



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR  
Ciências da Saúde

# **Ataxia de Friedreich Perspectivas de Tratamento**

**Martina Rocha**

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

Orientador: Dr. Francisco José Álvarez

**Covilhã, Maio de 2011**



# Dedicatória

*Aos meus pais, que são o meu pilar fundamental.*

*Obrigada pelo amor, paciência e compreensão.*

*O vosso sorriso cessou muitas lágrimas minhas.*

*Sem vocês não seria possível!!*



# Agradecimentos

É com profunda satisfação que chego ao fim de mais uma etapa da minha vida. Foram longos meses de trabalho, empenho e dedicação num percurso com várias alegrias e conquistas, mas também alguns obstáculos para superar. Não cheguei aqui sozinha. Expresso o meu sincero agradecimento a todas as pessoas que estiveram do meu lado ao longo deste caminho, cruciais para que este se tornasse mais leve.

Quero agradecer, antes de mais, ao meu orientador, Dr. Francisco José Álvarez, pela disponibilidade demonstrada desde o início, pelo incentivo nos momentos mais complicados, pela dedicação e pela serenidade ao longo de todas as fases que levaram à concretização deste trabalho.

Um bem-haja à Faculdade de Ciências da Saúde, aos professores e funcionários, por me permitirem aprender e crescer, qualificando-me para a realização deste trabalho.

Um obrigado muito especial:

À Doutora Ester Vargas, pela simpatia e apoio prestado.

Às minhas primas Paula e Dina, pela preocupação e disponibilidade incondicional demonstradas.

À Sandrina, pelo exemplo de vida que é, pela força e coragem que tem.

Àqueles amigos e amigas, sempre presentes ao longo do meu caminho. Obrigada pela amizade, companheirismo, pelos sorrisos, conselhos e todos os momentos partilhados. Sem vocês, eu seria muito mais pobre.

À minha querida família, também sempre presente, pelo amor, compreensão e apoio em todos os momentos. A ela lhe devo a pessoa que sou.



## Resumo

A ataxia de Friedreich é uma doença autossômica recessiva descrita pela primeira vez por Nikolaus Friedreich em 1863 [1]. Afecta aproximadamente um em cada 50 000 caucasianos. Manifesta-se no início da segunda década de vida, habitualmente com a ataxia da marcha. As mãos são afectadas meses ou anos após o envolvimento das pernas, seguindo-se a afecção do discurso. Outras características relevantes são: fraqueza muscular, cifoescoliose, miocardiopatia e diabetes [2]. Esta doença é causada por uma mutação no cromossoma 9, que resulta numa hiperexpansão do triplete GAA no primeiro intrão do gene X25. A consequência é o silenciamento do gene e um défice da proteína frataxina, uma proteína mitocondrial envolvida em diferentes mecanismos responsáveis pelo metabolismo do ferro, cujo défice provoca stress oxidativo [3, 4].

Várias medidas farmacológicas e não farmacológicas com o objectivo de travar a evolução, ou até mesmo curar a doença, foram testadas. Como tal, os objectivos deste estudo são: realizar uma revisão do estado da arte acerca da ataxia de Friedreich, nomeadamente da sua etiologia, epidemiologia, fisiopatologia, clínica e diagnóstico; sistematizar as possibilidades de tratamento já investigadas e acompanhar os ensaios clínicos mais recentes, examinando os seus resultados na progressão da doença.

A pesquisa bibliográfica foi realizada através das bases de dados: PubMed, e-medicine e o motor de busca Google Académico. Foram ainda consultados vários livros de referência. Esta pesquisa foi feita fundamentalmente em português e inglês. No final do trabalho, será incluída uma descrição de um caso clínico de ataxia de Friedreich.

Após uma investigação extensa e detalhada foi possível concluir que existem várias terapêuticas em estudo, quer com o objectivo de travar a evolução da doença, quer com intenção curativa, mas, até ao momento, nenhuma se mostrou suficientemente eficaz. Estas incluem, entre outras, agentes antioxidantes e agentes que aumentam a expressão genética da frataxina. Os melhores resultados obtidos em doentes foram com a idebenona, um antioxidante com efeito principalmente ao nível da cardiomiopatia e com os quelantes do ferro, cujos resultados foram positivos a nível neurológico. É possível aumentar os níveis de frataxina através de agentes estimulantes da eritropoiese, contudo sem melhorias clínicas. Actualmente, o efeito da terapia genética com restauração completa dos níveis de frataxina em culturas de células de doentes com ataxia de Friedreich tem sido estudado. Este tipo de terapêutica está a tornar-se a grande esperança para a cura desta doença.

## Palavras-chave

Ataxia de Friedreich, associada a: etiologia, epidemiologia, fenótipo, diagnóstico, tratamento, curso, prognóstico.



## Abstract

Friedreich's ataxia is an autosomal recessive disease first described in 1863 by Nikolaus Friedreich [1]. It affects approximately one in every 50,000 Caucasians. It manifests early, normally during the second decade of life, usually with gait ataxia. Hands are affected months or years after the involvement of the legs, followed by the involvement of speech. Other characteristics are: muscle weakness, kyphoscoliosis, cardiomyopathy and diabetes [2]. This disease is caused by a mutation on chromosome 9, resulting in hyperexpansion of the GAA triplet in the first intron of X25 gene. The consequence is the gene silencing and the deficit of frataxin, a mitochondrial protein involved in different mechanisms responsible for the metabolism of iron, and whose deficit leads to oxidative stress [3, 4].

Several pharmacological and nonpharmacological methods to stop the progression, or even cure the disease have already been tested. Having this context under mind, the aims of this study are to make a bibliographic review about Friedreich's ataxia, including its aetiology, epidemiology, physiopathology and diagnosis; to summarize the treatment possibilities that have been investigated; and to follow the latest clinical trials, examining their results in the progression of the disease.

The data research was performed using the databases: PubMed, e-medicine and the Scholar Google web search engine. Several books were also consulted as listed in the bibliographical references. This research was primarily in English and Portuguese. In the end of this work, a description of a case report for Friedreich's ataxia is included.

After an extensive and detailed research it was concluded that there are various therapies under study, either with the aim of stopping the progression of the disease, or with a curative intention, but none has proven to be sufficiently effective. These include, amongst others, antioxidants and agents that increase frataxin gene expression. The best results obtained in patients were with idebenone, an antioxidant drug with effects mainly on cardiomyopathy and with iron chelators, whose results were positive in the neurological function. It is possible to increase frataxin levels by erythropoiesis stimulating agents, but so far there are no clinical results. In the present, the effect of gene therapy with complete restoration of frataxin levels in cell cultures of patients with Friedreich's ataxia has been studied. This kind of therapy is becoming a great hope for curing this disease.

## Keywords

Friedreich's ataxia/aetiology, epidemiology, phenotype, diagnosis, treatment, course, prognosis.



# Índice

<b>Lista de Figuras</b>	xiv
<b>Lista de Tabelas</b>	xvi
<b>Lista de Acrónimos</b>	xviii
<b>1. Introdução</b>	1
<b>2. Metodologia</b>	1
<b>3. A ataxia de Friedreich</b>	2
3.1. Contextualização Histórica	2
3.2. Epidemiologia	3
3.3. Fisiopatologia	4
3.4. Bases genéticas	5
3.5. A frataxina	6
3.6. Semiologia	8
3.7. Diagnóstico	12
3.8. Escalas de avaliação	16
<b>4. Tratamento</b>	18
4.1. Tratamento com o objectivo de travar/curar a doença	18
4.1.1. Fármacos com interferência ao nível do stress oxidativo	18
4.1.1.1. Terapêutica combinada com coenzima Q <sub>10</sub> e vitamina E	18
4.1.1.2. Agonistas PPAR $\gamma$ (activador do receptor de proliferação peroxissomal gamma)	19
4.1.1.3. Idebenona	19
4.1.1.4. Quelantes do ferro	22
4.1.2. Agentes que pretendem aumentar a expressão genética da frataxina	23
4.1.2.1. Estimulantes da eritropoiese	25
4.1.2.2. Terapia genética	26
4.2. Outros	27
4.2.1. L-carnitina e creatina	27
4.2.2. 5-hidroxitriptofano	28
4.3. Tratamentos de suporte	28
4.4. O futuro	29
4.4.1. Células estaminais	29
4.4.2. Ensaio clínicos	30
<b>5. Exemplo de um caso clínico de ataxia de Friedreich</b>	31
5.1. Evolução	36
<b>Conclusão</b>	37
<b>Perspectivas futuras</b>	40

<b>Bibliografia</b>	41
<b>Anexos</b>	44



# Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Principais componentes da escala ICARS (International Cooperative Ataxia Rating Scale), para avaliação da ataxia de Friedreich	16
<b>Figura 2:</b> Principais componentes da escala FARS (Friedreich Ataxia Rating Scale), para a avaliação de doentes com ataxia de Friedreich.	17
<b>Figura 3:</b> Esquema representativo do modo de ação da idebenona como carregadora de electrões na cadeia respiratória mitocondrial.	20
<b>Figura 4:</b> Fotografia de uma doente com ataxia de Friedreich (cifoesciose dorsal)	32
<b>Figura 5:</b> Fotografia de uma doente com ataxia de Friedreich (cifose dorsal)	32
<b>Figura 6:</b> Fotografia de uma doente com ataxia de Friedreich (atrofia muscular dos membros inferiores)	33
<b>Figura 7:</b> Fotografia de uma doente com ataxia de Friedreich (pés cavus)	33
<b>Figura 8:</b> Raio X de tórax póstero-anterior de uma doente com ataxia de Friedreich	35



## Lista de Tabelas

<b>Tabela I:</b> Critérios de diagnóstico de Ataxia de Friedreich, estudados por Harding em 1981	9
<b>Tabela II:</b> Diagnóstico diferencial de ataxia de Friedreich	12
<b>Tabela III:</b> Diagnóstico diferencial de ataxia de Friedreich (continuação da tabela II)	13



## Lista de Acrónimos

<b>ADN</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>ARN</b>	Ácido Ribonucleico
<b>ARNm</b>	ARN mensageiro
<b>ATP</b>	Adenosina Trifosfato
<b>AVD</b>	Actividades da Vida Diária
<b>BAC</b>	Bacterial Artificial Chromosome, Cromossoma Bacteriano Artificial
<b>CpG</b>	Ligação de Citosina com Guanina através de fosfato
<b>FARS</b>	Friedreich Ataxia Rating Scale, Escala de Avaliação da Ataxia de Friedreich
<b>Fe-S</b>	Complexo ferro-enxofre
<b>FIM</b>	Funcional Independence Measure, Medida da Independência Funcional
<b>FXN</b>	Frataxina
<b>GAA</b>	Tripleto Guanina-Adenina-Adenina
<b>HDAC</b>	Histone Deacetylation, Desacetilação da Histona
<b>HSV1</b>	Herpes Simplex tipo 1
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrogénio
<b>ICARS</b>	International Cooperative Ataxia Rating Scale, Escala de Avaliação da Ataxia de Cooperação Internacional
<b>MBI</b>	Modified Barthel Index, Índice de Barthel Modificado
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	ião superóxido
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	Peroxisome Proliferator Activated Receptor-gamma, Ativador do Receptor de Proliferação Peroxisomal-gamma
<b>QI WAIS</b>	Wechsler Adult Intelligence Scale, Escala de Inteligência de Wechsler para o Adulto
<b>RM</b>	Ressonância Magnética
<b>SOD2</b>	Superóxido Dismutase 2
<b>SRF</b>	Sérum Response Factor
<b>TC</b>	Tomografia Computorizada
<b>TFAP 2</b>	Transcription Factor AP2, Factor de Transcrição AP2
<b>TNF</b>	Factor de Necrose Tumoral
<b>Tn7</b>	Elemento de Transposição 7
<b>YAC</b>	Yeast Artificial Chromosome, Cromossoma Artificial de Leveduras
<b>5-HT</b>	5-hidroxitriptofano



# 1. Introdução

A ataxia de Friedreich é uma doença degenerativa, autossômica recessiva que afecta aproximadamente um em cada 50 000 caucasianos. Manifesta-se no início da segunda década de vida e, cerca de 10 a 15 anos depois, os doentes perdem a capacidade deambulatória. Habitualmente a ataxia da marcha é o sintoma inicial. As mãos serão afectadas meses ou anos após o envolvimento das pernas, seguindo-se posteriormente, a afecção do discurso. Outras características relevantes da doença são: fraqueza muscular, cifoescoliose, deformidades dos pés, cardiomiopatia e diabetes, que afecta cerca de 10% dos doentes [1, 2].

A mutação que causa ataxia de Friedreich localiza-se no cromossoma 9 e resulta numa hiperexpansão do triplete GAA no primeiro intrão do gene FXN (gene da frataxina), tendo como consequência um défice da referida proteína. A frataxina é uma proteína mitocondrial que está envolvida no metabolismo do ferro, cujo défice causa acumulação de ferro e, consequentemente, stress oxidativo [3-5].

Após vários ensaios clínicos ao longo dos anos com o objectivo de travar a evolução da doença, ainda não existem terapias efectivas estabelecidas. Como tal, os objectivos deste trabalho são, em primeira linha, a realização de uma revisão do estado da arte acerca da ataxia de Friedreich, nomeadamente ao nível da sua etiologia, epidemiologia, fisiopatologia, apresentação clínica e diagnóstico, bem como a sistematização das possibilidades de tratamento, em investigação acompanhando os ensaios clínicos mais recentes e examinando os seus resultados.

## 2. Metodologia

A metodologia utilizada foi uma pesquisa bibliográfica exhaustiva das informações mais actuais existentes nas bases de dados PubMed, e-medicine e no motor de busca Google Académico. Foram ainda utilizados alguns livros de referência e algumas publicações listadas nos artigos obtidos. A pesquisa foi feita fundamentalmente em português e em inglês, com as seguintes palavras-chave: “ataxia de Friedreich”, combinada com as palavras: “etiologia”, “epidemiologia”, “fenótipo”, “diagnóstico”, “tratamento”, “curso” e “prognóstico”. Foi também realizado um acompanhamento dos ensaios clínicos sobre a doença no portal do “clinical trials”. No final do trabalho será apresentado um caso clínico de ataxia de Friedreich. Para tal, foi obtido o consentimento através do documento que se encontra em anexo.

## 3. A ataxia de Friedreich

### 3.1. Contextualização histórica

Nikolaus Friedreich nasceu em 1825 em Würzburg, na Alemanha, neto de Nikolaus Anton Friedreich (1761-1836) e filho de Johannes Baptist Friedreich (1796-1862), ambos professores no curso de Medicina em Würzburg. Nessa mesma cidade, em 1844, iniciou o curso de Medicina que concluiu em 1850 [6, 7]. Dedicou-se à Anatomia Patológica após ter conhecido Virchow, tendo mesmo ponderado o abandono da Medicina em favor da Patologia. Virchow mudou-se para Berlim em 1857. Aí, Friedreich tornou-se Professor de Anatomia Patológica em Würzburg [7]. No ano de 1858, foi nomeado Director da disciplina de Patologia e Terapia e Director da clínica médica em Heidelberg, onde permaneceu o resto da sua vida [6, 7].

Friedreich dedicou-se sobretudo ao estudo das doenças do Sistema Nervoso e ensinou vários médicos, entre eles: Kussmaul, Friedreich Schultze e Wilhelm Erb, que o sucedeu na disciplina de Patologia e Terapêutica em Heidelberg, no ano de 1882. Um dos seus primeiros trabalhos neste campo teve como objectivo o estudo da atrofia muscular progressiva, que dedicou ao seu professor Virchow. Iniciou as suas observações, em 1850, no âmbito da ataxia. Fazia recolhas de histórias clínicas pormenorizadas e exames físicos com extrema precisão, discutindo os casos dos doentes com os colegas [6]. Gradualmente descobriu que estes doentes não sofriam de uma ataxia do aparelho locomotor, já descrita por Duchenne, mas sim de uma nova forma de ataxia clássica, tendo apresentado estes dados pela primeira vez num encontro em Speyer, na Alemanha, no ano de 1861 [6, 8].

Esta nova forma de ataxia foi pela primeira vez descrita em 1863 e foi caracterizada clinicamente como ataxia e patologicamente como “atrofia degenerativa dos cordões posteriores da medula espinal” [1].

Friedreich concluiu que a doença tinha início nos membros inferiores, afectando mais tarde os superiores. A disartria surgia depois, acompanhada por vezes de nistagmus e escoliose. A perda da sensibilidade dos membros inferiores aparecia apenas após vários anos de doença. Mencionou ainda uma marcada degeneração do músculo cardíaco, tendo associado a esta alteração uma tendência para a falência cardíaca [1].

Esta descoberta não foi desde logo aceite pela comunidade científica, que a tentou adaptar a algumas doenças já conhecidas, entre elas, a esclerose múltipla e tabes dorsalis. Para comprovar os seus dados, Friedreich apresentou evidências anatomo-patológicas encontradas nas colunas dorsais da medula espinal. Desde então vários médicos se dedicaram ao estudo deste diferente tipo de ataxia [6].

Em 1882, o nome Friedreich foi associado a esta nova entidade [6, 8]. Contudo, a doença apenas foi comprovada como uma forma hereditária de ataxia independente, após o trabalho de Charcot em 1884 [6].

### 3.2. Epidemiologia

A ataxia de Friedreich é a forma mais comum de ataxia hereditária autossómica recessiva e afecta aproximadamente um em cada 50 000 caucasianos [2]. Em Portugal existem 103 casos desta doença distribuídos por 80 famílias [9].

A sua prevalência é maior na Europa Ocidental, Índia e Norte de África. As alterações genéticas características desta doença são praticamente inexistentes nas populações asiáticas e restante população africana [10-12]. A frequência da doença parece diminuir do Sul para o Nordeste Europeu, sendo que as taxas de prevalência estimadas vão desde 4,2/100 000 na França, a 3,1/100 000 na Alemanha e a 0,13/100 000 na Finlândia. Análises genéticas sugerem a passagem do alelo através das populações da Europa Ocidental entre 9 000 a 24 000 anos atrás, o que coincide com o período glacial Europeu. Nesta altura, as populações viviam em pequenos aglomerados distantes uns dos outros, o que favoreceu a persistência do respectivo alelo [11].

A doença manifesta-se no início da segunda década de vida. Em cerca de um quarto dos doentes, antes dos 25 anos [10]. Existem, menos frequentemente, casos de início da doença depois dos 25 anos (ataxia de Friedreich de início tardio) e ainda depois dos 40 anos de idade (ataxia de Friedreich de início muito tardio) [10, 13, 14].

A perda da capacidade deambulatória ocorre habitualmente entre 10 a 15 anos após o início dos primeiros sintomas. Nesta altura, o doente irá necessitar da ajuda de uma cadeira de rodas para se deslocar. Deste modo, a doença acarreta um elevado grau de morbilidade associada [10, 11].

Na generalidade, a mortalidade devido à ataxia de Friedreich é bastante variável, podendo ocorrer desde 21 aos 69 anos de idade [2]. Apesar da esperança de vida desta doença se encontrar reduzida, há casos de doentes que sobreviverem até à sétima ou oitava décadas de vida [11].

### 3.3. Fisiopatologia da ataxia de Friedreich

A neuropatologia da ataxia de Friedreich é específica desta doença: neuropatia dos gânglios dorsais acompanhada de perda das fibras sensoriais nos nervos periféricos e degeneração das colunas posteriores da medula espinal, resultando na perda do sentido da propriocepção e abolição dos reflexos [10]. Verifica-se, deste modo, uma desmielinização das fibras nervosas que leva, conseqüentemente, a uma diminuição do número das mesmas [15].

A degeneração das fibras sensoriais, dos cordões posteriores Goll e Burdach e das células ganglionares é um achado constante. Também é comum a existência de degeneração das vias anteriores, embora em menor grau. Este processo é acompanhado por gliose fibrosa [15].

A medula espinal e os cordões posteriores tornam-se mais finos macroscopicamente devido à perda das fibras. Esta degeneração é responsável pela perda da sensibilidade vibratória, da propriocepção e por ataxia sensorial. A perda de neurónios ao nível dos gânglios dorsais da medula espinal leva à extinção dos reflexos tendinosos. A via corticoespinal é relativamente poupada apenas até à junção cervicomedular. A partir deste ponto, surge severamente degenerada, sendo que esta degeneração é cada vez maior à medida que se desce a medula espinal. Verifica-se ainda uma perda severa de neurónios ao nível da coluna de Clarke [15].

As lesões cerebrais são mais variáveis. O núcleo dentado exhibe uma perda moderada de neurónios e os pedúnculos cerebelares médio e superior têm um tamanho reduzido. Verifica-se ainda uma perda das células de Purkinje no vermis superior do cerebelo e dos neurónios na porção correspondente do núcleo olivar inferior. O núcleo dentado apresenta habitualmente uma perda celular severa. O sistema vestibular e auditivo também são afectados, pelo que se verifica um aumento da gliose nestes locais, principalmente ao nível dos núcleos: vestibular médio, coclear e olivar superior [15].

A perda de fibras ao nível das vias ópticas também é um achado frequente e, em casos severos, é acompanhada por perda de células nos corpos geniculados laterais [15].

Os núcleos dos nervos cranianos VII, X e XII, também exibem redução do número de células, resultando em fraqueza dos músculos da mímica facial, dificuldades no discurso e na deglutição. O globo pálido e os núcleos subtalâmicos também são afectados, no entanto, o núcleo estriado, o tálamo e a substância negra são poupados. O córtex cerebelar encontra-se habitualmente inalterado [15].

A ataxia de Friedreich tem ainda repercussões a nível cardíaco, verificando-se uma miocardite crónica intersticial, na qual as fibras musculares do miocárdio sofrem hipertrofia e

perdem as estrias, o núcleo torna-se hipercromático e ocasionalmente apresenta vacúolos, o citoplasma tem aparência granular e apresenta frequentemente deposição de lipofuscina. Posteriormente as células degeneram e são substituídas por macrófagos e fibroblastos. Além das consequências a nível cardíaco, estas alterações podem levar a complicações cerebrais, nomeadamente resultantes de hipoxia e da formação de êmbolos [15].

A cifoescoliose apresentada pelos doentes é secundária à assimetria dos músculos paravertebrais [15].

### 3.4. Bases genéticas

A alteração que causa a ataxia de Friedreich resulta de uma mutação localizada no primeiro intrão do gene X25 do cromossoma 9, região 9q13. Esta mutação é instável, pelo que se traduz numa hiperexpansão do triplete GAA (guanina-adenina-adenina), que leva à formação de GAA•TTC repetidamente no gene [4, 16].

Os genes que não são transcritos numa determinada célula em particular formam heterocromatina altamente condensada e inactiva. Em contraste, as regiões transcricionalmente activas do ADN apresentam uma estrutura menos condensada. Parte desse processo deve-se à modificações das histonas. É desta forma que em células diferentes se expressam genes diferentes, através deste mecanismo de silenciamento genético. A expansão destes tripletos GAA, altera a conformação do ADN, que causa silenciamento genético, pois interfere com o processamento do ARN, tendo como consequência uma diminuição do ARN mensageiro (ARNm) e perda da função do gene X25. [17]. Da sequência deste gene é codificada uma proteína de 210 aminoácidos, a frataxina. Devido a este processo, os doentes com ataxia de Friedreich têm níveis diminuídos desta proteína [5].

A frataxina tem um papel preponderante a nível mitocondrial, nomeadamente em mecanismos que envolvem o metabolismo do ferro [4]. Todos os doentes têm um nível mínimo desta proteína, pois, quando tal não se verifica, o desenvolvimento embrionário fica impossibilitado, o que demonstra o papel fulcral da frataxina [10].

A grande maioria dos doentes (mais de 95%) são homocigóticos para esta mutação, tendo um alelo de origem materna e outro de origem paterna (não necessariamente do mesmo tamanho), sendo que ambos os progenitores são heterocigóticos (portadores assintomáticos). Os restantes indivíduos apresentam apenas um alelo com expansão do trinucleótido GAA e o outro com uma mutação missense do gene X25, designada de mutação pontual. Alguns exemplos desta mutação são: transverso timina→guanina, que substitui o códon de leucina

por um codão de terminação (L106X), substituição de isoleucina por fenilalanina (I154F), transversão guanina→timina que resulta na substituição de valina por glicina (G130V) e ainda uma transição adenina→guanina no final do terceiro intrão do gene. Devido a esta característica, estes doentes são considerados heterozigóticos compostos, pois têm um alelo expandido e outro com uma mutação distinta ou pontual. Foi ainda demonstrado que, enquanto a expansão de GAA se traduz numa diminuição do ARNm, a mutação missense não está associada a essa redução, pelo que esta forma de ataxia tem manifestações clínicas mais leves [5, 18].

Nos alelos que sofrem esta expansão, o número de repetições do triplete GAA varia entre 200 a mais de 900 unidades, sendo que os indivíduos normais apenas têm entre 7 a 22. Podem ainda ser encontradas repetições de 30 a 40 tripletos em indivíduos saudáveis [5]. Foi, no entanto, detectado um caso de Ataxia de Friedreich num doente com 66 repetições do triplete GAA, o que sugere o início da doença com menos repetições do que as 200 que estavam postuladas anteriormente [19].

O tamanho da referida expansão afecta o fenótipo da doença. Esta influência é feita particularmente através do alelo com a mutação de menor comprimento [16, 20].

A ataxia de Friedreich não se manifesta nem tem a mesma gravidade e rapidez de progressão em todos os indivíduos. Perante isto, foi demonstrado que quanto maior o comprimento da expansão do triplete GAA, menor o tempo de aparecimento dos sintomas (tal será aprofundado posteriormente). Foi ainda demonstrado que o comprimento da expansão de GAA não explica totalmente a variabilidade fenotípica encontrada na doença, o que leva a crer que outros factores, nomeadamente genéticos e/ou ambientais possam exercer influência [14, 21].

### **3.5. A frataxina**

A frataxina é uma pequena proteína mitocondrial existente em todos os organismos eucarióticos. Tal como foi já referido, todos os doentes têm um nível mínimo de proteína, pois quando isto não se verifica, o desenvolvimento embrionário fica impossibilitado [10]. Esta proteína está presente em todos os tecidos humanos, com maior prevalência no tecido cardíaco, nervoso, no fígado, músculo esquelético e pâncreas, o que leva a que o mosaïcismo somático seja outra das características da ataxia de Friedreich [5].

A função desta proteína é sugerida pelas manifestações clínicas da doença e anormalidades bioquímicas.

A frataxina está envolvida em diferentes mecanismos intracelulares que envolvem o metabolismo do ferro: desde a síntese do heme, à formação de complexos Fe-S (complexos ferro-enxofre), contemplando também uma função: antioxidante, de ligação e de armazenamento do ferro. Ela liga-se directamente a este através dos aminoácidos glutamato e aspartato, expostos na sua superfície, sugerindo uma função semelhante à ferritina (“ferritin-like protein”) [3, 22].

Foi descoberta uma associação entre a diminuição de frataxina e o défice de ligações Fe-S, sugerindo o envolvimento desta proteína na formação dos respectivos complexos. Estes funcionam como grupos prostéticos de diversas enzimas envolvidas em variadas funções, tais como: metabolismo energético (a nível da cadeia respiratória), metabolismo do ferro, síntese de purinas e reparação do ADN. O fluxo e a distribuição intracelular do ferro estão alterados na deficiência de frataxina. Como tal, vai haver um aumento do ferro acumulado no interior da mitocôndria devido à sua deficiente utilização para a formação de complexos Fe-S [3].

Foram estudados os níveis sanguíneos das enzimas antioxidantes em doentes com ataxia de Friedreich e concluiu-se que estes se encontravam em quantidades diminuídas [23]. As células com níveis diminuídos de frataxina, estão mais propensas a sofrer stress oxidativo, apresentando uma maior sensibilidade ao peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ). Como foi já referido, os complexos Fe-S intervêm no metabolismo energético ao nível da cadeia respiratória (transferência de electrões). Devido às alterações existentes na célula, haverá uma diminuição da actividade da cadeia respiratória e, em consequência, esta perde electrões prematuramente. Em condições normais, a molécula de oxigénio ( $O_2$ ) age como molécula aceitadora de electrões na cadeia respiratória, sendo reduzido a uma molécula de água ( $H_2O$ ). Nestas células, estes electrões vão ligar-se a moléculas de  $O_2$  formando o superóxido  $O_2^-$ . Posteriormente, a enzima superóxido dismutase 2 (SOD2) vai catalizar a reacção de dismutação do  $O_2^-$  em  $H_2O_2$  ( $2 O_2^- + 2 H_2O \rightarrow O_2 + H_2O_2 + 2 OH^-$ ). O peróxido de hidrogénio é um poderoso oxidante e necessita de ser rapidamente eliminado da célula. Uma das formas de eliminação é através da Reacção de Fenton, uma reacção onde entra um metal, neste caso o ferro, uma vez que este se encontra aumentado na célula. O radical livre hidroxil é um dos produtos desta reacção. Este irá provocar danos a nível das proteínas, lípidos e ácidos nucleicos [3].

Em suma, na ataxia de Friedreich há um aumento do stress oxidativo, pois o défice de frataxina provocado pelo silenciamento genético, tem como consequência um aumento de ambos os reagentes da Reacção de Fenton: o  $H_2O_2$  devido à diminuição da actividade da cadeia respiratória e o ferro por deficiente formação de complexos Fe-S. Como tal, haverá maior formação do radical hidroxil, que provoca variados danos celulares [3].

Foi ainda demonstrado um aumento dos factores pró-apoptóticos, tais como a caspase 1 e o factor de necrose tumoral (TNF), pelo que as células com deficiência de frataxina estão mais sujeitas ao processo de morte celular programada [22].

O gene da frataxina expressa-se fundamentalmente no tecido cardíaco, em níveis intermédios no fígado, no músculo esquelético e no pâncreas. No que respeita ao tecido nervoso, este expressa-se com maior intensidade na medula espinal, com intensidade intermédia no cerebelo e baixos níveis no córtex cerebral. A expressão do gene é mais elevada nos tecidos primariamente afectados pela doença. Isto explica a especificidade do envolvimento patológico desta doença e também a sua variabilidade inter-individual [5, 24].

### 3.6. Semiologia

Devido ao facto da ataxia de Friedreich ser uma doença progressiva, muitas das manifestações não surgem nos primeiros anos da doença. Além disso, nem todos os indivíduos apresentam o mesmo quadro clínico. Como tal, houve necessidade de sistematizar os critérios clínicos de diagnóstico da doença. Harding, após estudos intensivos, apresentou esses mesmos critérios, que ainda hoje são utilizados (Tabela 1) [2].

Segundo Harding, para o diagnóstico de ataxia de Friedreich, o seu início deve ser antes do final da puberdade (nunca depois dos 25 anos), a presença de ataxia progressiva da marcha e dos membros inferiores, que com o passar do tempo, levará à necessidade do uso de cadeira de rodas (idade média:  $25,14 \pm 15,5$  anos, sendo que aos 44 anos de idade, mais de 95% dos doentes perderam a capacidade da marcha) e a ausência de reflexos osteotendinosos nos membros inferiores. Cinco anos após o diagnóstico, praticamente todos os pacientes apresentam disartria, sinais de disfunção da via piramidal nos membros inferiores e perda das sensibilidades vibratória e proprioceptiva. As anormalidades musculoesqueléticas também são comumente encontradas, tais como escoliose (a mais comum, contribuindo para o aparecimento de doença pulmonar restritiva), deformidades dos pés (pés cavus) e amiotrofia dos membros inferiores. Outras características menos comuns são a presença de nistagmus, atrofia do nervo óptico e hipoacusia [2]. As alterações que levam aos défices na capacidade de percepção do discurso são apenas a nível central [25].

As principais características não neurológicas da doença são: a diabetes tipo 2 (cerca de 10% dos casos) e a cardiomiopatia. Estas são as maiores causas de morbidade e mortalidade da ataxia de Friedreich [2].

Tabela I: Critérios de diagnóstico de Ataxia de Friedreich, estudados por Harding em 1981 [2].

Essenciais	Início antes dos 25 anos Ataxia progressiva da marcha e dos membros Ausência de reflexos nos membros inferiores
5 anos após o diagnóstico	Disartria Sinais de disfunção da via piramidal nos membros inferiores Perda das sensibilidades vibratória e proprioceptiva
Adicionais (mais de 66% dos casos)	Escoliose Anormalidades no ECG (inversão da onda T, traçados correspondentes a hipertrofia ventricular direita ou esquerda, extrassístoles ventriculares ou supraventriculares)
Outras (menos de 50% dos casos)	Nistagmus Atrofia óptica Hipoacúsia Amiotrofia distal Pés cavus Diabetes

Habitualmente o primeiro sintoma que sugere ataxia de Friedreich é a ataxia da marcha. Mais raramente, pode ter início brusco após uma doença febril e resultar num padrão hemiplégico, no qual um dos membros inferiores apresenta movimentos mais instáveis que o outro. Os doentes mantêm-se de pé, com os pés afastados, numa tentativa de manter o equilíbrio. Durante a marcha, os movimentos das pernas são bruscos, os pés tocam no chão de modo irregular e desigual, tendo base alargada e sinal de Romberg positivo. Existe, em alguns casos, um tremor rítmico da cabeça [2, 8]. Os membros superiores são afectados alguns meses ou anos após o envolvimento dos membros inferiores, manifestando tremor de acção e de intenção. Posteriormente, surge a afecção do discurso, que no início é lento, acabando por se tornar incompreensível com a progressão da doença. Podem ocorrer situações em que os doentes se engasgam devido à descoordenação do discurso com a respiração e a deglutição. A disfagia para líquidos surge nas fases mais avançadas da doença [8, 10].

Os reflexos osteotendinosos, como foi referido, estão abolidos, mas podem estar presentes em fases precoces da doença. Os doentes manifestam reflexos plantares em extensão e os reflexos abdominais estão preservados até às fases mais avançadas da mesma [2, 8, 10].

Uma característica relevante desta doença, tal como foi já referido, é a cardiomiopatia. Esta é habitualmente assintomática, sendo que a incidência de sinais e sintomas cardíacos é mais

baixa do que os achados electrocardiográficos. Neste exame podem ser registadas alterações da onda T (inversão), traçados correspondentes a hipertrofia ventricular direita ou esquerda e extrasístoles ventriculares ou supraventriculares. Os distúrbios de condução com disritmias são raros. Os achados mais frequentes à ecografia são: a hipertrofia ventricular e diminuição da fracção de ejeção [2, 26]. As fibras do miocárdio tornam-se hipertróficas e muitos doentes morrem devido a arritmias ou insuficiência cardíaca congestiva [8]. Foi verificada uma correlação entre a severidade do envolvimento neurológico com a severidade da hipertrofia cardíaca [26].

As funções cognitivas são, na generalidade, preservadas. Contudo, podem verificar-se algumas alterações [10]. Foi constatado que os doentes com Ataxia de Friedreich apresentam défices de atenção e memória de trabalho. Esses défices afectam a vida dos mesmos, mas são independentes das dificuldades motoras características da doença. Foi ainda demonstrada uma relação positiva entre o comprimento da expansão GAA e a gravidade dos défices, o que comprova o efeito prejudicial da diminuição dos níveis de frataxina no desenvolvimento do cérebro e na função cognitiva [27]. No que respeita à labilidade emocional, em casos raros, pode ser proeminente [8].

Foram estudadas quatro manifestações clínicas, nomeadamente: o tempo desde o diagnóstico da doença até ao aparecimento da cardiomiopatia, da escoliose, a perda da capacidade deambulatória e da independência para as actividades da vida diária. Estas foram relacionadas com três variáveis: idade de início dos sintomas, idade de diagnóstico da doença e comprimento da expansão do triplete GAA. A idade do diagnóstico mostrou um maior valor preditivo em relação à idade de início dos sintomas, uma vez que esta última tem uma avaliação subjectiva, pois depende da interpretação que o doente faz dos mesmos. Foi encontrada uma forte relação entre a idade de diagnóstico e as quatro manifestações clínicas estudadas, de modo que quanto mais tarde a doença é diagnosticada, maior é o tempo até ao aparecimento das referidas manifestações. No que respeita ao comprimento da mutação, como foi já referido, esta tem uma relação inversa com as mesmas (quanto maior o comprimento, menor o tempo de aparecimento dos sintomas). Apesar da relação encontrada entre o comprimento da mutação e as manifestações clínicas, a idade do diagnóstico tem um maior valor preditivo acerca da progressão da doença [21].

Desde a descoberta de que é a expansão GAA, no gene da proteína frataxina, que causa ataxia de Friedreich, vários casos da doença têm sido diagnosticados, o que levou à conclusão de que o espectro clínico da doença é bem mais amplo do que o foi previamente reconhecido [5, 20].

Apesar da alta especificidade dos critérios de Harding (90%) [11], cerca de 25% dos doentes com a referida mutação, não satisfazem pelo menos um dos critérios classificados como essenciais para o diagnóstico [20]. Como tal, foram incluídas no diagnóstico, a ataxia de

Friedreich de início tardio (dos 25 aos 39 anos), de início muito tardio (início após os 40 anos), ataxia com manutenção dos reflexos osteotendinosos nos membros inferiores e a forma Acadiana [13, 14, 20, 28]. Relativamente à primeira forma de ataxia, esta manifesta-se de um modo mais leve e tem uma progressão mais lenta. Foi demonstrada uma diminuição das anormalidades registadas no electrocardiograma, da severidade da escoliose, da incidência de distúrbios dos esfíncteres e um aumento da ocorrência de espasticidade dos membros inferiores e preservação dos reflexos. Há contudo a referir a presença de atrofia cerebelar, mais proeminente no vermis, que não é característica da forma típica desta ataxia [13]. No que respeita à ataxia de Friedreich de início muito tardio, esta partilha a maioria das características da forma clássica, excepto a ausência de disartria e progressão mais lenta. Comparativamente com a ataxia de início tardio, na qual a incidência de anormalidades electrocardiográficas é menor, a cardiomiopatia está presente [14]. Outro critério essencial para o diagnóstico de ataxia de Friedreich é a ausência de reflexos osteotendinosos nos membros inferiores. Verifica-se contudo, a existência da mutação característica desta doença em doentes com manutenção dos reflexos nos membros inferiores. Estes podem mesmo estar hiperactivos. Outras características deste tipo de ataxia são: a ausência de cardiomiopatia e de atrofia óptica, o aumento do tempo entre o diagnóstico e a perda da capacidade da marcha (dependência de cadeira de rodas) e, tal como na ataxia de Friedreich de início tardio, a presença de atrofia cerebelar [20, 28]. A forma Acadiana desta doença manifesta-se de um modo mais leve, tem início tardio (entre os 38 e os 45 anos) e a evolução é mais lenta [14, 15].

Todas as características descritas da doença são referentes aos doentes homozigóticos recessivos que compõem cerca de 95% dos casos. Menos de 5% são heterozigóticos compostos. Estes têm características fenotípicas ligeiramente diferentes dos anteriores. Apesar de a doença se manifestar mais precocemente (início da adolescência), esta tem uma progressão lenta, pelo que os doentes com 40 ou 50 anos de idade não são dependentes de cadeira de rodas para se deslocarem, a ataxia é mais leve e não manifestam disartria nem cardiomiopatia [18].

Na generalidade, a idade média de morte devido a esta doença é bastante variável, podendo ir dos 21 aos 69 anos de idade [2].

### 3.7. Diagnóstico

Existem várias doenças que causam ataxia progressiva de início precoce com um percurso crônico. Estas devem ser distinguidas da ataxia de Friedreich (tabelas II e III). Uma histórica clínica completa e detalhada com estudos apropriados deve primariamente excluir causas tóxicas, metabólicas, doenças imunitárias ou síndromes paraneoplásicas.

Tabela II: Diagnóstico diferencial de ataxia de Friedreich - caracterização de acordo com idade de início habitual da doença, presença ou ausência de atrofia cerebelar e de sinais piramidais. Adaptado das referências [11, 29].

Doença	Característica		
	Idade de início habitual	Atrofia cerebelar	Sinais piramidais
Ataxia de Friedreich	<20 anos	Presente nos casos avançados	Frequentes
Ataxia com deficiência de vit. E	<20 anos	Presente ocasionalmente	Ausentes
Ataxia com apraxia oculomotora tipo 1	<7 anos	Presente	Ausentes
Ataxia com apraxia oculomotora tipo 2	10-22 anos	Presente	Presentes ocasionalmente
Ataxia espástica autossômica recessiva de Charlevoix-Saguenay	12-18 meses	Presente	Presentes
Charcot-Marie-tooth tipos 1 e 2	Infância	Ausente	Ausente
Ataxia espinocerebelar com neuropatia axonal	<20 anos	Presente	Ausente

Tabela III: Diagnóstico diferencial de ataxia de Friedreich (continuação da tabela II). Caracterização de acordo com a presença ou ausência de cardiomiopatia, outros sinais e sintomas de cada uma das doenças e o gene afectado nas mesmas, adaptado das referências [11, 29].

Doença	Característica		
	Outros sinais e sintomas	Cardiomiopatia	Gene afectado
Ataxia de Friedreich	Cifoesciose, pés cavus, atrofia óptica, diabetes mellitus, hipoacúsia	Presente	X25
Ataxia com deficiência de vit. E	Movimentos involuntários da cabeça para manter a posição, distonia, retinopatia	Ausente	TTPA
Ataxia com apraxia oculomotora tipo 1	Apraxia oculomotora, coreia, distonia, diminuição da albumina e aumento dos níveis de colesterolémia	Ausente	APT X
Ataxia com apraxia oculomotora tipo 2	Apraxia oculomotora, coreia, tremor, alterações cognitivas ↑ $\alpha$ -fetoproteína, ↑ CK, ↑ IgG, ↑ IgA e ↑ níveis de colesterolémia	Ausente	SETX
Ataxia espástica autossómica recessiva de Charlevoix-Saguenay	Fibras mielinizadas do nervo óptico na retina, escoliose, pés cavus, arreflexia, perda da sensibilidade vibratória	Ausente (é comum o prolapso da válvula mitral)	SACS
Charcot-Marie-tooth tipos 1 e 2	Arreflexia, fraqueza muscular distal, movimentos dessincronizados	Ausente	Heterogeneida de genética
Ataxia espinocerebelar com neuropatia axonal	Polineuropatia axonal sensoriomotora, atrofia muscular distal, pés cavus, ataxia da marcha (simula AF)	Ausente	TDP1

Existem ainda outras ataxias de início precoce que são facilmente distinguíveis da ataxia de Friedreich em virtude das suas características:

- Ataxia-talangiectasia;
- Ataxias associadas a mutações do ADN mitocondrial;
- Síndrome de Behr (espasticidade, ataxia, atrofia óptica e atraso mental);
- Ataxia e anemia sideroblástica ligada ao X;
- Síndrome de Marinesco-Sjogren (ataxia cerebelar, cataratas, baixa estatura, atraso mental e atraso no desenvolvimento sexual);
- Síndrome da surdez-distonia-neuropatia óptica;
- Deficiência de hexosaminidase A de início tardio (ataxia alterações nos neurónios motores superiores e inferiores, demência, episódios psicóticos);
- Doença de Huntington
- Neuro-sífilis [29].

Após a exclusão das várias causas de ataxia, é necessário estabelecer o diagnóstico definitivo de ataxia de Friedreich. Antes da descoberta do gene da frataxina, o diagnóstico desta doença era feito com base nos critérios clínicos propostos por Harding [2].

Actualmente ainda não existem guidelines específicas para o diagnóstico da doença, mas este pode ser feito com base não só em critérios clínicos, como também em outros exames complementares de diagnóstico, inclusivamente através de testes genéticos [11].

Além da verificação dos critérios de Harding, deve ser feita uma avaliação neurológica completa. Esta deve compreender primariamente as dificuldades na marcha, equilíbrio, fraqueza muscular, hipoacúsia, alterações visuais, disartria, disfagia, reflexos osteotendinosos e distúrbios dos esfíncteres. É importante procurar ainda alterações oculomotoras (tais como o nistagmus horizontal), presença de sinal de Babinski, alterações da percepção (a dor e a temperatura ficam alteradas à medida que a doença avança), sensibilidade vibratória e propriocepção. Relativamente às características não neurológicas da doença, devem ser pesquisados essencialmente a presença de cifoescoliose e pés cavus [11].

Como exames complementares de diagnóstico podem ser feitos vários estudos. Dentro dos estudos electrofisiológicos usualmente são testados os potenciais de acção evocados, as velocidades de condução nervosa e emissões otoacústicas. A avaliação neurológica é ainda complementada pela ressonância magnética, através de secções sagitais e axiais. No que respeita ao envolvimento cardíaco, este deve ser avaliado através da realização de electrocardiograma, ecocardiograma com Doppler e, para detectar batimentos supraventriculares ou fibrilhação auricular ocasional, pode ainda incluir-se a monitorização com Holter [11].

No que respeita aos testes genéticos, a PCR com análise do comprimento do fragmento genético é utilizada para detectar directamente a expansão do triplete GAA em ambas as cópias do gene X25. No caso dos doentes heterozigóticos compostos há necessidade de se realizar uma sequenciação directa do gene de modo a detectar as mutações pontuais no outro alelo [11, 30].

Existem vários critérios que justificam a realização destes testes para o diagnóstico de ataxia de Friedreich:

- A sensibilidade analítica é cerca de 100%;
- A especificidade analítica é cerca de 100%;
- A sensibilidade clínica para a ataxia de Friedreich clássica é cerca de 99%, no entanto 25% dos casos seguem um percurso atípico e escapam ao diagnóstico clínico clássico;
- A especificidade clínica é cerca de 100%;
- O valor preditivo positivo para o diagnóstico clínico tem algumas limitações sobretudo no que respeita à idade de diagnóstico que pode variar consideravelmente e ao fenótipo de doentes com sequências GAA mais curtas;
- O valor preditivo negativo para o diagnóstico clínico é cerca de 100%;
- O diagnóstico definitivo não pode ser feito sem teste genético;
- O acompanhamento da doença é influenciado pelo teste genético, possibilitando: a evicção de outras terapias dirigidas a outras doenças, uma prevenção regular das complicações associadas, a participação do doente em ensaios clínicos terapêuticos; permite o aconselhamento genético e o estabelecimento do prognóstico, pode possibilitar uma correlação genótipo/fenótipo e antecipar o curso e severidade da doença e ainda a realização de medidas de prevenção e seguimento;
- O teste genético influencia o planeamento familiar, a escolha de uma ocupação e a tomada de decisões no que respeita à prevenção da doença;
- O teste permite ainda a avaliação do risco dos familiares e o diagnóstico pré-natal [30].

Devido ao facto da ataxia de Friedreich afectar vários órgãos e com vista a despistar outras patologias, todos os doentes devem ainda realizar estudos analíticos com hemograma completo, bioquímica e electrólitos. As manifestações ataxia de Friedreich surgem sequencialmente, como tal, é imprescindível relacionar temporalmente todos os achados com a idade de início dos sintomas [11].

### 3.8. Escalas de avaliação

A medição da severidade da disfunção neurológica em doentes com ataxia de Friedreich torna-se difícil devido à taxa de progressão variável da doença, às diferentes idades de início da mesma e à grande variedade de sistemas envolvidos. Torna-se deste modo, imprescindível o uso de escalas apropriadas e sensíveis que detectem não só a progressão da doença, como também os resultados relativos à aplicação de um determinado tratamento. Foram comparadas quatro das principais escalas utilizadas na avaliação da Ataxia de Friedreich: FARS (Friedreich Ataxia Rating Scale), ICARS (International Cooperative Ataxia Rating Scale), FIM (Functional Independence Measure) e MBI (Modified Barthel Index). As escalas FARS e ICARS são as mais utilizadas. Contudo a escala FARS demonstrou ser a mais eficaz para avaliação dos resultados de ensaios clínicos, sendo que são necessários menos doentes para evidenciar o mesmo resultado de uma intervenção [31].

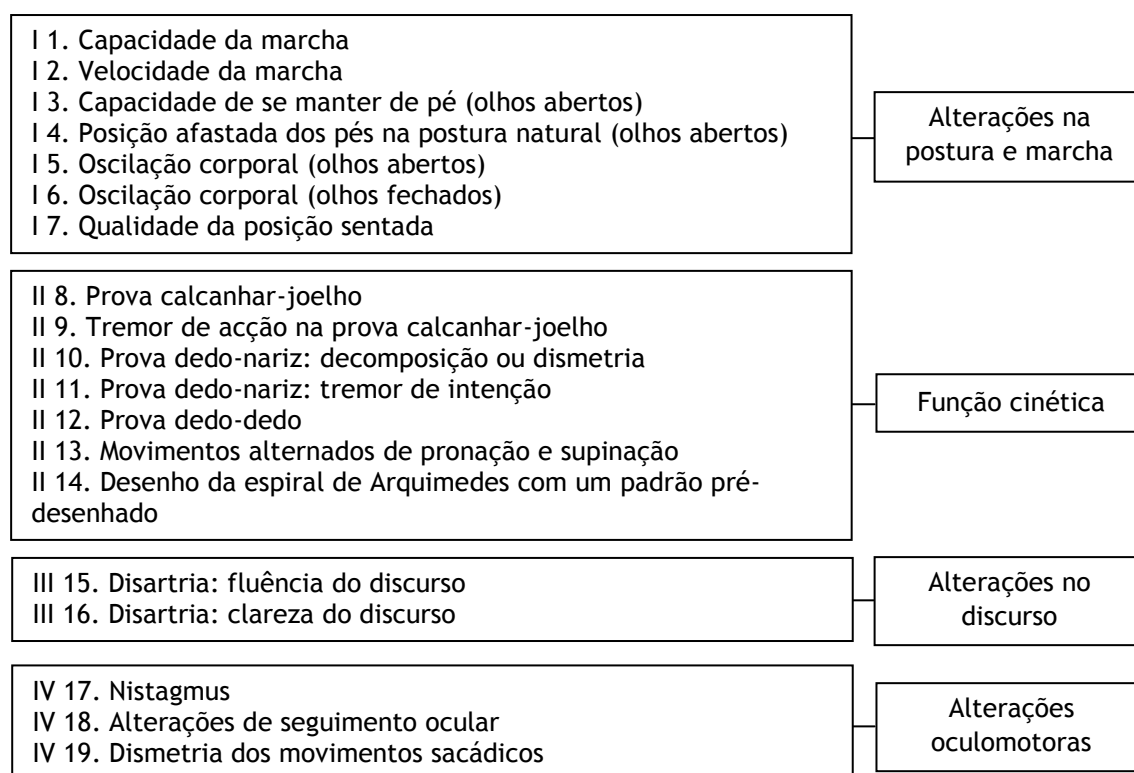


Figura 1: Principais componentes da escala ICARS (International Cooperative Ataxia Rating Scale), para avaliação de doentes com ataxia de Friedreich. Escala dividida em quatro pontos principais: alterações na postura e na marcha, na função cinética, no discurso e alterações oculomotoras. Adaptado da referência [32]

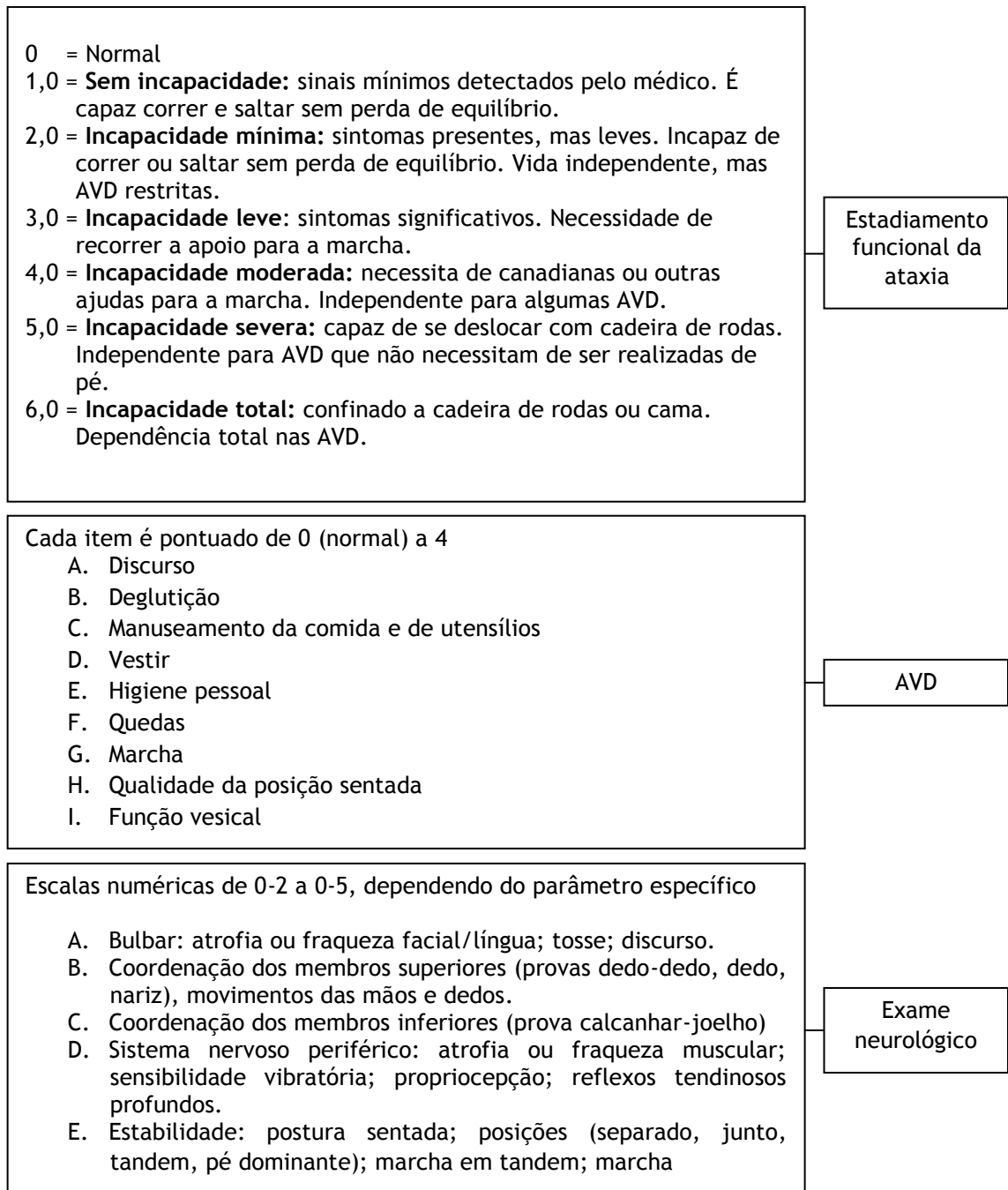


Figura 2: Principais componentes da escala FARS (Friedreich Ataxia Rating Scale), para a avaliação de doentes com ataxia de Friedreich. Adaptado da referência [32]

## 4. Tratamento

Os avanços recentes na compreensão da base genética da ataxia de Friedreich, da função da frataxina e das consequências da expressão reduzida da proteína (acumulação mitocondrial de ferro, defeitos na cadeia respiratória, aumento da produção de radicais livres de oxigénio com dano celular), levaram ao estudo de múltiplos caminhos de intervenção [3].

O principal objectivo é travar a evolução, ou mesmo curar a doença. A observação da acumulação de ferro e do conseqüente aumento do stress oxidativo no interior da mitocôndria, sugere que as terapias baseadas em agentes quelantes do ferro e outros antioxidantes poderão ser úteis no tratamento da doença, minimizando as consequências da mesma. [3].

Verifica-se cada vez mais a tentativa de agir na génese da doença, evitando as suas consequências, em vez de intervir apenas na minimização das mesmas. Como tal, estão também a ser estudados fármacos com o objectivo de aumentar a expressão da frataxina, que se encontra silenciada devido à mutação do cromossoma 9. Os estudos da terapia genética caminham a par das descobertas feitas neste campo. Além destes, existem inúmeros mecanismos de suporte/paliação da ataxia de Friedreich. Contudo, há novas perspectivas a serem continuamente propostas e estudadas.

### 4.1. Tratamentos com o objectivo de travar/curar a doença

#### 4.1.1. Fármacos com interferência ao nível do stress oxidativo

##### 4.1.1.1. Terapêutica combinada de coenzima Q<sub>10</sub> e vitamina E

A coenzima Q<sub>10</sub> e a vitamina E são dois antioxidantes estudados em terapêutica combinada. Doses de 200 mg de coenzima Q<sub>10</sub> (2x100 mg/dia) juntamente a 1050 U de vitamina E (2x525 U) foram administradas a doentes com ataxia de Friedreich durante 47 meses. Foi possível demonstrar melhoras na função bioenergética das células do músculo cardíaco e esquelético. Clinicamente os resultados traduziram-se numa ligeira melhoria da função cardíaca e da função cinética da escala ICARS. Contudo, a marcha, a postura e a destreza manual continuaram a deteriorar ao longo dos 47 meses de seguimento [33].

#### 4.1.1.2. Agonistas PPAR $\gamma$ (activador do receptor de proliferação peroxissomal -gamma)

Foi constatada, na ataxia de Friedreich, uma diminuição do co-ativador do PPAR $\gamma$ , o PGC-1 $\alpha$ . Este funciona como regulador transcricional das respostas antioxidantes mitocondriais, sendo deste modo, um co-ativador de várias respostas celulares. A pioglitazona é agonista do PGC-1 $\alpha$  e foi demonstrado que ela é capaz de restaurar os níveis de PGC-1 $\alpha$  na célula, sugerindo um potencial tratamento para a ataxia de Friedreich [34]. Foi também investigado outro agonista PPAR $\gamma$ , a rosiglitazona. Este agonista duplicou os níveis intracelulares de frataxina. Este aumento foi conseguido através de um mecanismo transcricional, ou seja, foi possível aumentar tanto o ARNm como os níveis da proteína [35].

#### 4.1.1.3. Idebenona

A idebenona é um análogo sintético da co-enzima Q<sub>10</sub> ou ubiquinona, um componente essencial da cadeia transportadora de electrões e um antioxidante vital da membrana celular. Este composto foi inicialmente desenvolvido para o tratamento de perturbações cognitivas, nomeadamente a doença de Alzheimer, e de alterações emocionais relacionadas com a doença cerebrovascular. A partir do ano de 1999 a idebenona começou a ser estudada como uma possível terapia para a Ataxia de Friedreich, dando início a múltiplos ensaios clínicos nesse sentido [35].

Quimicamente, o anel benzoquinona sofre reacções de redução e oxidação reversíveis, influenciando, deste modo, o balanço de electrões a nível mitocondrial. A idebenona interage na cadeia respiratória como um transportador de electrões dos complexos I e II (onde sofre redução), para o complexo III (onde sofre um processo de oxidação), promovendo assim a biossíntese de ATP, tal como se pode verificar na figura 3. Tem ainda um papel preponderante na protecção das membranas celulares, pois inibe a peroxidação lipídica na mitocôndria [35, 36].

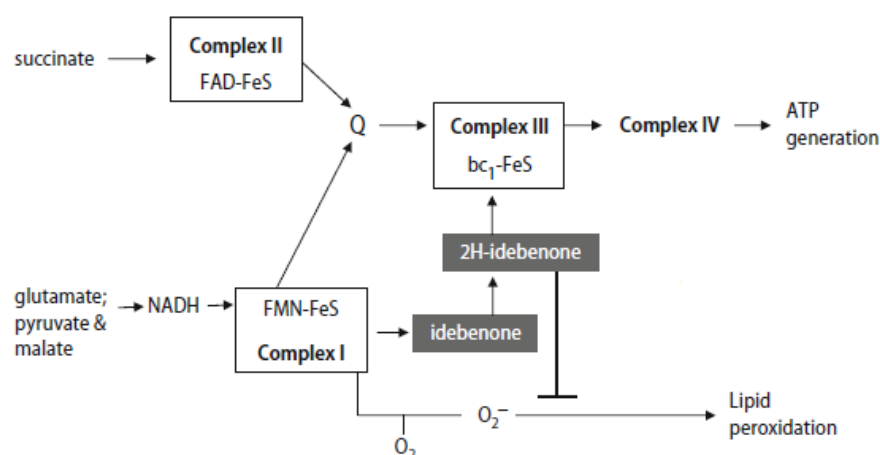


Figura 3: Esquema representativo do modo de acção da idebenona como carregadora de electrões na cadeia respiratória mitocondrial. Adaptado da referência [35].

A idebenona é rapidamente absorvida, é excretada maioritariamente na urina e apresenta uma farmacocinética linear. A concentração plasmática máxima é atingida cerca de duas horas após a administração da mesma [37, 38]. Se administrada com uma refeição rica em gorduras, ocorre um aumento da sua concentração plasmática em cerca de cinco vezes. Deste modo, recomenda-se a administração do fármaco à refeição, garantindo assim uma maior exposição ao mesmo [37].

Os efeitos da idebenona estão relacionados principalmente com a cardiomiopatia característica da Ataxia de Friedreich. Doses de 5 mg/kg/dia demonstraram uma diminuição da hipertrofia cardíaca, expressa pela redução da espessura do septo interventricular, da parede posterior do ventrículo esquerdo e do índice de massa ventricular. Estes foram resultados de ensaios clínicos com duração de pelo menos seis meses [35, 39]. Não foi encontrada qualquer relação do efeito do fármaco com o estadió da doença cardíaca, a idade e sexo do doente, e o número de repetições do triplete GAA [26, 39]. O estudo de Hausse (2002) incluiu 38 doentes com idades compreendidas entre os quatro e os 22 anos, tratados com idebenona oral (5 mg/kg/dia) e acompanhados durante seis meses. Dos 38 doentes estudados, 31 demonstraram uma redução do índice de massa ventricular, sendo que em 17 essa mesma redução foi igual ou superior a 20%. Num doente, foi necessário um aumento da dose de idebenona para 10 mg/kg/dia, de modo a obter resultados semelhantes [39].

Um outro estudo acompanhou oito doentes com ataxia de Friedreich durante um ano, tratados com 5 mg/kg/dia de idebenona. Foi possível concluir que a idebenona reduziu em 20% o índice de massa ventricular esquerda em seis dos oito doentes. Esta redução foi também acompanhada por uma melhoria da função cardíaca (ao nível do ventrículo

esquerdo). No que diz respeito ao sistema neurológico, esta dose de idebenona não interferiu na progressão da doença [40].

Devido à ausência de efeitos secundários, e à farmacocinética linear da idebenona, foi considerada a hipótese de estudos com doses mais altas do fármaco [35]. Di Prospero (2007) estudou a segurança, a tolerância e a farmacocinética de doses elevadas de idebenona até um máximo de 75 mg/kg/dia. O autor concluiu que o aumento da dose do fármaco até 55 mg/kg/dia leva a um aumento linear da concentração plasmática do mesmo, a partir do qual, o aumento da concentração plasmática já não se mostra linear. A idebenona é bem tolerada até doses de 60 mg/kg/dia, a partir desta dose foram relatados alguns efeitos secundários, nomeadamente: fadiga, cefaleias, distúrbios de atenção e sintomas gastrointestinais (diarreia, náuseas, dispepsia) de severidade leve a moderada. Um outro efeito secundário relatado é a coloração castanha da urina, causada pela presença de metabolitos da idebenona. Este efeito é dose-dependente. Contudo, não se verificou a presença de hematuria nem de outras alterações urinárias. Não se detectaram reacções adversas graves nem alterações significativas nos sinais vitais, no exame físico, nos estudos analíticos e nos electrocardiogramas [36].

A nível neurológico, os estudos feitos apresentam alguma variabilidade de resultados. Foram encontradas melhoras subjectivas nas capacidades motoras finas, tais como a escrita, na diminuição da fadiga, no aumento do equilíbrio, da estabilidade e da sensibilidade periférica (dados relatados por doentes) [36]. Foi também possível demonstrar uma melhoria nas pontuações ICARS, FARS e Actividades da Vida Diária (AVD). Estes resultados são dose-dependentes e são apenas evidenciados com doses intermédias (10-20 mg/kg/dia) ou altas (30-50 mg/kg/dia) de idebenona [38]. Um estudo que acompanhou doentes durante seis meses, veio demonstrar que mesmo para essas concentrações, as melhorias verificadas na pontuação das escalas FARS e ICARS, não alteram de modo significativo a função neurológica na ataxia de Friedreich [41].

Um recente estudo acompanhou dois grupos de doentes com cardiomiopatia durante seis meses. Ao primeiro grupo foram administradas 450 mg/dia de idebenona em doentes com massa corporal igual ou inferior a 45 kg, e 900 mg/dia em doentes com massa corporal superior a 45 mg/dia. No segundo grupo a idebenona foi administrada em doses de 1350 mg/dia a doentes com massa corporal inferior ou igual a 45 kg e doses de 2250 mg/dia no caso da massa corporal ser superior a 45 kg. O acompanhamento foi feito através da realização de electrocardiogramas a cada consulta e ecocardiogramas no início e no fim do ensaio clínico. Este estudo concluiu que a idebenona não diminui a hipertrofia do ventrículo esquerdo nem melhora a função cardíaca de doentes com ataxia de Friedreich. As explicações dadas para estes resultados foram a baixa sensibilidade da ecocardiografia na detecção de pequenas alterações, os 6 meses de acompanhamento dos doentes que podem não ter sido suficientes e a subjectividade do tamanho das estruturas medidas na ecocardiografia, ou seja,

pode ser encontrada uma pseudonormalização, incorrectamente caracterizada como sendo diminuição da hipertrofia, que poderá corresponder a uma conversão dessa mesma hipertrofia em fibrose. São contudo, necessários mais estudos para confirmar esta última hipótese [42].

#### 4.1.1.4. Quelantes do ferro

A proteína frataxina tem um papel fundamental em diversos mecanismos intracelulares que envolvem o metabolismo do ferro: desde a síntese do heme, à formação de complexos Fe-S, contemplando também as funções antioxidante, de ligação e de armazenamento do ferro [22].

O fluxo e a distribuição intracelular do ferro estão alterados na deficiência de frataxina. Como tal, verifica-se a acumulação do mesmo no interior da mitocôndria [3].

Foi estudada a possibilidade da utilização de agentes quelantes do ferro com vista a reduzir os danos oxidativos provocados. Durante seis meses, foram acompanhados nove doentes com ataxia de Friedreich. Estes estavam já a receber tratamento com idebenona e não tinham quaisquer alterações cardíacas. A este tratamento foi acrescentado um quelante do ferro, o deferiprone, na dose de 20 a 30 mg/kg/dia. O seguimento das alterações do nível de ferro celular foi feito através de ressonâncias magnéticas, pois a acumulação do mesmo provoca uma heterogeneidade no campo magnético passível de ser detectada pelo exame. Concluiu-se neste estudo, que o deferiprone efectivamente diminui a concentração do ferro no núcleo dentado, um dos locais onde este mais se acumula, demonstrando assim a especificidade do fármaco por determinados locais. As outras áreas cerebrais não demonstraram alterações. Os autores propuseram as seguintes hipóteses: ou o fármaco não tem acesso a essas áreas, ou tendo acesso, o ferro não é facilmente retirado [43]. O deferiprone facilita também a correcção dos parâmetros energéticos normais dessas células: restaura os potenciais redox e a membrana mitocondrial, aumenta a produção de ATP e o consumo de oxigénio, atenua o dano celular e inverte a hipersensibilidade à apoptose. Além disso, este fármaco tanto se liga ao ferro, removendo-o do espaço intracelular, como também o redistribui, permitindo deste modo, a utilização do mesmo para funções fisiológicas benéficas [44].

Há ainda a salientar alguns benefícios clínicos dos doentes, nomeadamente melhoras nas queixas de obstipação, de incontínência, melhoras na destreza manual, na fluência do discurso e na marcha atáxica. Estes resultados foram avaliados através da escala ICARS. Durante os seis meses não se verificaram efeitos tóxicos relevantes do fármaco, quer a nível neurológico, quer a nível hemático [43].

Relativamente às propostas de doses a serem utilizadas, foi verificado que a diminuição excessiva do ferro mitocondrial leva a uma perda da actividade da aconitase. Isto tem como

consequência um aumento do stress oxidativo, uma diminuição da proliferação celular e da formação de ligações ferro-enxofre, que poderá levar à morte celular. Doses de deferiprone acima de 150  $\mu\text{M}$ , o que corresponde a cerca de 25 mg/kg/dia, levam a uma perda da actividade da aconitase de cerca de 60% em 7 dias. Estes resultados são dose e tempo dependentes [45]. Os autores do estudo sugerem deste modo, o tratamento com uma dose abaixo de 150  $\mu\text{M}$ , do fármaco. Assim sendo, o deferiprone pode ter os efeitos benéficos desejados, sem o perigo de aumentar os danos oxidativos já por si bastante presentes na ataxia de Friedreich [45].

#### 4.1.2. Agentes que pretendem aumentar a expressão da frataxina

Para a compreensão do próximo esquema terapêutico começo por complementar algumas das bases genéticas já referidas acerca da ataxia de Friedreich.

A mutação que causa a ataxia de Friedreich localiza-se no cromossoma 9 e resulta numa hiperexpansão do triplete GAA no primeiro intrão do gene X25. Este gene codifica a frataxina, e como tal, esta mutação tem como consequência uma diminuição dos níveis da referida proteína [5]. Esta é uma proteína mitocondrial que está envolvida em vários mecanismos intracelulares essenciais à vida da célula [3].

A expansão dos tripletos GAA induz uma alteração na estrutura do ADN que impede a transcrição da frataxina. Essa alteração resulta na formação de heterocromatina (cromatina condensada e inactiva). Parte desse processo deve-se a modificações das histonas [17]. Estas proteínas compactam o ADN e estão intimamente associadas a genes inactivos. A acetilação dos resíduos de lisina de histonas enfraquece a atracção electrostática entre as histonas e o ADN. Em geral, a acetilação de histonas leva à activação da expressão génica, enquanto a desacetilação reverte o efeito. A acetilação e desacetilação de histonas é um modo de alargar ou condensar respectivamente a estrutura da cromatina [46].

Além desta estrutura, a hiperexpansão GAA induz ainda a formação de uma estrutura em tripla hélice que sequestra as ARN polimerases, impedindo desta forma, a transcrição do ADN [17].

Perante isto foram efectuados inúmeros estudos com vista a descondensar a heterocromatina ou alterar a conformação do ADN e tornar possível a transcrição da frataxina, revertendo o processo de silenciamento genético.

Na generalidade, existem dois meios de silenciamento da transcrição genética numa localização específica, a desacetilação das histonas e a metilação do ADN, ambas relacionadas [46].

Foram detectadas alterações que provocam um aumento da metilação do ADN em locais específicos, regiões CpG e modificações nas histonas das regiões onde ocorre a mutação. Os testes revelaram:

- Um aumento da metilação de três regiões CpG acima da hiperexpansão GAA;
- Uma diminuição da metilação abaixo desse mesmo local;
- Uma diminuição da acetilação das histonas H3 e H4;
- Um aumento da metilação da histona H3 no local Lys 9 (H3K9) no tecido cerebral.

A hipometilação verificada abaixo da hiperexpansão GAA poderá estar relacionada com o aumento da distância entre as duas regiões devido à própria mutação [17]. A inibição da transcrição do ADN ocorre devido a interferência no alongamento, e não na iniciação da mesma [47].

Baseado nestes resultados, foram propostos dois tipos de terapias: inibição da metilação do ADN e da desacetilação das histonas. Relativamente à primeira hipótese, prevenindo a metilação do ADN não se verifica um aumento na expressão do gene X25. Perante isto, os autores concluíram que a metilação do ADN tem um papel limitado no silenciamento genético [47]. No que respeita à desacetilação das histonas, foram desenvolvidos inibidores (HDACi - inibidores da desacetilação das histonas). O primeiro inibidor HDAC desenvolvido que se mostrou efectivo foi designado de BML-210. Este proporcionou um aumento da acetilação das histonas e restaurou a função da frataxina em culturas de linfócitos de doentes com ataxia de Friedreich [48]. Um outro inibidor, o Composto 106, foi testado em células do coração e do sistema nervoso central de ratos. Este inibidor penetra na barreira hematoencefálica, aumenta a acetilação das histonas H3 e H4 e recupera os níveis de frataxina. Não foram observados quaisquer sinais de toxicidade [48].

Existem inibidores da desacetilação das histonas com diferentes estruturas e foram sintetizados dois compostos, o composto 109 e 136, que são capazes de descondensar a heterocromatina e restaurar os níveis de frataxina. O aumento da acetilação é mais persistente do que com outros inibidores de diferente estrutura [49]. O composto 109 mostrou-se mais potente e específico para a histona H3, aumentando o ARN mensageiro entre quatro a nove vezes. O composto 136, por sua vez, mostrou-se ineficaz. Concluiu-se ainda que estes inibidores apresentam uma resposta persistente e o seu efeito mantém-se mesmo após 12 horas da remoção do fármaco (teste realizado em culturas de células mononucleares do sangue periférico humano obtido de doentes com ataxia de Friedreich). Estes dados sugerem uma administração intermitente do fármaco, minimizando desta forma a exposição ao mesmo. É ainda de referir que não foram constatados efeitos tóxicos [49].

Tal como foi já referido, a sequência de GAA•TTC é capaz de adoptar uma configuração em tripla hélice [17].

A natureza assimétrica desta expansão (purina•pirimidina ou R•Y) leva à formação da hélice tripla Y•R•Y em certas condições de pH (neutro ou pH de 8). Foi, deste modo, estudada uma forma de impedir a formação desta estrutura, através da determinação do papel do ADN na atracção de enzimas envolvidas na sua reparação e na formação da cromatina [50].

O Tn7 é um elemento de transposição, ou seja, um elemento capaz de se movimentar de uma região para a outra no genoma da célula. Para tal, este elemento codifica cinco genes de transposição, TnsABCDE, que se dividem em duas vias que completam transposição. Na primeira via, o TnsABC interage com o TnsD que promove a orientação da inserção. Na segunda via o TnsABC interage com o TnsE que promove a inserção do Tn7 no genoma. Este é inserido adjacente à estrutura de tripla hélice, interrompendo deste modo a sua formação. Foi então concluído que o Tn7 reconhece esta estrutura anormal do ADN e, com uma orientação específica e um pH específico, insere-se no genoma, impedindo que tal estrutura se forme. São ainda necessários mais estudos para que este composto possa ser utilizado como possível meio de tratamento da doença [50].

Na tentativa de aumentar os níveis de transcrição da frataxina, foram identificados factores de transcrição que se ligam directamente às sequências promotoras do gene X25 [51]. Os dois factores identificados foram o SRF (“sérum response factor”) e o TFAP2 (“transcription factor AP2”). Foi ainda identificada uma sequência, EGR3, que codifica um regulador de transcrição e sem a interacção de cada um destes três elementos a expressão da frataxina não seria possível. Concluiu-se que o aumento da expressão destes dois factores de transcrição, SRF e TFAP2, se traduz num aumento do ARNm da frataxina em duas linhagens celulares, e inclusivamente em culturas de linfócitos de doentes com ataxia de Friedreich [51].

São, no entanto, necessários mais estudos de modo a compreender o papel exacto da sequência EGR3 na interacção com os factores de transcrição SRF e TFAP2 para a regulação da expressão do gene X25 [51].

#### **4.1.2.1. Estimulantes da eritropoiese**

Ainda numa tentativa de aumentar os níveis de frataxina nas células de doentes com ataxia de Friedreich e devido a um efeito neuro e cardioprotector, foi testada a eritropoietina recombinante humana [52]. Como tal, foi efectuado um estudo com oito doentes, aos quais foi administrada uma dose de 2000 U de eritropoietina recombinante humana, três vezes por semana ao longo de seis meses. Através deste estudo, foi possível concluir que a eritropoietina recombinante humana possibilita um aumento estável da frataxina em doentes com ataxia de Friedreich. Foi também possível verificar uma diminuição dos indicadores urinários de stress oxidativo. Houve ainda registo de melhoras clínicas nos doentes, mas estas devem ser avaliadas com cautela. Segundo os autores, apenas seis meses de seguimento é

insuficiente para uma avaliação destes resultados. Além disso existe um sentimento subjectivo de bem-estar que também pode ter influência. O facto de não haver um grupo placebo torna a avaliação ainda menos fidedigna [52].

As injeções subcutâneas de eritropoietina recombinante humana foram bem toleradas, não tendo havido registos de casos de infecções ou hematomas. Analiticamente há a referir algumas alterações:

- diminuição dos níveis de ferritina;
- aumento dos níveis de transferrina;
- quatro dos oito doentes, um do sexo feminino e três do sexo masculino, aumentaram os níveis de hemoglobina (acima de 16 g/dl no sexo feminino e acima de 18,5 g/dl no sexo masculino). Estes valores tiveram como consequência a necessidade de flebotomias de repetição.

Não foram registadas alterações nos valores de tensão arterial, no electrocardiograma nem sinais clínicos de falência cardíaca [52].

Para testar a eficácia, tolerância e segurança da eritropoietina, foi realizado um estudo com alfapoetina, com um esquema de tratamento alternativo ao anterior. Neste estudo, a alfapoetina foi administrada a 10 doentes em apenas duas doses: a primeira, de 600 U/kg, e a segunda dose, três meses depois, de 1200 U/kg. Após a segunda dose, os doentes foram seguidos durante seis meses. Foi possível verificar um aumento da frataxina nos três primeiros meses (após a primeira administração de alfapoetina), que se acentuou durante os seis meses de seguimento depois da segunda administração. Ficou também demonstrado que a alfapoetina não tem efeito agudo no aumento da frataxina [53].

No que respeita aos efeitos secundários, não se verificaram alterações no hematócrito, na função cardíaca nem na função neurológica. Contudo, também não foram registadas melhoras clínicas nos doentes. Os autores do estudo atribuem este facto à falta de sensibilidade da escala utilizada, a escala ICARS [53].

#### **4.1.2.2. Terapia genética**

Uma outra forma de intervenção na ataxia de Friedreich é através de cromossomas artificiais, como forma de transferir moléculas de ADN para células somáticas de doentes, de modo a obter uma expressão óptima do gene introduzido. O objectivo é a introdução do gene da frataxina, para obter os níveis desejados desta proteína.

Podem ser utilizados cromossomas artificiais de leveduras (YACs), ou cromossomas artificiais bacterianos (BACs). Para que os mesmos sejam introduzidos nas células são necessários vectores. Um vector é o agente que transporta e insere os genes a serem expressos na célula receptora. A utilização de moléculas de ADN maiores dimensões tem um melhor resultado, pois contêm todos os elementos reguladores para a expressão genética na célula-alvo. Dentro dos vectores utilizados, os que têm tido resultados mais promissores são os vectores virais devido à sua alta eficiência na transferência de genes para as células somáticas, nomeadamente para neurónios. Os vectores baseados no vírus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) têm um genoma de 152kb que permite o transporte de ADN de grandes dimensões. Estes são capazes de restaurar os níveis fisiológicos de frataxina em fibroblastos de doentes com ataxia de Friedreich [54]. Este tipo de tratamento está a tornar-se uma resposta promissora para esta doença.

## 4.2. Outros

### 4.2.1. L-carnitina e creatina

A L-carnitina é um elemento essencial da  $\beta$ -oxidação das gorduras. Transporta os ácidos gordos através da membrana mitocondrial para a produção de energia. Na ataxia de Friedreich, os defeitos na fosforilação oxidativa vão comprometer a  $\beta$ -oxidação, o que leva, consequentemente, a uma diminuição da energia produzida pela célula. A fosforilação da creatina funciona ainda como uma reserva para a formação de ATP em situações com necessidade de maior consumo de energia. Como tal, os suplementos de L-carnitina e creatina foram propostos para o tratamento de situações de disfunção mitocondrial, como é o caso da ataxia de Friedreich, aumentando deste modo, o metabolismo energético das células [55].

Tanto a L-carnitina como a creatina foram bem toleradas e não houve relatos de efeitos secundários. A creatina não demonstrou efeito em doentes com ataxia de Friedreich. No que respeita à L-carnitina, após 4 meses de administração do suplemento, foram detectados aumentos da fosfocreatina nas células após exercício em condições aeróbias e anaeróbias. Contudo, os dados da avaliação ICARS e da ecocardiografia não demonstraram benefício da L-carnitina em relação aos doentes aos quais foi administrado placebo. Outros estudos são necessários para confirmar os efeitos ou possíveis vantagens do uso de L-carnitina na ataxia de Friedreich [55].

### 4.2.2. 5-hidroxitriptofano

O aminoácido 5-hidroxitriptofano é um precursor do neurotransmissor serotonina e um intermediário no metabolismo do triptofano. A serotonina modula as descargas das células de Purkinje no cerebelo, relacionadas com as actividades motoras. Foram demonstradas alterações no sistema serotoninérgico, com diminuição da serotonina, em doentes com ataxia cerebelar. Perante isto, foi questionado o efeito a nível motor de fármacos capazes de aumentar os níveis de serotonina [56, 57].

O 5-hidroxitriptofano atravessa facilmente a barreira hematoencefálica e conduz a um aumento dos níveis de serotonina [58]. Este composto foi testado e teve alguns resultados positivos, nomeadamente: melhoria dos sintomas cinéticos, da coordenação motora das mãos, da capacidade manutenção da postura erecta com os pés juntos, sem necessidade de apoio, ligeira regressão da ataxia e da disartria. Contudo, na década de 90, verificou-se o surgimento da síndrome eosinofilia-mialgia, pelo que este composto deixou de ser administrado aos doentes [59].

## 4.3. Tratamentos de suporte

Os doentes com ataxia de Friedreich devem ser seguidos individualmente, avaliando a progressão da doença em todos os campos. Devem ser feitas avaliações neurológicas, ortopédicas, cardiológicas, endocrinológicas e psicológicas. Após esta avaliação completa, devem ser traçadas medidas de acompanhamento com vista a minimizar as consequências da doença e a manter o máximo de autonomia nas actividades da vida diária durante o maior período de tempo possível. Deste modo poderão ser propostas:

- próteses, cadeiras de rodas, fisioterapia (prescrita pelo médico especialista em reabilitação), de modo a manter um estilo de vida o mais activo possível;
- intervenções ortopédicas cirúrgicas ou não cirúrgicas para a escoliose e para as deformidades dos pés;
- maximização das habilidades de comunicação com terapia da fala;
- alterações dietéticas e uso de sonda nasogástrica nos estadios mais avançados da doença devido à disfagia;
- tratamento da doença cardíaca que inclui (após a serem consideradas todas as contra-indicações) diuréticos, inibidores da enzima conversora da angiotensina, beta-bloqueantes, antagonistas da aldosterona, digoxina,

amiodarona e ainda pode ser considerada a hipótese da colocação de um pacemaker;

- controle da diabetes mellitus com dieta, antidiabéticos orais ou mesmo insulina;
- próteses auditivas;
- agentes antiespasmódicos para a disfunção vesical;
- tratamento da apneia de sono nos estádios mais avançados com via aérea de pressão positiva contínua.

A percepção individual da doença e da qualidade de vida é ainda influenciada por factores culturais, circunstâncias familiares e socioeconómicas. Como tal, a inclusão das famílias nos programas de tratamento e reabilitação é extremamente importante. Devem ainda ser realizadas sessões de terapia ocupacional e psicoterapia individual. Deste modo é possível abranger as várias áreas afectadas pela ataxia de Friedreich [11, 29].

## **4.4. O futuro**

### **4.4.1. Células estaminais**

As células estaminais são células com capacidade de se diferenciar em outras linhagens celulares. O uso destas células foi estudado no caso de doenças hereditárias, tais como a ataxia de Friedreich.

No estudo efectuado, as células utilizadas foram fibroblastos retirados de doentes através de biopsia percutânea. Estas foram reprogramadas em células pluripotentes induzidas (são células pluripotentes que derivam de células não pluripotentes, tipicamente de células somáticas). Estas células foram capazes de se diferenciar em células neurais progenitoras, nomeadamente em células sensoriais e em cardiomiócitos, que são os tipos celulares mais afectados na ataxia de Friedreich. Foi constatado que estas duas linhagens celulares mantinham a diminuição da expressão do gene X25 característica da doença. Perante os resultados, os autores do estudo propuseram duas razões de interesse na utilização de células pluripotentes induzidas: em primeiro lugar, a utilização destas células acarreta menos riscos para os doentes, pois estas são imunologicamente iguais às células dos mesmos; em segundo lugar, o seu estudo possibilita a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes à doença (nomeadamente a sua função, sobrevivência, actividade mitocondrial e alterações genéticas). Estas células tornam-se deste modo, um modelo celular humano extremamente útil, quer para o estudo da ataxia de Friedreich, quer para o desenvolvimento de ensaios

clínicos dirigidos a variadas propostas de tratamento, inclusivamente de terapia genética [60].

#### 4.4.2. Ensaios clínicos

De momento estão propostos para realizar ou estão a ser realizados alguns ensaios clínicos de modo a aperfeiçoar e conhecer os mecanismos subjacentes às formas de terapêutica já existentes, e também com vista a investigar novas possibilidades de cura da ataxia de Friedreich.

Os respectivos ensaios clínicos destinam-se a estudar:

- o efeito de duas semanas de tratamento com eritropoietina carbamilada;
- o efeito do resveratrol também no tratamento da ataxia de Friedreich;
- a eficácia do EGB 761 (extracto de ginkgo-biloba);
- o efeito a longo prazo do tratamento com deferiprone (52 semanas);
- os efeitos neurológicos do tratamento com pioglitazona ao longo de dois anos;
- a capacidade de reconhecimento dos efeitos do tratamento com altas doses de idebenona por parte dos doentes;
- a segurança e tolerância de altas doses de idebenona a longo prazo (dois anos);
- a eficácia do riluzol em doentes com ataxia cerebelar hereditária
- o efeito da imunoglobulina intravenosa no tratamento de doentes com ataxia de Friedreich.

Dentro destes ensaios é possível destacar dois de maior interesse: os efeitos a longo prazo, quer do deferiprone, quer de altas doses de idebenona. Relativamente ao primeiro, os objectivos são: avaliar a eficácia e tolerância do fármaco nos doentes e os seus efeitos ao longo de 13 meses (função cardíaca, neurológica e capacidades funcionais). O estudo com a idebenona pretende analisar a eficácia e tolerabilidade da mesma ao longo de 24 meses, sendo a continuação de um estudo anterior com menor duração. Os ensaios clínicos com deferiprone e idebenona irão incluir doentes de quatro e cinco países, respectivamente [61].

Estes dois fármacos são frequentemente utilizados em combinação no tratamento da ataxia de Friedreich, pelo que se torna extremamente importante o seu estudo isolado e a longo prazo, uma vez que os doentes irão realizar estas terapêuticas durante vários meses.

## 5. Exemplo de um caso clínico de ataxia de Freidreich

Doente do sexo feminino, actualmente com 22 anos de idade e sem antecedentes pessoais nem familiares relevantes, refere sintomas de desequilíbrio e falta de resistência física que tiveram início por volta dos 11 anos de idade. Aos 14 anos desenvolveu uma deformação na coluna dorsal (compatível com escoliose), que a levou a pedir acompanhamento médico.

Associadas a esta instabilidade, a doente referia dificuldades progressivas em realizar movimentos finos com os membros superiores, nomeadamente na escrita, e fadiga relacionada com os esforços.

O agravamento do referido quadro foi-se tornando cada vez mais evidente, o que a levou a dirigir-se ao Médico de Medicina Familiar que a encaminhou ao Serviço de Urgência no dia 1/04/2007, aos 18 anos, com quadro progressivo de acentuada instabilidade da marcha, condicionando a quedas frequentes e necessidade de recorrer a apoio para evitar as mesmas.

A doente apenas deu o alerta aos 18 anos de idade, pois atribuiu os sintomas à escoliose, pelo que não se apercebeu da gravidade dos mesmos.

Na referida data a doente não fazia qualquer medicação habitualmente.

Ao exame físico, no dia 01/04/2007, a doente encontrava-se consciente, orientada temporoespacialmente, auto e alopsiquicamente, colaborante e com discurso coerente, respondendo claramente ao solicitado. A pele e mucosas encontravam-se coradas e hidratadas. Na inspecção geral há ainda a referir a presença de escoliose dorsal dextro-convexa (Figura 4 e 5), diminuição do trofismo muscular (figura 6) e pés cavus (Figura 7).



Figura 4: Fotografia de uma doente com ataxia de Friedreich. É possível identificar a presença de cifoescoliose dorsal de convexidade orientada para a direita. Imagem cedida pela doente após consentimento.



Figura 5: Fotografia de uma doente com ataxia de Friedreich. É possível identificar a presença de cifose dorsal. Imagem cedida pela doente após consentimento.



Figura 6: Fotografia de uma doente com ataxia de Friedreich. É possível identificar a presença de atrofia muscular nos membros inferiores. Imagem cedida pela doente após consentimento.



Figura 7: Fotografia de uma doente com ataxia de Friedreich. É possível identificar a existência de pés cavus. Imagem cedida pela doente após consentimento.

À auscultação cardiopulmonar e à palpação abdominal não foram encontradas quaisquer alterações.

No que respeita ao exame neurológico, a doente não apresentava alterações da linguagem nem da articulação verbal. Apesar de não se terem registado parésias oculomotoras, a doente apresentava hipermetria dos movimentos sacádicos. Na prova dos braços estendidos e no teste Mingazzini, foi registada oscilação/tremor postural dos quatro membros. O teste de Romberg foi positivo. Os reflexos osteotendinosos apresentavam-se globalmente abolidos e os reflexos cutâneoplantares eram bilateralmente em extensão. Nas provas dedo-nariz e calcanhar-joelho verificou-se acentuada dismetria e decomposição do movimento apendicular. A doente não tinha alterações da força muscular. Foi registada uma diminuição da sensibilidade proprioceptiva a nível dos membros inferiores. A marcha apresentava características atáxicas, predominantemente do tipo sensorial e de base alargada.

Pelo quadro apresentado, foi internada para investigação e esclarecimento da etiologia do mesmo.

Foram efectuados alguns exames complementares de diagnóstico. Os resultados analíticos não tinham alterações relevantes, nomeadamente ao nível do hemograma, leucograma, bioquímica, ionograma, perfil lipídico, estudo do metabolismo do cobre, provas de função hepática, renal, serologias virais e VDRL. Ao nível endocrinológico foi-lhe detectado hipertiroidismo primário.

No electrocardiograma foi sugerida uma arritmia sinusal, de frequência situada entre os 60 e os 106 batimentos por minuto e um supradesnivelamento do segmento ST nas derivações V1 e V2.

A TC e RM cranioencefálicas não evidenciaram quaisquer alterações.

No que respeita aos potenciais somato-sensitivos, existe um aumento bilateral das latências corticais, mais evidente à direita. Estas estão também aumentadas nos membros superiores sugerindo disfunção proprioceptiva acima do nível cervical médio.

A avaliação das funções nervosas superiores evidenciou um rendimento intelectual global ao nível da inteligência normal reduzida (QI-WAIS entre 80 e 90).

No Raio X de tórax o parênquima pulmonar e o mediastino não se encontravam alterados, contudo há a registar uma escoliose de convexidade orientada para a direita (figura 8).

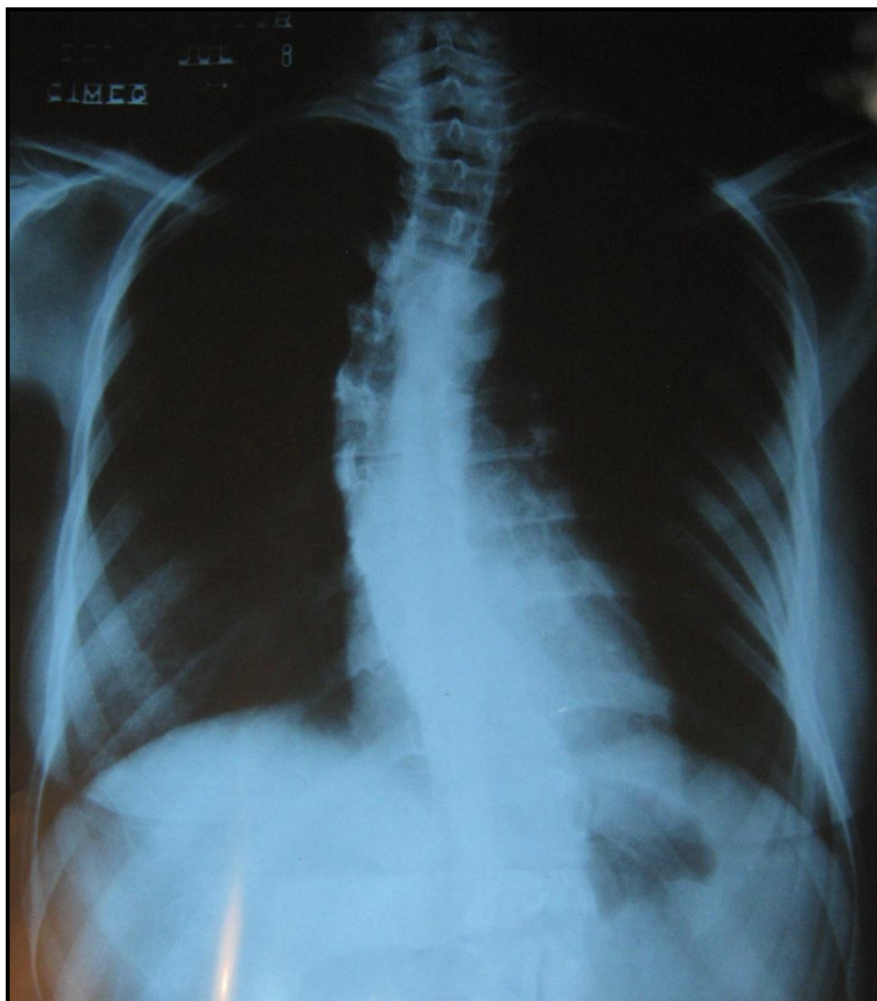


Figura 8: Raio X de tórax pósterio-anterior de uma doente com ataxia de Friedreich. Observa-se uma extensa escoliose dextro-convexa. Imagem cedida pela doente após consentimento.

Após todos estes estudos foi possível afastar as hipóteses de etiologia viral, tumoral, vascular, endocrinológica e metabólica. Estando perante um caso de ataxia do tipo sensorial com componente piramidal, e após estes estudos, foi colocada a hipótese de ataxia de Friedreich.

A ataxia de Friedreich foi, deste modo, confirmada por análise de genética molecular.

Após o diagnóstico a doente foi medicada com Co-enzima Q<sub>10</sub> (400 mg por dia) e vitamina E (2000 UI por dia). O endocrinologista prescreveu-lhe Metibasol devido ao hipertireoidismo. A doente passou a ser seguida desde então na consulta externa de neurologia, semestralmente.

## 5.1. Evolução:

A doente suspendeu a vitamina E e a Co-enzima Q<sub>10</sub>, alegando falta de motivação e de resultados. No que respeita ao foro endocrinológico, a doente encontra-se com hipotiroidismo, pelo que lhe foi prescrito levotiroxina.

Realizou um ciclo de tratamentos de fisioterapia em Cuba, há cerca de dois anos e refere aumento da força e tónus muscular, que entretanto voltou a perder.

A sua doença evoluiu ligeiramente, pelo que na actualidade apresenta algum grau de disartria e necessita de canadianas para apoio da marcha.

No ano 2009 realizou um electrocardiograma, um ecocardiograma e um Holter 24 horas. Nenhum dos exames realizados revelou alterações cardíacas.

Actualmente a doente encontra-se a fazer fisioterapia uma vez por semana e está medicada com levotiroxina, cumprindo o tratamento.

## Conclusão

A ataxia de Friedreich é a causa mais comum de ataxia autossómica recessiva, afectando aproximadamente um em cada 50 000 caucasianos [2]. Esta doença é causada por uma mutação no gene X25, que tem como consequência uma hiperexpansão do triplete GAA no primeiro intrão desse mesmo gene. Essa mutação tem um efeito dramático ao reduzir os níveis de ARNm e, conseqüentemente, os níveis da proteína frataxina, uma proteína mitocondrial essencial à vida [4-6].

Esta proteína está envolvida em diferentes mecanismos intracelulares que envolvem o metabolismo do ferro, contemplando também uma função antioxidante, de ligação e de armazenamento do mesmo [3]. A frataxina está presente em todos os tipos celulares, mas a doença não se manifesta de igual forma em todos os órgãos. Foi possível verificar que o gene X25 se expressa fundamentalmente no tecido cardíaco, em níveis intermédios no fígado, no músculo esquelético e no pâncreas. No tecido nervoso expressa-se com maior intensidade na medula espinal, com intensidade intermédia no cerebelo e em baixos níveis no córtex cerebral [5, 24]. Deste modo, é possível concluir que a expressão do gene é mais elevada nos tecidos primariamente afectados pela doença. Isto explica a especificidade do envolvimento patológico da ataxia de Friedreich e as manifestações clínicas a ela associadas.

Foi também constatada uma grande variabilidade inter-individual da ataxia de Friedreich e chegou-se à conclusão de que quanto maior for o comprimento da expansão do triplete GAA, menor a idade de aparecimento dos sintomas e conseqüentemente, maior a gravidade e rapidez de progressão da doença. Contudo, isto não explica totalmente a variabilidade fenotípica encontrada [14, 21]. Perante isto, facilmente se conclui que outros factores, nomeadamente genéticos e/ou ambientais possam exercer influência.

Relativamente às manifestações clínicas da doença é possível concluir que 75% dos doentes estão incluídos nos critérios diagnósticos de Harding [2]. Os restantes 25% dos doentes não fazem parte dos critérios referidos pois podem ter um início tardio da ataxia de Friedreich (depois dos 25 anos), pode haver manutenção dos reflexos osteotendinosos e existe ainda uma forma de ataxia mais leve, de evolução mais lenta e de início tardio, a forma Acadiana [13, 14, 20, 28].

O diagnóstico clínico da doença torna-se limitado, não só devido ao percurso atípico de 25% dos doentes, como também devido modo progressivo de aparecimento das manifestações clínicas. Deste modo, pode concluir-se que o diagnóstico definitivo da ataxia de Friedreich se baseia em testes genéticos (PCR com análise do comprimento do fragmento genético e

sequenciação directa do gene de modo a detectar as mutações pontuais). Estes testes apresentam especificidade e sensibilidade de 100% no diagnóstico desta forma de ataxia [30].

A ataxia de Friedreich é uma doença degenerativa que acarreta um elevado grau de morbidade. Como tal existem diversos estudos com vista a encontrar uma solução eficaz para o seu tratamento. Dentro dos principais tratamentos dirigidos à fisiopatologia da doença, podem incluir-se: agentes antioxidantes, agentes que aumentam a expressão da frataxina, entre outros. Existe também a possibilidade do uso de células estaminais.

Relativamente aos agentes antioxidantes é possível concluir que o agente com melhores resultados é a idebenona. Os seus efeitos estão relacionados principalmente com a cardiomiopatia característica da ataxia de Friedreich. Doses de 5 mg/kg/dia demonstraram uma diminuição da hipertrofia cardíaca, expressa pela redução da espessura do septo interventricular, da parede posterior do ventrículo esquerdo e do índice de massa ventricular [35, 39]. Como o efeito da idebenona é dose-dependente, este fármaco mostrou-se seguro e bem tolerado até doses de 60 mg/kg/dia. Não foram detectadas reacções adversas nem alterações significativas nos sinais vitais, no exame físico, nos estudos analíticos e electrocardiográficos [36]. A nível neurológico a idebenona tem um efeito pouco relevante e necessita de doses intermédias (10-20 mg/kg/dia) a altas (30-50 mg/kg/dia) [36, 41].

No que respeita aos agentes quelantes do ferro, pode concluir-se que o deferiprone diminui a concentração do ferro no núcleo dentado, um dos locais onde este mais se acumula. Este agente proporcionou ainda alguns benefícios clínicos nos doentes, nomeadamente: melhoras nas queixas de obstipação, de incontínência, melhoras na destreza manual, na fluência do discurso e na marcha atáxica [43]. O deferiprone facilita ainda a correcção dos parâmetros energéticos normais das células, pois tem a capacidade de se ligar ao ferro, removendo-o do espaço intracelular, como também o re-distribui, permitindo deste modo, a utilização do mesmo para funções fisiológicas benéficas [44]. Doses abaixo de 25 mg/kg/dia de deferiprone não provocam efeitos tóxicos relevantes quer a nível neurológico, quer a nível hemático. Acima deste valor verifica-se um aumento do stress oxidativo na célula (fenómeno que se pretende evitar na doença) [45].

Os agentes estimulantes da eritropoiese têm a capacidade de aumentar os níveis de frataxina nas células de doentes com ataxia de Friedreich, contudo não foram registadas melhoras clínicas objectivas. [52, 53].

Tanto a L-carnitina como a creatina foram testados para o tratamento da ataxia de Friedreich. Ambos foram bem tolerados e não houve relatos de efeitos secundários. A creatina não demonstrou qualquer efeito na doença. No que respeita à L-carnitina, foram detectados aumentos da fosfocreatina nas células após o exercício aeróbio e anaeróbio. Contudo, os dados da avaliação ICARS e da ecocardiografia não demonstraram benefício da L-carnitina em relação aos doentes aos quais foi administrado placebo [55].

Actualmente tem-se investido no estudo de agentes que actuam ao nível da expressão genética da frataxina. Um dos mecanismos estudados é a inibição da desacetilação das histonas que condensam o DNA e impedem a transcrição das proteínas (silenciamento genético). Estes inibidores HDAC são capazes de restaurar a função da frataxina em culturas de linfócitos humanos [48].

Foi ainda estudado um elemento que impede a formação da estrutura em tripla hélice adoptada pelo DNA devido à mutação GAA, o elemento de transposição Tn7. Ao impedir essa configuração anormal do DNA, proporciona também um aumento da expressão genética da frataxina [50].

Um outro modo de ampliar geneticamente os níveis desta proteína é através do aumento de factores de transcrição da mesma. Concluiu-se que o aumento da expressão de dois factores de transcrição, SRF e TFAP2, se traduz num aumento do ARNm da frataxina em duas linhagens celulares, e inclusivamente em culturas de linfócitos de doentes com ataxia de Friedreich [51].

A expressão genética da frataxina também pode ser aumentada através da utilização de cromossomas artificiais que são introduzidos nas células através de vectores, sendo possível desta forma introduzir moléculas de ADN em células somáticas de doentes [54]. Daqui se conclui, que é possível uma expressão eficaz do gene introduzido.

Com este trabalho foi também possível concluir que na actualidade não existe nenhuma terapia curativa eficaz para a ataxia de Friedreich. Apesar dos variados estudos realizados nesse sentido, ainda persistem muitas dúvidas acerca dos exactos mecanismos moleculares da doença, pelo que é necessário aprofundar os conhecimentos sobre esta de modo a garantir uma maior eficácia dos tratamentos estudados.

O acompanhamento dos doentes é feito com vista a minimizar a morbilidade da doença e garantir a melhor qualidade de vida, preservando sempre que possível, a sua independência. Como doença degenerativa que é, com consequências em vários órgãos, é fundamental que os doentes com ataxia de Friedreich sejam tratados de forma holística, devendo ser regularmente seguidos, quer a nível médico, quer a nível psicossocial e familiar.

## Perspectivas futuras

Tal como foi já referido, estão a ser realizados alguns ensaios clínicos dirigidos aos mecanismos subjacentes à ataxia de Friedreich. Nestes ensaios serão estudados os efeitos a longo prazo de fármacos já existentes, os efeitos com doses diferentes das habituais, de modo a aperfeiçoar e a conhecer os mecanismos de actuação dos mesmos, e ainda estão ser investigados novos fármacos e novas possibilidades para o tratamento da ataxia de Friedreich. No momento actual, o objectivo é cada vez mais curar a doença, agindo na génese do problema, restaurando a expressão genética da frataxina.

Existe ainda a possibilidade de utilizar, para estudo, células pluripotentes induzidas, provenientes de doentes com ataxia de Friedreich. Estas têm a capacidade de se diferenciar em outras linhagens celulares. Como tal, a utilização destas células possibilita a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes à doença, pelo que se tornam um modelo celular humano extremamente útil, quer para o estudo da ataxia de Friedreich, quer para o desenvolvimento de ensaios clínicos dirigidos às variadas propostas de tratamento, inclusivamente de terapia genética. O estudo nestas células não traz riscos para os doentes e, uma vez que são imunologicamente iguais às células dos mesmos, este torna-se mais eficaz que em modelos animais.

Em suma, com o constante aumento do conhecimento sobre esta doença, surgem várias possibilidades de tratamento e a utilização das células estaminais, além de contribuir para esse conhecimento, possibilita ainda um estudo mais eficaz dos efeitos das novas terapêuticas, quer farmacológicas, quer genéticas.

Estes recentes estudos trazem alguma esperança para o futuro e podem tornar-se potenciais curas para a ataxia de Friedreich. Contudo são ainda os primeiros passos de um longo caminho que se adivinha bastante promissor.

# Bibliografia

1. Friedreich N. Über degenerative Atrophie der spinalen Hinterstränge. *Virchows Arch* 1863;26(3):391-419.
2. Harding A. Friedreich's ataxia: a clinical and genetic study of 90 families with an analysis of early diagnostic criteria and intrafamilial clustering of clinical features. *Brain* 1981;104(3):589-620.
3. Pandolfo M, Pastore A. The pathogenesis of Friedreich ataxia and the structure and function of frataxin. *J Neurol* 2009;256:9-17.
4. Priller J, Scherzer CR, Faber PW, MacDonald ME, Yong AB. Frataxin gene of Friedreich's ataxia is targeted to mitochondria. *Ann Neurol* 1997;42(2):265-9.
5. Campuzano V, Montermini L, Moltò MD, Pianese L, Cossée M, Cavalcanti F, et al. Friedreich's ataxia: autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science* 1996;271(5254):1423-7.
6. Chakravarty A. Friedreich's ataxia-yesterday, today and tomorrow. *Neurology* 2003;51(2):176-82.
7. Pearce J. Friedreich's Ataxia. Historical Note. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:688.
8. Ropper AH, Brown RH. *Adams and Victor's principles of neurology*. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2005.
9. Coutinho P. Ataxia de Friedreich [Online]. 2010 [cited 2011 Apr 30]; Available from: [http://www.linharara.pt/index.php?option=com\\_content&view=article&id=52&Itemid=18](http://www.linharara.pt/index.php?option=com_content&view=article&id=52&Itemid=18).
10. Pandolfo M. Friedreich ataxia: the clinical picture. *J Neurol* 2009;256:3-8.
11. Schulz JB, Boesch S, Bürk K, Dürr A, Giunti P, Mariotti C, et al. Diagnosis and treatment of Friedreich ataxia: a European perspective. *Nat Rev Neurol* 2009;5(4):222-34.
12. Chawla J. Friedreich ataxia [Online]. 2010 [cited 2010 Dec 10]; Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/1150420-overview>.
13. Bhidayasiri R, Perlman SL, Pulst SM, Geschwind DH. Late-onset Friedreich ataxia: phenotypic analysis, magnetic resonance imaging findings, and review of the literature. *Arch Neurol* 2005;62(12):1865-9.
14. Bidichandani SI, Garcia CA, Patel PI, Dimachkie MM. Very late-onset Friedreich ataxia despite large GAA triplet repeat expansions. *Arch Neurol* 2000;57(2):246-51.
15. Oppenheimer DR. *Greenfield's neuropathology*. 3rd ed. Chicago: Edward Arnold; 1976. p. 626-30.
16. Ditch S, Sammarco MC, Banerjee A, Grabczyk E. Progressive GAA·TTC repeat expansion in human cell lines. *PLoS Genet* 2009;5(10):e1000704.
17. Al-Mahdawi S, Pinto RM, Ismail O, Varshney D, Lymperi S, Sandi C, et al. The Friedreich ataxia GAA repeat expansion mutation induces comparable epigenetic changes in human and transgenic mouse brain and heart tissues. *Hum Mol Genet* 2008;17(5):735-46.
18. Bidichandani SI, Ashizawa T, Patel PI. Atypical Friedreich ataxia caused by compound heterozygosity for a novel missense mutation and the GAA triplet-repeat expansion. *Am J Hum Genet* 1997;60(5):1251-6.
19. Schöls L, Amoiridis G, Przuntek H, Frank G, Epplen JT, Epplen C. Friedreich's ataxia. Revision of the phenotype according to molecular genetics. *Brain* 1997;120(12):2131-40.
20. Dürr A, Cossée M, Agid Y, Campuzano V, Mignard C, Penet C, et al. Clinical and genetic abnormalities in patients with Friedreich's ataxia. *N Engl J Med* 1996;335(16):1169-75.
21. La Pean A, Jeffries N, Grow C, Ravina B, Di Prospero NA. Predictors of progression in patients with Friedreich ataxia. *Mov Disord* 2008;23(14):2026-32.
22. Tan G, Napoli E, Taroni F, Cortopassi G. Decreased expression of genes involved in sulfur amino acid metabolism in frataxin-deficient cells. *Hum Mol Genet* 2003;12(14):1699-711.
23. Tozzi G, Nuccetelli M, Lo Bello M, Bernardini S, Bellincampi L, Ballerini S, et al. Antioxidant enzymes in blood of patients with Friedreich's ataxia. *Arch Dis Child* 2002;86(5):376-9.
24. Montermini L, Kish S, Jiralerspong S, Lamarche J, Pandolfo M. Somatic mosaicism for Friedreich's ataxia GAA triplet repeat expansions in the central nervous system. *Neurology* 1997;49(2):606-10.
25. Rance G, Fava R, Baldock H, Chong A, Barker E, Corben L, et al. Speech perception ability in individuals with Friedreich ataxia. *Brain* 2008;131(8):2002-12.
26. Ribai P, Pousset F, Tanguy ML, Rivaud-Pechoux S, Le Ber I, Gasparini F, et al. Neurological, cardiological, and oculomotor progression in 104 patients with Friedreich ataxia during long-term follow-up. *Arch Neurol* 2007;64(4):558-64.
27. Klopper F, Delatycki MB, Corben LA, Bradshaw JL, Rance G, Georgiou-Karistianis N. The Test of Everyday Attention Reveals Significant Sustained Volitional Attention and Working Memory Deficits in Friedreich Ataxia. *J Int Neuropsychol Soc* 2006;17(1):1-5.
28. Klockgether T, Zuhlke C, Schulz J, Burk K, Fetter M, Dittmann H, et al. Friedreich's ataxia with retained tendon reflexes. *Neurology* 1996;46(1):118-21.

29. Bidichandani SI, Delatycki MB. Friedreich ataxia. GeneReviews 2009.
30. Holinski-Feder E. Indication criteria for genetic testing [Online]. Munich 2008 [cited 2011 Apr 15]; Available from: <http://www.eurogentest.org/web/files/public/unit3/ClinicalUtilityGeneCards/Indication%20criteria%20-%20DMD.pdf>.
31. Fahey M, Corben L, Collins V, Churchyard A, Delatycki M. How is disease progress in Friedreich's ataxia best measured? A study of four rating scales. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007;78(4):411-3.
32. Delatycki MB. Evaluating the progression of Friedreich ataxia and its treatment. *J Neurol* 2009;256:36-41.
33. Hart PE, Lodi R, Rajagopalan B, Bradley JL, Crilley JG, Turner C, et al. Antioxidant treatment of patients with Friedreich ataxia: four-year follow-up. *Arch Neurol* 2005;62(4):621-6.
34. Cantó C, Auwerx J. PGC-1 [alpha], SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure. *Curr Opin Lipidol* 2009;20(2):98-105.
35. Meier T, Buyse G. Idebenone: an emerging therapy for Friedreich ataxia. *J Neurol* 2009;256:25-30.
36. Di Prospero NA, Sumner CJ, Penzak SR, Ravina B, Fischbeck KH, Taylor JP. Safety, tolerability, and pharmacokinetics of high-dose idebenone in patients with Friedreich ataxia. *Arch Neurol* 2007;64(6):803-8.
37. Kutz K, Drewe J, Vankan P. Pharmacokinetic properties and metabolism of idebenone. *J Neurol* 2009;256:31-5.
38. Schulz JB, Di Prospero NA, Fischbeck K. Clinical experience with high-dose idebenone in Friedreich ataxia. *J Neurol* 2009;256:42-5.
39. Hausse A, Aggoun Y, Bonnet D, Sidi D, Munnich A, Rötig A, et al. Idebenone and reduced cardiac hypertrophy in Friedreich's ataxia. *Heart* 2002;87(4):346-9.
40. Buyse G, Mertens L, Di Salvo G, Matthijs I, Weidemann F, Eyskens B, et al. Idebenone treatment in Friedreich's ataxia. *Neurology* 2003;60(10):1679-81.
41. Lynch DR, Perlman SL, Meier T. A phase 3, double-blind, placebo-controlled trial of idebenone in Friedreich ataxia. *Arch Neurol* 2010;67(8):941-7.
42. Lagedrost SJ, Sutton MSJ, Cohen MS, Satou GM, Kaufman BD, Perlman SL, et al. Idebenone in Friedreich ataxia cardiomyopathy--results from a 6-month phase III study (IONIA). *Am Heart J* 2011;161(3):639-45.
43. Boddaert N, Le Quan Sang KH, Rötig A, Leroy-Willig A, Gallet S, Brunelle F, et al. Selective iron chelation in Friedreich ataxia: biologic and clinical implications. *Blood* 2007;110(1):401-8.
44. Kakhlon O, Manning H, Breuer W, Melamed-Book N, Lu C, Cortopassi G, et al. Cell functions impaired by frataxin deficiency are restored by drug-mediated iron relocation. *Blood* 2008;112(13):5219-27.
45. Goncalves S, Paupe V, Dassa EP, Rustin P. Deferiprone targets aconitase: Implication for Friedreich's ataxia treatment. *BMC neurology* 2008;8(20):1-4.
46. Correia R. Controlo da expressão genética em procariontes [online]. Porto [cited 2011 Apr 15]; Available from: <http://sites.google.com/site/biotecnologia3bioq/controlodaexpres%C3%A3ogen%C3%A9tica22>.
47. Punga T, Bühler M. Long intronic GAA repeats causing Friedreich ataxia impede transcription elongation. *EMBO Mol Med* 2010;2(4):120-9.
48. Rai M, Soragni E, Jenssen K, Burnett R, Herman D, Coppola G, et al. HDAC inhibitors correct frataxin deficiency in a Friedreich ataxia mouse model. *PLoS One* 2008;3(4):e1958.
49. Rai M, Soragni E, Chou CJ, Barnes G, Jones S, Rusche JR, et al. Two new pimelic diphenylamide HDAC inhibitors induce sustained frataxin upregulation in cells from Friedreich's ataxia patients and in a mouse model. *PLoS One* 2010;5(1):e8825.
50. Mancuso M, Sammarco MC, Grabczyk E. Transposon Tn7 Preferentially Inserts into GAA• TTC Triplet Repeats under Conditions Conducive to Y• R• Y Triplex Formation. *PLoS One* 2010;5(6):e11121.
51. Li K, Singh A, Crooks DR, Dai X, Cong Z, Pan L, et al. Expression of human frataxin is regulated by transcription factors SRF and TFAP2. *PLoS One* 2010;5(8):e12286.
52. Boesch S, Sturm B, Hering S, Scheiber Mojdehkar B, Steinkellner H, Goldenberg H, et al. Neurological effects of recombinant human erythropoietin in Friedreich's ataxia: a clinical pilot trial. *Mov Disord* 2008;23(13):1940-4.
53. Saccà F, Piro R, De Michele G, Acquaviva F, Antenora A, Carlomagno G, et al. Epoetin alfa increases frataxin production in Friedreich's ataxia without affecting hematocrit. *Mov Disord* 2010;26(4):739-42.
54. Sara P. Prospects for the Use of Artificial Chromosomes and Minichromosome-Like Episomes in Gene Therapy. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010:1-16.
55. Schöls L, Zange J, Abele M, Schillings M, Skipka G, Kuntz-Hehner S, et al. L-carnitine and creatine in Friedreich's ataxia. A randomized, placebo-controlled crossover trial. *J Neural Transm* 2005;112(6):789-96.
56. Trouillas P, Xie J, Adeleine P. Buspirone, a serotonergic 5-HT1A agonist, is active in cerebellar ataxia. A new fact in favor of the serotonergic theory of ataxia. *Prog Brain Res* 1997;114:589-99.

57. Holroyd-Leduc JM, Liu BA, Maki BE, Zecevic A, Herrmann N, Black SE. The role of buspirone for the treatment of cerebellar ataxia in an older individual. *Can J Clin Pharmacol* 2005;12(3):218-21.
58. Birdsall TC. 5-Hydroxytryptophan: a clinically-effective serotonin precursor. *Altern Med Rev* 1998;3(4):271-80.
59. Trujillo Martín M, Serrano Aguilar P, Monton Álvarez F, Carrillo Fumero R. Effectiveness and safety of treatments for degenerative ataxias: a systematic review. *Mov Disord* 2009;24(8):1111-24.
60. Liu J, Verma PJ, Evans-Galea MV, Delatycki MB, Michalska A, Leung J, et al. Generation of Induced Pluripotent Stem Cell Lines from Friedreich Ataxia Patients. *Stem Cell Rev and Rep* 2010:1-11.
61. U. S. National Institutes of Health. *Clinicaltrials.gov* [Online]. 2011 [cited 2011 May 15]; Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=friedreich+ataxia>.

# Anexos

# Formulário de Consentimento Informado

Para o consentimento do paciente quanto à publicação das suas informações no âmbito da dissertação para conclusão do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Ciências da Saúde, da Universidade da Beira Interior.

Nome:

Título da dissertação:

Autor:

Eu, \_\_\_\_\_, dou o meu consentimento, para que as informações sobre a minha pessoa, sejam publicadas na dissertação com o título supracitado.

Atendendo a que:

- a) As informações serão publicadas sem o meu nome anexado e o autor do trabalho fará o melhor uso das mesmas para garantir, tanto quanto possível, o meu anonimato. Compreendo, no entanto, que o anonimato completo não pode ser garantido;
- b) Foram-me explicados os objectivos do trabalho, vi e li o material a ser submetido e terei acesso aos resultados finais que serão publicados;
- c) O texto do trabalho será revisto em relação ao estilo de redacção, gramática, coerência e extensão;
- d) Serão apenas publicadas as informações necessárias para a realização do trabalho científico;
- e) Poderei revogar o meu consentimento a qualquer momento antes da publicação.

Assinatura do autor: \_\_\_\_\_

Assinatura do paciente: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_