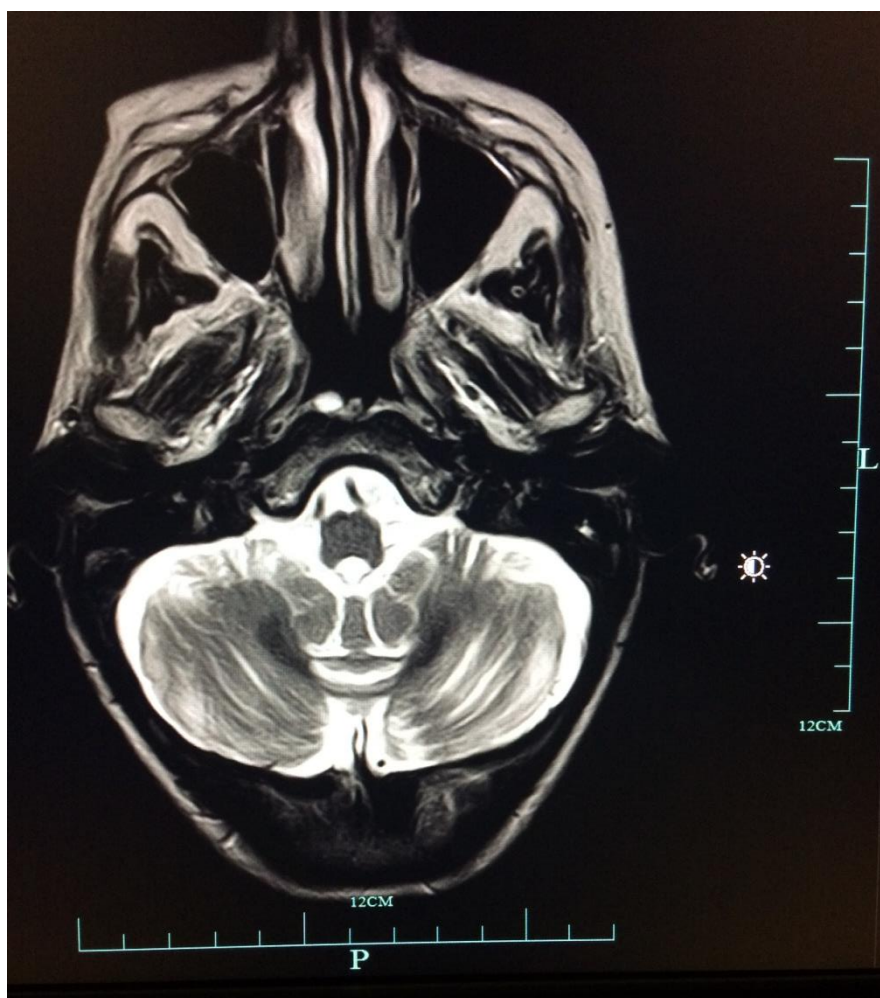


Figura 9: Corte axial da RMN crânio-encefálica da doente 2. Realizada em 2013.

Terapêuticas

Realizou fisioterapia de 2013 a 2016, abandonando a fisioterapia por iniciativa própria, alegando realizar atividades em casa e tendo apoio domiciliário.

Atualmente, a terapêutica farmacológica é a seguinte:

- Spasmoplex (cloreto de tróspio) ao jantar → Resolução da polaquiúria/incontinência urinária.
- Lorenin (lorazepam) 1 mg em sos → Em SOS para dormir melhor.
- Escitalopram 10 mg 1-0-0 → Para tratamento da distímia.
- Magnésio → Para evitar as câibras.
- ADT 25 mg ao deitar → Para tratamento da distímia, assim como sedativo para melhorar o sono.

Fármacos usados no passado: Socian (amissulprida) para tratamento da distímia e Xanax (alprazolam) em SOS para dormir melhor.

Conclusão

A DMJ/AEC3 é uma doença com grande variabilidade clínica e alguma inconstância quanto à idade de início dos sintomas. Ademais, visto não existirem manifestações típicas da DMJ nem achados imagiológicos específicos, a descoberta do gene responsável pela mesma foi um passo importante para permitir a confirmação diagnóstica em pessoas sintomáticas e a realização de testes preditivos em familiares em risco, através de um teste acessível, sensível e específico. A descrição do gene ATXN3 possibilitou ainda o esclarecimento de algumas características da doença, como a relação direta entre o número de repetições CAG e a gravidade das manifestações clínicas e a relação inversa entre o número de repetições CAG e a idade de início da doença. Por outro lado, a descoberta da mutação de expansão do trinucleótido permitiu integrar a DMJ num leque de nove doenças neurodegenerativas designadas no seu conjunto de doenças poliQ.

Todas as doenças poliQ estão associadas a proteínas mutadas com um número variável de repetições de glutamina. Quanto à proteína atxn3, envolvida na patogénese da DMJ, desconhece-se ainda a sua função biológica exata, mas diversos estudos estruturais e de função têm sido realizados, sabendo-se, hoje em dia, que ela atua como enzima de desubiquitinação participando em mecanismos de homeostasia celular e na regulação da transcrição de genes.

Nos últimos anos, foram criados inúmeros modelos celulares e animais na tentativa de recriarem a DMJ. Estes modelos permitiram o reconhecimento da participação da ATXN3 em diversos mecanismos celulares e ofereceram uma oportunidade única de se testarem diversas estratégias terapêuticas preventivas. Estas estratégias encontram-se atualmente focadas na tentativa de silenciar a expressão do gene mutado ou diminuir os níveis da proteína alterada. Em alternativa, estão a ser testados agentes farmacológicos que possam interferir nas vias celulares provavelmente envolvidas na patogénese da doença. Muitas destas terapêuticas, que obtiveram sucesso em modelos pré-clínicos, com atraso ou interrupção da progressão da doença, e se revelaram seguros e bem tolerados poderão e deverão ser testados em ensaios clínicos humanos.

O desenvolvimento e o sucesso dos ensaios clínicos realizados para a DMJ e outras doenças poliQ são um desafio devido às particularidades dessas doenças. O facto de terem uma apresentação clínica altamente variável e progressão lenta dos sintomas, a falta de biomarcadores confiáveis e específicos, o pequeno número de pacientes e o alto custo de ensaios clínicos para doenças raras, dificulta o desenvolvimento e êxito dos ensaios clínicos efetuados ou por efetuar. Na verdade, os ensaios clínicos realizados até agora foram poucos e, para mais, falharam ou produziram pouco sucesso. Portanto, é crucial analisar criticamente os resultados obtidos até agora, corrigindo eventuais erros e falhas, para poder projetar novos ensaios com novas sugestões para o sucesso futuro.

Por outro lado, apesar da melhoria considerável do conhecimento sobre a genética e a fisiopatologia da DMJ nas últimas décadas, ainda falta desenvolver biomarcadores relevantes de gravidade da doença.

Por enquanto, ainda não existe uma terapêutica curativa, sendo que o tratamento permanece sintomático, através de medidas farmacológicas e não farmacológicas, aliadas ao aconselhamento genético e disponibilidade de testes preditivos para informar as pessoas do risco associado.

O futuro da DMJ, a médio prazo, passa pela melhor elucidação da sua etiopatogenia, melhor entendimento do verdadeiro papel da ataxina-3 e desenvolvimento de tratamentos que possam travar ou modular a evolução da doença. A curto prazo, é importante aperfeiçoar o alívio sintomático destes doentes, melhorar a prestação de cuidados continuados e auxiliar na reorganização e readaptação da dinâmica familiar, pois esta doença, acarreta custos que têm implicações tanto financeiras como no espectro social e familiar.

Referências Bibliográficas

1. Rüb U, Brunt ER, Deller T. New insights into the pathoanatomy of spinocerebellar ataxia type 3 (Machado-Joseph disease). *Curr Opin Neurol*. 2008;21:111-6.
2. Ross CA. Intranuclear neuronal inclusions: a common pathogenic mechanism for glutamine repeat neurodegenerative diseases?. *Neuron*. 1997;19:1147-50.
3. Subramony SH. Ataxic Disorders. In: Bradley WG, Daroff RB, Fenichel G, Jankovic J, editors. *Neurology in Clinical Practice*. 5th ed. Philadelphia: Butterworth-Heinemann; 2008. p.285-291.
4. Coutinho P, Andrade C. Autosomal dominant system degeneration in Portuguese families of the Azores Islands. A new genetic disorder involving cerebellar, pyramidal, extrapyramidal and spinal cord motor functions. *Neurology*. 1978;28:703-9.
5. Nakano KK, Dawson DM, Spence A. Machado disease. A hereditary ataxia in Portuguese emigrants to Massachusetts. *Neurology*. 1972;22:49-55.
6. Rosenberg RN, Nyhan WL, Bay C, Shore P. Autosomal dominant striatonigral degeneration. A clinical, pathologic and biochemical study of a new genetic disorder. *Neurology*. 1976;26(8):703-14.
7. D'Abreu A, França MC Jr, Paulson HL, Lopes-Cendes I. Caring for Machado-Joseph disease: current understanding and how to help patients. *Parkinsonism Relat Disord*. 2010;16(1):2-7.
8. Maciel P, Gaspar C, DeStefano AL, et al. Correlation between CAG repeat length and clinical features in Machado-Joseph disease. *Am J Hum Genet*. 1995;57:54-61.
9. Kawaguchi Y, Okamoto T, Taniwaki M, et al. CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nat Genet*. 1994;8:221-8.
10. Bettencourt C, Lima M. Machado-Joseph disease: from first descriptions to new perspectives. *Orphanet J Rare Dis*. 2011;6:35.
11. Margolis RL. The spinocerebellar ataxias: order emerges from chaos. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2002;2:447-56.

12. Silva-Fernandes A, et al. Chronic treatment with 17-DMAG improves balance and coordination in a new mouse model of Machado-Joseph disease. *Neurother J Am Soc Exp Neurother*. 2014;11:433-49.
13. Paulson HL. Dominantly inherited ataxias: lessons learned from Machado-Joseph disease/spinocerebellar ataxia type 3. *Semin Neurol*. 2007;27(2):133-42.
14. Bettencourt C, Santos C, Kay T, Vasconcelos J, Lima M. Machado-Joseph disease pedigrees. *J Hum Genet*. 2008;53(10):920-3.
15. Woods BT, Schaumburg HH. Nigro-spino-dentatal degeneration with nuclear ophthalmoplegia. A unique and partially treatable clinico-pathological entity. *J Neurol Sci*. 1972;17:149-66.
16. Romanul FC, Fowler HL, Radvany J, Feldman RG, Feingold M. Azorean disease of the nervous system. *N Engl J Med*. 1977;296(26):1505-8.
17. Fowler HL. Machado-Joseph-Azorean disease. A ten-year study. *Arch Neurol*. 1984;41(9):921-5.
18. Takiyama Y, Nishizama M, Kawashima S, et al. The gene for Machado-Joseph disease maps to human chromosome 14q. *Nat Genet*. 1993;4:300-4.
19. Sequeiros J, Silveira I, Maciel P, Coutinho P and al. e. Genetic linkage studies of Machado-Joseph disease with chromosome 14q STRPs in 16 Portuguese-Azorean kindreds. *Genomics*. 1994;21:645-8.
20. Stevanin G, Le Guern E, Ravisé N, Chneiweiss H, Dürr A, Cancel G, et al. A third locus for autosomal dominant cerebellar ataxia type I maps to chromosome 14q24.3-qter: evidence for the existence of a fourth locus. *Am J Hum Genet*. 1994;54(1):11-20.
21. Maciel P, Costa MC, Ferro A, et al. Improvement in the molecular diagnosis of Machado-Joseph disease. *Arch Neurol*. 2001;58:1821-7.
22. Lima M, Coutinho P, Abade A, Vasconcelos J, Mayer FM. Causes of death in Machado-Joseph disease a case-control study in the Azores (Portugal). *Arch Neurol*. 1998;55:1341-4.

23. Jardim LB, Pereira ML, Silveira I, Ferro A, Sequeiros J, Giugliani R. Neurologic findings in Machado-Joseph disease: relation with disease duration, subtypes, and (CAG)_n. *Arch Neurol*. 2001;58:899-904.
24. Durr A, Stevanin G, Cancel G, et al. Spinocerebellar ataxia 3 and Machado-Joseph disease: clinical, molecular, and neuropathological features. *Ann Neurol*. 1996;39:490-9.
25. Lima L, Coutinho P. Clinical criteria for diagnosis of Machado-Joseph disease: report of a non-Azorean Portuguese family. *Neurology*. 1980;30:319-22.
26. Lima M, Smith MT, Silva C, Abade A, Mayer FM, Coutinho P. Natural selection at the MJD locus: phenotypic diversity, survival and fertility among Machado-Joseph disease patients from the Azores. *J Biosoc Sci*. 2001;33(3):361-73.
27. Rosenberg RN. Machado-Joseph disease: an autosomal dominant motor system degeneration. *Mov Disord*. 1992;7(3):193-203.
28. Buhmann C, Bussopulos A, Oechsner M. Dopaminergic response in parkinsonian phenotype of Machado-Joseph disease. *Mov Disord*. 2003;18(2):219-21.
29. Bettencourt C, Santos C, Coutinho P, et al. Parkinsonian phenotype in Machado-Joseph disease (MJD/SCA3): a two-case report. *BMC Neurol*. 2011;11:131.
30. Raposo M, Vasconcelos J, Bettencourt C, Kay T, Coutinho P, Lima M. Nystagmus as an early ocular alteration in Machado-Joseph disease (MJD/SCA3). *BMC Neurology*. 2014;14:17.
31. Schols L, Peters S, Szymanski S, et al. Extrapyrarnidal motor signs in degenerative ataxias. *Arch Neurol*. 2000;57:1495-500.
32. Lee WY, Jin DK, Oh MR, et al. Frequency analysis and clinical characterization of spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, 6, and 7 in Korean patients. *Arch Neurol*. 2003;60:858-63.
33. Pedroso JL, Braga-Neto P, Felicio AC, et al. Sleep disorders in Machado-Joseph disease: frequency, discriminative thresholds, predictive values, and correlation with ataxia-related motor and nonmotor features. *Cerebellum*. 2011;10:291-5
34. Iranzo A, Munoz E, Santamaria J, Vilaseca I, Mila M, Tolosa E. REM sleep behavior disorder and vocal cord paralysis in Machado-Joseph disease. *Mov Disord*. 2003;18:1179-83.

35. D'Abreu A, Franca M Jr, Conz L, et al. Sleep symptoms and their clinical correlates in Machado-Joseph disease. *Acta Neurol Scand.* 2009;119:277-80.
36. França MC Jr, D'Abreu A, Friedman JH, Nucci A, Lopes-Cendes I. Chronic pain in Machado-Joseph disease: a frequent and disabling symptom. *Arch Neurol.* 2007;64(12):1767-70.
37. Schmitz-Hubsch T, Coudert M, Giunti P, et al. Self-rated health status in spinocerebellar ataxia—results from a European multicenter study. *Mov Disord.* 2010;25:587-95.
38. França MC Jr, D'Abreu A, Nucci A, Lopes-Cendes I. Muscle excitability abnormalities in Machado-Joseph disease. *Arch Neurol.* 2008;65(4):525-9.
39. Yeh TH, Lu CS, Chou YH, Chong CC, Wu T, Han NH, et al. Autonomic dysfunction in Machado-Joseph disease. *Arch Neurol.* 2005;62(4):630-6.
40. Franca MC Jr, D'Abreu A, Nucci A, Lopes-Cendes I. Clinical correlates of autonomic dysfunction in patients with Machado-Joseph disease. *Acta Neurol Scand.* 2010;121:422-5.
41. Matos CA, de Macedo-Ribeiro S, Carvalho AL. Polyglutamine diseases: the special case of ataxin-3 and Machado-Joseph disease. *Prog Neurobiol.* 2011;95(1):26-48.
42. Balch WE, Morimoto RI, Dillin A, Kelly JW. Adapting proteostasis for disease intervention. *Science.* 2008;319:916-9.
43. Shimizu H, et al. Involvement of Onuf's nucleus in Machado-Joseph disease: a morphometric and immunohistochemical study. *Acta Neuropathol.* 2010;120:439-48.
44. Iwabuchi K, Tsuchiya K, Uchihara T and Yagishita S. Autosomal dominant spinocerebellar degenerations. Clinical, pathological, and genetic correlations. *Rev Neurol.* 1999;155:255-70.
45. Etchebehere EC, et al. Brain single-photon emission computed tomography and magnetic resonance imaging in Machado-Joseph disease. *Arch Neurol.* 2001;58:1257-63.
46. Klockgether T, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I. MRI-based volumetry of posterior fossa structures and basal ganglia in spinocerebellar ataxia types 1, 2 and 3. *Brain J Neurol.* 1998;121:1687-93.

47. Fahl CN, et al. Spinal cord damage in Machado-Joseph disease. *Cerebellum Lond Engl.* 2015;14:128-32.
48. Soong BW, Liu RS. Positron emission tomography in asymptomatic gene carriers of Machado-Joseph disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1998;64:499-504.
49. Wüllner U, et al. Dopamine transporter positron emission tomography in spinocerebellar ataxias type 1, 2, 3, and 6. *Arch Neurol.* 2005;62:1280-5.
50. D'Abreu A, França M, Appenzeller S, Lopes-Cendes I, Cendes F. Axonal dysfunction in the deep white matter in Machado-Joseph disease. *J Neuroimaging.* 2009;19:9-12.
51. Paulson HL, et al. Machado-Joseph disease gene product is a cytoplasmic protein widely expressed in brain. *Ann Neurol.* 1997;41:453-62.
52. Chai Y, Koppenhafer SL, Bonini NM, Paulson HL. Analysis of the role of heat shock protein (Hsp) molecular chaperones in polyglutamine disease. *J Neurosci.* 1999;19:10338-47.
53. Schmidt T, Landwehrmeyer GB, Schmitt I, et al. An isoform of ataxin-3 accumulates in the nucleus of neuronal cells in affected brain regions of SCA3 patients. *Brain Pathol.* 1998;8:669-79.
54. Coutinho P, Guimarães A, Melo Pires M, Scaravilli F. The peripheral neuropathy in Machado-Joseph disease. *Acta Neuropathol.* 1986;71:119-24.
55. Colding-Joergensen E, Sorensen SA, Sørensen SA, Hasholt L, Lauritzen M. Electrophysiological findings in a Danish Family with Machado-Joseph disease. *Muscle Nerve.* 1996;19:743-750.
56. Klockgether T, Schols L, Abele M, Burk K, Topka H, Andres F, et al. Age-related axonal neuropathy in spinocerebellar ataxia type 3/ Machado-Joseph disease (SCA3/MJD). *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1999;66:222-4.
57. Rubinsztein DC, et al. Sequence variation and size ranges of CAG repeats in the Machado-Joseph disease, spinocerebellar ataxia type 1 and androgen receptor genes. *Hum Mol Genet.* 1995;4:1585-90.
58. Munoz E, Rey MJ, Mila M, et al. Intranuclear inclusions, neuronal loss and CAG mosaicism in two patients with Machado-Joseph disease. *J Neurol Sci.* 2002;200:19-25.

59. Cummings CJ, Zoghbi HY. Fourteen and counting: unraveling trinucleotide repeat diseases. *Hum Mol Genet.* 2000;9:909-16.
60. Padiath QS, Srivastava AK, Roy S, Jain S, Brahmachari SK. Identification of a novel 45 repeat unstable allele associated with a disease phenotype at the MJD1/SCA3 locus. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet.* 2005;133B:124-6.
61. Gu W, et al. The shortest expanded allele of the MJD1 gene in a Chinese MJD kindred with autonomic dysfunction. *Eur Neurol.* 2004;52:107-11.
62. Ichikawa Y, Goto J, Hattori M, et al. The genomic structure and expression of MJD, the Machado-Joseph disease gene. *J Hum Genet.* 2001;46:413-22.
63. Bettencourt C, et al. Increased transcript diversity: novel splicing variants of Machado-Joseph disease gene (ATXN3). *Neurogenetics.* 2010;11:193-202.
64. Paulson HL, Fischbeck KH. Trinucleotide repeats in neurogenetic disorders. *Annu Rev Neurosci.* 1996;19:79-107.
65. Ikeda H, Yamaguchi M, Sugai S, Aze Y, Narumiya S, Kakizuka A. Expanded polyglutamine in the Machado-Joseph disease protein induces cell death in vitro and in vivo. *Nat Genet.* 1996;13:196-202.
66. Rüb U, Brunt ER, Petrasch-Parwez E, et al. Degeneration of ingestion-related brainstem nuclei in spinocerebellar ataxia type 2, 3, 6 and 7. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2006;32:635-49.
67. Williams AJ, Paulson HL. Polyglutamine neurodegeneration: protein misfolding revisited. *Trends Neurosci.* 2008;31:521-8.
68. Sequeiros J. General protocol of the national program of predictive testing and genetic counselling in Machado Joseph disease. *UnIGENE-IBMC.* 1996;33-48.
69. Paulson H. Spinocerebellar Ataxia Type 3. 1998 Oct 10 [Updated 2015 Sep 24]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1196/>

70. Sequeiros J, Maciel P, Taborda F, et al. Prenatal diagnosis of Machado-Joseph disease by direct mutation analysis. *Prenat Diagn.* 1998;18:611-7.
71. Boutte MI. Waiting for the family legacy: the experience of being at risk for Machado-Joseph disease. *Soc Sci Med.* 1990;30:839-47.
72. Drusedau M, Dreesen JC, De Die-Smulders C, et al. Preimplantation genetic diagnosis of spinocerebellar ataxia 3 by (CAG)(n) repeat detection. *Mol Hum Reprod.* 2004;10:71-5.
73. Boy J, et al. A transgenic mouse model of spinocerebellar ataxia type 3 resembling late disease onset and gender-specific instability of CAG repeats. *Neurobiol Dis.* 2010;37:284-93.
74. Alves S, et al. Striatal and nigral pathology in a lentiviral rat model of Machado-Joseph disease. *Hum Mol Genet.* 2008;17:2071-83.
75. Chou AH, Chen SY, Yeh TH, Weng YH, Wang HL. HDAC inhibitor sodium butyrate reverses transcriptional downregulation and ameliorates ataxic symptoms in a transgenic mouse model of SCA3. *Neurobiol Dis.* 2011;41:481-8.
76. Schmitt I, et al. Inactivation of the mouse *Atxn3* (ataxin-3) gene increases protein ubiquitination. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;362:734-39.
77. Ramani B, et al. A knockin mouse model of spinocerebellar ataxia type 3 exhibits prominent aggregate pathology and aberrant splicing of the disease gene transcript. *Hum Mol Genet.* 2015;24:1211-24.
78. Miller VM, Xia H, Marrs GL, et al. Allele-specific silencing of dominant disease genes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100:7195-200.
79. Alves S, Nascimento-Ferreira I, Auregan G, et al. Allele-specific RNA silencing of mutant ataxin-3 mediates neuroprotection in a rat model of Machado-Joseph disease. *PLoS One.* 2008;3:e3341.
80. Alves S, Nascimento-Ferreira I, Dufour N, et al. Silencing ataxin-3 mitigates degeneration in a rat model of Machado-Joseph disease: no role for wild-type ataxin-3?. *Hum Mol Genet.* 2010;19:2380-94.

81. Rodriguez-Lebron E, Costa M, Luna-Cancelon K, et al. Silencing mutant ATXN3 expression resolves molecular phenotypes in SCA3 transgenic mice. *Mol Ther.* 2013;21:1909-18.
82. Hu J, Matsui M, Gagnon KT, Schwartz JC, Gabillet S, Arar K, et al. Allelespecific silencing of mutant huntingtin and ataxin-3 genes by targeting expanded CAG repeats in mRNAs. *Nat Biotechnol* 2009;27(5):478-84.
83. Zhou J, Lei L, Liao X, Wang J, Jiang H, Tang B, et al. Related factors of ICARS and SARA scores on spinocerebellar ataxia type 3/Machado-Joseph disease. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2011;36(6):498-503.
84. Evers MM, et al. Ataxin-3 protein modification as a treatment strategy for spinocerebellar ataxia type 3: Removal of the CAG containing exon. *Neurobiol Dis.* 2013;58:49-56.
85. Weber JJ, Sowa AS, Binder T, Huebener J. From pathways to targets: Understanding the mechanisms behind polyglutamine disease. *BioMed Res Int* 2014;2014:1-22.
86. Stefani M. Protein misfolding and aggregation: New examples in medicine and biology of the dark side of the protein world. *Biochim Biophys Acta.* 2004;1739:5-25.
87. Silva SCD. Searching for therapeutic strategies in a mouse model of Machado-Joseph disease: targeting proteostases [PhD thesis]. Braga: Universidade do Minho; 2015.
88. Menzies FM, Huebener J, Renna M, Bonin M, Riess O and Rubinsztein DC. Autophagy induction reduces mutant ataxin-3 levels and toxicity in a mouse model of spinocerebellar ataxia type 3. *Brain.* 2010;133:93-104.
89. Nascimento-Ferreira I, Nobrega C, Vasconcelos-Ferreira A, et al. Beclin 1 mitigates motor and neuropathological deficits in genetic mouse models of Machado-Joseph disease. *Brain.* 2013;136:2173-88.
90. Hubener J, et al. Calpain-mediated ataxin-3 cleavage in the molecular pathogenesis of spinocerebellar ataxia type 3 (SCA3). *Hum Mol Genet.* 2013;22:508-18.
91. Haacke A, Hartl FU, Breuer P. Calpain inhibition is sufficient to suppress aggregation of polyglutamine-expanded ataxin-3. *J Biol Chem.* 2007;282:18851-6.
92. Yu YC, et al. Decreased Antioxidant Enzyme Activity and Increased Mitochondrial DNA Damage in Cellular Models of Machado-Joseph Disease. *J Neurosci Res.* 2009; 87:1884-91.

93. Butler R, Bates GP. Histone deacetylase inhibitors as therapeutics for polyglutamine disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2006;7:784-96.
94. Yi J, Zhang L, Tang B, et al. Sodium valproate alleviates neurodegeneration in SCA3/MJD via suppressing apoptosis and rescuing the hypoacetylation levels of histone H3 and H4. *PLoS One*. 2013;8:e54792.
95. Chen X, Tang TS, Tu H, et al. Deranged calcium signaling and neurodegeneration in spinocerebellar ataxia type 3. *J Neurosci*. 2008;28:12713-24.
96. Shakkotai VG, Costa Mdo C, Dell'Orco JM, Sankaranarayanan A, Wulff H, Paulson HL. early changes in cerebellar physiology accompany motor dysfunction in the polyglutamine disease, Spinocerebellar ataxia type 3. *J Neurosci*. 2011;31:13002-14.
97. Siska EK, Koliakos G, Petrakis S. Stem cell models of polyglutamine diseases and their use in cell-based therapies. *Front Neurosci*. 2015;9:247.
98. Schulte T, et al. Double-blind crossover trial of trimethoprim-sulfamethoxazole in spinocerebellar ataxia type 3/Machado-Joseph disease. *Arch Neurol*. 2001;58:1451-7.
99. Zesiewicz TA, et al. A randomized trial of varenicline (Chantix) for the treatment of spinocerebellar ataxia type 3. *Neurology*. 2012;78:545-50.
100. Saute JAM, et al. A randomized, phase 2 clinical trial of lithium carbonate in Machado-Joseph disease. *Mov Disord*. 2014;29:568-73.
101. Kieling C, et al. A neurological examination score for the assessment of spinocerebellar ataxia 3 (SCA3). *Eur J Neurol*. 2008;15:371-6.
102. Riess O, Rüb U, Pastore A, Bauer P, Schöls L. SCA3: neurological features, pathogenesis and animal models. *Cerebellum*. 2008;7(2):125-37.

Anexo I

<p>1) Gait</p> <p>Proband is asked (1) to walk at a safe distance parallel to a wall including a half-turn (turn around to face the opposite direction of gait) and (2) to walk in tandem (heels to toes) without support.</p> <ul style="list-style-type: none"> 0 Normal, no difficulties in walking, turning and walking tandem (up to one misstep allowed) 1 Slight difficulties, only visible when walking 10 consecutive steps in tandem 2 Clearly abnormal, tandem walking >10 steps not possible 3 Considerable staggering, difficulties in half-turn, but without support 4 Marked staggering, intermittent support of the wall required 5 Severe staggering, permanent support of one stick or light support by one arm required 6 Walking > 10 m only with strong support (two special sticks or stroller or accompanying person) 7 Walking < 10 m only with strong support (two special sticks or stroller or accompanying person) 8 Unable to walk, even supported 	<p>2) Stance</p> <p>Proband is asked to stand (1) in natural position, (2) with feet together in parallel (big toes touching each other) and (3) in tandem (both feet on one line, no space between heel and toe). Proband does not wear shoes, eyes are open. For each condition, three trials are allowed. Best trial is rated.</p> <ul style="list-style-type: none"> 0 Normal, able to stand in tandem for > 10 s 1 Able to stand with feet together without sway, but not in tandem for > 10s 2 Able to stand with feet together for > 10 s, but only with sway 3 Able to stand for > 10 s without support in natural position, but not with feet together 4 Able to stand for >10 s in natural position only with intermittent support 5 Able to stand > 10 s in natural position only with constant support of one arm 6 Unable to stand for > 10 s even with constant support of one arm 		
Score		Score	
<p>3) Sitting</p> <p>Proband is asked to sit on an examination bed without support of feet, eyes open and arms outstretched to the front.</p> <ul style="list-style-type: none"> 0 Normal, no difficulties sitting > 10 sec 1 Slight difficulties, intermittent sway 2 Constant sway, but able to sit > 10 s without support 3 Able to sit for > 10 s only with intermittent support 4 Unable to sit for >10 s without continuous support 	<p>4) Speech disturbance</p> <p>Speech is assessed during normal conversation.</p> <ul style="list-style-type: none"> 0 Normal 1 Suggestion of speech disturbance 2 Impaired speech, but easy to understand 3 Occasional words difficult to understand 4 Many words difficult to understand 5 Only single words understandable 6 Speech unintelligible / anarthria 		
Score		Score	
<p>5) Finger chase</p> <p>Rated separately for each side</p> <p>Proband sits comfortably. If necessary, support of feet and trunk is allowed. Examiner sits in front of proband and performs 5 consecutive sudden and fast pointing movements in unpredictable directions in a frontal plane, at about 50 % of proband's reach. Movements have an amplitude of 30 cm and a frequency of 1 movement every 2 s. Proband is asked to follow the movements with his index finger, as fast and precisely as possible. Average performance of last 3 movements is rated.</p> <ul style="list-style-type: none"> 0 No dysmetria 1 Dysmetria, under/ overshooting target <5 cm 2 Dysmetria, under/ overshooting target < 15 cm 3 Dysmetria, under/ overshooting target > 15 cm 4 Unable to perform 5 pointing movements 	<p>6) Nose-finger test</p> <p>Rated separately for each side</p> <p>Proband sits comfortably. If necessary, support of feet and trunk is allowed. Proband is asked to point repeatedly with his index finger from his nose to examiner's finger which is in front of the proband at about 90 % of proband's reach. Movements are performed at moderate speed. Average performance of movements is rated according to the amplitude of the kinetic tremor.</p> <ul style="list-style-type: none"> 0 No tremor 1 Tremor with an amplitude < 2 cm 2 Tremor with an amplitude < 5 cm 3 Tremor with an amplitude > 5 cm 4 Unable to perform 5 pointing movements 		

Score	Right	Left	Score	Right	Left
mean of both sides (R+L)/2			mean of both sides (R+L)/2		
7) Fast alternating hand movements Rated separately for each side Proband sits comfortably. If necessary, support of feet and trunk is allowed. Proband is asked to perform 10 cycles of repetitive alternation of pro- and supinations of the hand on his/her thigh as fast and as precise as possible. Movement is demonstrated by examiner at a speed of approx. 10 cycles within 7 s. Exact times for movement execution have to be taken. <ul style="list-style-type: none"> 0 Normal, no irregularities (performs <10s) 1 Slightly irregular (performs <10s) 2 Clearly irregular, single movements difficult to distinguish or relevant interruptions, but performs <10s 3 Very irregular, single movements difficult to distinguish or relevant interruptions, performs >10s 4 Unable to complete 10 cycles 			8) Heel-shin slide Rated separately for each side Proband lies on examination bed, without sight of his legs. Proband is asked to lift one leg, point with the heel to the opposite knee, slide down along the shin to the ankle, and lay the leg back on the examination bed. The task is performed 3 times. Slide-down movements should be performed within 1 s. If proband slides down without contact to shin in all three trials, rate 4. <ul style="list-style-type: none"> 0 Normal 1 Slightly abnormal, contact to shin maintained 2 Clearly abnormal, goes off shin up to 3 times during 3 cycles 3 Severely abnormal, goes off shin 4 or more times during 3 cycles 4 Unable to perform the task 		
Score	Right	Left	Score	Right	Left
mean of both sides (R+L)/2			mean of both sides (R+L) / 2		