

Ataxias espinocerebelares causadas por expansão de poliglutamina: uma revisão

Spinocerebellar ataxias caused by expanded polyglutamine: a review

Alexis Trott¹, Angelica Francesca Maris², Gustavo Borba de Miranda³

RESUMO

Introdução. As ataxias espinocerebelares dominantes (SCAs), do inglês *spinocerebellar ataxia*, são um complexo grupo de doenças neurodegenerativas que afetam o cerebelo e suas principais conexões. O início das SCAs ocorre geralmente na vida adulta, apresentando grande heterogeneidade clínica. Os sintomas normalmente aparecem da terceira a quarta década de vida com progressão lenta. **Objetivo.** Revisar as SCAs em seus aspectos clínicos, epidemiológicos e moleculares, da principal categoria de ataxias: ataxias espinocerebelares por expansão de poliglutamina na proteína que leva à doença, causada pelo aumento do número de repetições do trinucleotídeo CAG na região codificante dos genes envolvidos. **Método.** Estudo de revisão bibliográfica nas bases de dados Medline e PubMed. **Resultados.** Recentemente, muito foi descoberto sobre as SCAs, com um aumento substancial no número de *loci* envolvidos. É estimado que os testes genéticos levem à identificação do gene mutado em muitos casos de ataxia. Os mecanismos patogênicos destas desordens envolvem, basicamente, perda ou ganho de função das proteínas envolvidas. **Conclusão.** Nosso conhecimento dos mecanismos moleculares das SCAs está crescendo rapidamente, e as importantes pesquisas trazem esperança para efetivas terapias em humanos.

Unitermos. Ataxia Cerebelar, Cerebelo, Genética, Glutamina, Repetições de Trinucleotídeos.

Citação. Trott A, Maris AF, Miranda GB. Ataxias espinocerebelares causadas por expansão de poliglutamina: uma revisão.

ABSTRACT

Introduction. Autosomal dominant spinocerebellar ataxias (SCAs) are a complex group of neurodegenerative diseases that affect the cerebellum and main connections. Onset of SCAs is generally in the adult life and shows great clinical heterogeneity. Symptoms normally appear from third to fourth decade of life and progress slowly. Currently, mutations responsible for many types of SCAs are known in different regions of the genome. **Objective.** To review the clinical, epidemiological, and molecular aspects of disorders of the major category of SCAs: expanded polyglutamine spinocerebellar ataxias, a toxic protein mechanism, caused by CAG repeat expansions that encode a polyglutamine in the disease protein. **Method.** Review study in the Medline and PubMed databases. **Results.** Recently, much was discovered on the SCAs, with a substantial increase in the number of loci involved. It is estimated that genetic testing leads to the identification of the mutated gene in very cases of ataxia. The pathogenic mechanisms that underlie these disorders involve, basically, either loss of protein function or gain of function at the protein. **Conclusion.** Our knowledge of the molecular mechanisms of SCAs is rapidly growing, and the development of important studies is bringing hope for effective therapies in human.

Keywords. Cerebellar Ataxia, Cerebellum, Genetics, Glutamine, Trinucleotide Repeats.

Citation. Trott A, Maris AF, Miranda GB. Spinocerebellar ataxias caused by expanded polyglutamine: a review.

Trabalho realizado na Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC) e Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), São Miguel do Oeste-SC, Brasil.

1. Biólogo Geneticista, Doutor em Bioquímica - Genética Médica pela UFRGS/HCPA, Mestre em Genética e Biologia Molecular (UFRGS), Professor Titular, Coordenador de Ciências Biológicas e da Especialização em Genética Médica da UNOESC, Santa Catarina, São Miguel do Oeste-SC, Brasil.

2. Bióloga Geneticista, Doutora em Genética e Biologia Molecular pela UFRGS, Pós-Doutora pela J.W-Goethe Universitaet Frankfurt am Main, Alemanha, Professora Titular na Medicina da UNOESC, Santa Catarina, Pesquisadora colaboradora da UFSC, São Miguel do Oeste-SC, Brasil

3. Biologista, Pós-Doutor em Genética e Biologia Molecular pela UFRGS, Professor Titular da UNOESC, Santa Catarina, São Miguel do Oeste-SC, Brasil.

Endereço para correspondência:

Dr. Alexis Trott
Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC)
Campus de São Miguel do Oeste
R Oiapoc, 211 - Bairro Agostini
CEP 89900-000, São Miguel do Oeste-SC, Brasil.
E-mail: alexistrott@hotmail.com

Revisão

Recebido em: 14/09/09

Aceito em: 27/10/09

Conflito de interesses: não

INTRODUÇÃO

As ataxias espinocerebelares autossômicas dominantes, ou SCAs, constituem um grupo complexo de doenças neurodegenerativas que atingem o cerebelo e suas principais conexões. Frequentemente fatais, as SCAs são herdadas de modo vertical, manifestam-se geralmente na vida adulta e apresentam grande heterogeneidade clínica¹. Novos casos são relatados sem nenhuma história familiar da doença². A prevalência das SCAs é estimada em 1-4/100.000³.

Os pacientes acometidos por ataxias espinocerebelares autossômicas dominantes apresentam disfunções neurológicas que refletem o comprometimento cerebelar de suas vias aferentes e eferentes, tais como a disartria, a dismetria, o nistagmo, o tremor de intenção, a decomposição de movimentos, a disdiadococinesia, a ataxia axial, etc. Estas manifestações são predominantes, mas pode haver também alterações nos gânglios da base, no tronco cerebral, na medula espinhal, nos nervos ópticos, na retina e nos nervos periféricos⁴.

Uma das características marcantes de várias ataxias espinocerebelares é sua expressividade variável, inclusive em uma mesma família. Principalmente em grandes famílias, onde várias pessoas manifestam os sintomas de uma determinada SCA, pode haver extensa gradação na gravidade, variedade e idade de início dos sintomas. A história familiar é consistente com a herança autossômica dominante de um único gene principal, mas os fenótipos resultantes são individualmente tão heterogêneos que não podem ser extrapolados para servirem de critério diagnóstico para casos de fora dessa família⁵.

Anteriormente aos avanços da genética molecular, a classificação destas desordens baseava-se na patogênese das mesmas, não havendo o conhecimento da causa específica das doenças e dos *loci* envolvidos⁶. Foram amplamente denominadas de ataxias espinocerebelares dominantes devido ao seu padrão de herança, mas devido a sua expressividade variável era muito difícil relacionar o defeito encontrado em uma família com o de outra. Com o avanço da genética molecular, foi possível comprovar que as SCAs são causadas por mutações em genes distintos, sendo que o número de *loci* identificados para as SCAs cresce a cada ano⁶.

As evidências apontam para os mesmos processos moleculares e fisiopatológicos para diversas SCAs e outras doenças neurodegenerativas, com as quais compartilham a mesma mutação: a expansão do trinucleotídeo CAG, o qual codifica uma glutamina⁷. SCA8 e SCA10 são exceções até o momento, apresentando

expansões do trinucleotídeo CTG e do pentanucleotídeo ATTCT, respectivamente^{6,8}. Este tipo de mutação é conhecido como mutação dinâmica e pode ser encontrado em outras doenças neurológicas, como em pacientes com a doença de Huntington e atrofia muscular ligada ao X. Grandes expansões de outros tripletes repetitivos são responsáveis por várias síndromes de sítios frágeis como CGG (FRAXA) e CCG (FRAXE), pela distrofia miotônica onde o códon repetido é o CTG e pela ataxia de Friedreich (GAA)_n⁹.

Com os avanços na elucidação da patogênese das SCAs, surgiu uma classificação das desordens em três grupos: ataxias espinocerebelares por expansão de poliglutamina (expansão CAG), incluindo SCA1, 2, 3, 6, 7 e 17 (desordens causadas por ganho de função); ataxias por repetição em região não codificante de um gene, como SCA8, 10 e 12; e ataxias causadas por mutações convencionais¹⁰.

Embora não seja conhecida a função da proteína produzida pelos genes na maioria das ataxias, a introdução de um segmento mais longo de glutaminas é a causa da doença em muitos dos casos, indicando um mecanismo comum de toxicidade. Há uma correlação inversa entre o tamanho da expansão CAG encontrada no alelo mutado e a idade de início da doença, fenômeno conhecido como antecipação, claramente observado na SCA2 e SCA7. A expansão CAG é instável tanto na meiose como na mitose, sendo que filhos de afetados tendem a começar a apresentar a doença mais cedo¹¹.

A patogênese gerada por expansões de poliglutaminas (poliQ) envolve uma proteólise específica das proteínas alteradas, gerando fragmentos tóxicos com longos tratos de poliglutamina, que agregam e são acumulados em corpos de inclusão nos neurônios¹². Embora compartilhem uma homologia de pequenas sequências, as proteínas implicadas em desordens poliQ possuem propriedades em comum, além de seu característico segmento poliglutamínico. Estas incluem a produção de fragmentos proteolíticos, acúmulo celular e processamento por caspases¹³. O acúmulo da proteína alterada ocorre no núcleo para SCA1, SCA7 e SCA17, no citoplasma para SCA2 e SCA6, e em ambos para SCA3⁹. Mesmo peptídeos sem função celular, contendo longas sequências de poliglutaminas, se agregam, apresentando toxicidade, sugerindo que grande parte dos problemas causados por ampliações de CAG não são causados pela deficiência na função das proteínas alteradas, mas por um ganho de função tóxica das longas sequências de glutamina que possuem¹⁴. Estudos recentes têm demonstrado que

cérebros humanos afetados por doenças de repetições expandidas de CAG compartilham várias alterações relacionadas à poliglutamina no núcleo neuronal e no citoplasma, incluindo a formação de inclusões intranucleares. Embora estas alterações patológicas apresentem uma distribuição característica de cada doença, elas estão geralmente presentes além da lesão, sugerindo que os neurônios são mais largamente afetados do que se tem reconhecido¹⁵. A concentração celular das proteínas mutadas, o contexto das expansões de poliglutamina em cada proteína mutada, assim como a extensão da expansão, influenciam na dinâmica da agregação¹⁶. Acredita-se ainda que outras proteínas que contêm sequências curtas de poliglutamina poderiam ser levadas a agregar junto às proteínas anormais, contribuindo para os fenótipos observados, sendo que vários reguladores e fatores de transcrição que apresentam estas sequências curtas de glutamina já foram co-localizados em inclusões de proteínas com poliglutaminas anormais em tecidos afetados¹⁷. A desregulação da transcrição em distúrbios de poliglutaminas tem sido apontada como um dos elementos responsáveis pelos problemas apresentados pelas células afetadas¹⁸.

Uma questão muito debatida é se são os agregados de proteínas patológicos ou se as proteínas em seu estado solúvel causam a toxicidade dos distúrbios de poliglutamina, sendo os agregados uma consequência de determinados mecanismos patogênicos. Vários pesquisadores relataram evidências conflitantes a este respeito, pois, embora muitas vezes haja maior comprometimento de grupos celulares contendo as inclusões¹⁹, outras vezes não há correlação²⁰, ou ainda, de forma inesperada, há uma correlação inversa entre os grupos celulares onde são observados os agregados e os grupos celulares mais atingidos pela patologia²¹.

Muitas questões estão por serem respondidas a respeito das SCAs, mas a biologia molecular proporcionou uma classificação mais racional das ataxias herdadas de forma dominante, onde as alterações moleculares são o principal parâmetro para a classificação das mesmas.

Neste artigo, nós revisamos as desordens da principal categoria de ataxias espinocerebelares: ataxias espinocerebelares causadas por expansão de poliglutamina (SCA1, 2, 3, 6 e 7), exceto SCA17.

MÉTODO

Este trabalho é uma revisão bibliográfica que utilizou, como fonte de pesquisa, prioritariamente, artigos científicos sobre SCAs, indexados nas bases de

dados Medline e PubMed, através do uso de termos como *SCAs*, *spinocerebellar ataxias*, *neurodegenerative diseases*, *cerebellum*, *polyglutamine*, *CAG repeats*, além de outros termos relacionados às ataxias espinocerebelares autossômicas dominantes. Os artigos analisados foram selecionados por apresentarem grande pertinência ao presente artigo.

DISCUSSÃO

Ataxia espinocerebelar tipo 1 (SCA1)

A ataxia espinocerebelar tipo 1 (SCA1) é uma doença neurodegenerativa progressiva autossômica dominante causada pela expansão de trinucleotídeos CAG no *locus* 6p22-p23²². O número de repetições varia de 6 a 39 em alelos normais e de 40 a 82 nos alelos mutados, sendo que ambos os alelos, tanto os normais como os expandidos, são transcritos⁹. A faixa normal pode apresentar interrupções de 1 a 3 CAT, o que estaria envolvido na estabilidade da sequência de repetições de trinucleotídeos durante a replicação do DNA, sendo que um alelo com 39 CAGs poderia levar ou não ao desenvolvimento da ataxia²³.

As desordens neurodegenerativas são caracterizadas por ataxia cerebelar, disartria, oftalmoparesia, oftalmoplegia, sinais piramidais e extrapiramidais, apresentando um grau variável de amiotrofia e neuropatia, sendo que os sintomas normalmente aparecem a partir dos trinta ou quarenta anos^{6,24}. As neuropatologias incluem perda neuronal severa no cerebelo e bulbo, bem como degeneração das áreas espinocerebelares²². A SCA1 se caracteriza por progressiva perda de coordenação, deterioração motora e degeneração das células de Purkinje do cerebelo, região espinocerebelar e bulbo²⁵.

A SCA1 foi descrita em famílias de diferentes origens geográficas e étnicas sendo encontrada mais comumente entre descendentes de italianos e de europeus orientais, além de canadenses e japoneses²⁶⁻³⁰. No Brasil, indivíduos acometidos por SCA1 foram diagnosticados na população do sul do país, apresentando alelos mutados⁸.

A idade de início média da doença é de 33 anos, apresentando uma variação entre 21 e 52 anos, com uma correlação inversa entre o início da doença e o número de CAGs nos alelos mutados, ou seja, fenômeno da antecipação⁴. Além disto, também foi estabelecida a instabilidade meiótica do *locus* SCA1²⁶. A repetição CAG expandida é instável durante sua transmissão, e uma variação no comprimento da repetição CAG tem sido encontrada em diferentes tecidos, incluindo amostras de esperma de homens afetados³¹.

O produto do gene da SCA1 (*SCA1* ou *ATXN1*) é conhecido como ataxina-1. Quando mutado, o gene gera uma proteína que apresenta uma expansão de poliglutamina (poliQ) levando à neurodegeneração através de interações anormais com outras moléculas nos neurônios envolvidos²². A expansão de poliglutamina leva à agregação da proteína ataxina-1, sendo que a superóxido dismutase (Cu/Zn-SOD), envolvida na patogênese de outras doenças neurodegenerativas apresentando agregados protéicos e localizada no citoplasma das células, é translocada para dentro do núcleo de células HeLa na presença de ataxina-1 expandida. Quanto maior for a expansão de poliglutamina, mais alto é o nível de translocação de (Cu/Zn-SOD). Além disso, a oxidação de proteínas intracelulares ocorre com maior frequência na presença da proteína ataxina-1 mutada, sugerindo que a atividade funcional de Cu/Zn-SOD deve ser diminuída pela ataxina-1 mutante³². Já a proteína 14-3-3, uma molécula regulatória multifuncional, medeia a neurotoxicidade da ataxina-1 ligando-se e estabilizando a proteína, ou seja, diminuindo a degradação normal. A associação da ataxina-1 com 14-3-3 é regulada pela fosforilação Akt, sendo que 14-3-3 e Akt modulam a neurodegeneração. Ambas cooperam para modular a neurotoxicidade da ataxina-1, identificando-se então potenciais alvos para intervenção terapêutica³³.

O núcleo é o sítio subcelular onde a proteína ataxina-1 mutada atua para causar a doença no cerebelo, e as evidências indicam que a expansão do trato de poliglutamina altera suas propriedades estruturais³⁴. Proteínas adicionais têm sido identificadas, sendo que alterações conformacionais ocorrem através de interações destas com a região de poliglutamina ou com as demais regiões da ataxina-1, o que leva à citotoxicidade de SCA1³⁵. Na SCA1, e também em outras doenças causadas por poliglutaminas, a proteína expandida se agrega como inclusões nucleares (NIs)³⁶. Esta característica ultra-estrutural comum às doenças em questão, também denominada de inclusões intranucleares neuronais (NII), inclui as proteínas expandidas e uma variedade de outras mais³⁷.

Há ainda evidências de que a ataxina-1 tenha uma atividade de ligação a RNA, inversamente afetada pelo tamanho do trato de poliglutamina, sugerindo que a proteína ataxina-1 tenha algum papel no metabolismo do RNA, e que a expansão do trato de poliglutamina possa alterar esta função³⁸.

Os mecanismos tóxicos de ganho de função pelos quais a expansão poliQ induz a morte neuronal não estão completamente entendidos, e nenhuma terapia

efetiva está disponível ainda. Contudo, a elucidação de rotas moleculares reguladas pela ataxina-1 está levando à descoberta de novos caminhos implicados na SCA1, sugerindo que efeitos negativos exercidos pela proteína mutante, mais do que apenas ganho de função, também devem ser responsáveis pela patogênese de SCA1²⁴. Estudos bioquímicos e genéticos evidenciam que a expansão da poliglutamina aumenta as interações que são normalmente reguladas por fosforilação na Ser776 e uma subsequente alteração na sua interação com outras proteínas celulares. Além disso, os achados de que outras interações da ataxina-1 estão diminuídas na doença, sugerem que a expansão de poliQ contribua para SCA1 por ganho de função e também por perda de função parcial³⁹. O desafio agora é determinar como estes conhecimentos podem ser traduzidos no desenvolvimento de estratégias terapêuticas²⁴.

A esperança terapêutica para os afetados por SCA1 vem das observações sobre a redução da agregação nuclear e o alívio do fenótipo patogênico pela aplicação de potentes inibidores e RNA de interferência³⁵.

Ataxia espinocerebelar tipo 2 (SCA2)

A ataxia espinocerebelar tipo 2 (SCA2), ou "ataxia de Holguín", foi descrita pela primeira vez em diversas famílias de afetados provenientes da província de Holguín, em Cuba⁴⁰. É uma doença neurodegenerativa causada pela expansão de trinucleotídeos CAG no *locus* mapeado no cromossomo 12q23-24.1⁴¹. Com a clonagem do gene, foi confirmada a presença da repetição CAG na região codificante apresentando-se expandida em alelos mutados⁴².

Os alelos normais do gene da SCA2 apresentam entre 14 e 31 repetições CAG, sendo que, na população geral, os alelos mais frequentes apresentam 22 e 23 repetições CAG, enquanto os alelos mutantes, entre 35 e 59 repetições⁴³. No entanto, alguns estudos mostram que 32 ou 33 repetições do trinucleotídeo CAG podem ser suficientes para causar a doença^{8,44}. A faixa normal é frequentemente interrompida por um ou mais triplets CAA, já os alelos expandidos, não possuem estes trinucleotídeos, sendo que as interrupções CAA desempenhariam um papel fundamental na estabilidade das repetições não expandidas em SCA2, e sua ausência tornaria os alelos predispostos à instabilização e também a uma expansão patológica⁴⁵.

A SCA2 apresenta uma idade de início média de 30 anos⁴. Entretanto, já foram identificados casos neonatais de SCA2, com alelos expandidos apresentando mais de 200 repetições CAG^{46,47}. O início das manifestações clínicas na idade juvenil e infantil, em

SCA2, está associado com expansões de 130 a mais de 200 CAGs⁴⁸.

O fenômeno da antecipação, com uma progressão mais severa da doença, está bem estabelecido para SCA2⁴⁷, estando a transmissão paterna associada às antecipações mais expressivas⁴. Instabilidade mitótica também é observada em SCA2, onde o sistema nervoso central de pacientes afetados apresenta mosaïcismo, ou seja, regiões com alelos expandidos de diferentes tamanhos⁴⁹.

A SCA2 caracteriza-se por lentidão dos movimentos sacádicos, hiporreflexia, severo tremor postural ou de ação e mioclonia^{44,47}. Os achados clínicos tendem a ser mais homogêneos dentro das famílias e mais variáveis entre as mesmas. Em determinadas famílias, o início é mais precoce, em torno dos 17 anos, por exemplo, sendo a evolução da doença mais grave. Já em outras, o início pode ser bem mais tardio, em torno de 50 anos, com manifestações clínicas típicas de SCA3/MJD (Doença de Machado/Joseph)⁵⁰. A ataxia espinocerebelar tipo 2 é, provavelmente, a segunda ataxia dominante mais frequente encontrada em populações mistas^{28,50}. Esta SCA é a mais comum no leste da Índia, com fortes evidências para um efeito fundador⁵¹. Em famílias italianas com algum tipo de ataxia espinocerebelar dominante, o genótipo de SCA2 tem sido encontrado em 31% delas, resultando na forma mais frequente de ataxia encontrada na Itália⁵². No Canadá, um estudo apontou SCA2 como a segunda ataxia espinocerebelar mais frequente na população estudada³⁰. Várias famílias têm sido identificadas com SCA2 em populações do sul do Brasil, sendo que o tempo médio de duração da doença tem se mostrado significativo⁸.

O gene da SCA2 (*SCA2* ou *ATXN2*) produz a proteína ataxina-2. Quando mutado, este gene origina uma proteína que apresenta uma expansão de poliglutamina levando à neurodegeneração, sendo que nesta ataxia também se observou o acúmulo de proteínas alteradas no núcleo, induzindo a formação de inclusões intranucleares neuronais (NIIs)^{53,54}. Entretanto, em modelos animais, com expressão de ataxina-2 mutada em células de Purkinje, a disfunção neuronal e alterações morfológicas são observadas sem a formação de agregados intranucleares⁵⁵.

De qualquer forma, corpos neuronais de inclusão intranuclear descritos em outras desordens por poliglutamina não são frequentes na SCA2. Entretanto, a ataxina-2 tem sido observada no Golgi, no retículo endoplasmático e na membrana plasmática, em interação com proteínas de tradução do mRNA e de endocitose. Como as primeiras afetadas na SCA2, as

células de Purkinje cerebelares devem ser preferencialmente suscetíveis às alterações destes processos subcelulares⁴⁷.

Interessantemente, em um estudo buscando a identificação de genes associados à morte celular em neuroblastoma, encontrou-se o gene da SCA2 como um importante participante deste processo. A expressão da ataxina-2 normal, não expandida, estimula as células do neuroblastoma a desencadarem a apoptose. Altos níveis de ataxina-2 foram detectados em células apoptóticas em comparação a células não apoptóticas, sugerindo um importante papel da ataxina-2 na regulação da susceptibilidade das células de neuroblastoma para a apoptose⁵⁶.

Para tratamento da SCA2, levodopa mostrou-se útil temporariamente para rigidez/bradicinesia e para tremor e magnésio para câibras musculares, mas terapias mais efetivas para esta doença neurodegenerativa dependerão da elucidação de sua patogênese⁴⁷.

Ataxia espinocerebelar tipo 3 (SCA3) ou Doença de Machado/Joseph (MJD)

A SCA3 ou Doença de Machado-Joseph (MJD, do inglês, *Machado - Joseph Disease*) é, sem dúvida, a ataxia espinocerebelar mais frequente na população brasileira, com várias famílias diagnosticadas. Este resultado se deve à nossa origem étnica preponderantemente portuguesa, onde a frequência da MJD é muito maior do que a das outras SCAs, provavelmente por efeito fundador, sendo que a migração açoriana ao sul do Brasil ocorreu em torno do ano de 1750^{8,57,58}. A ataxia espinocerebelar tipo 3 é, provavelmente, a SCA mais comum entre as diferentes etnias em muitas regiões do mundo^{11,59}.

Considerando que a MJD é difícil de ser diferenciada com precisão das outras SCAs apenas por sintomatologia clínica, uma série de achados neurológicos e familiares deve ser avaliada para facilitar o seu diagnóstico, normalmente, o início da doença é precedido por desequilíbrio e alterações da marcha⁶⁰.

A MJD/SCA3 é uma doença neurodegenerativa caracterizada por uma idade de início variada e uma pronunciada heterogeneidade clínica, apresentando ataxia cerebelar, oftalmoplegia e nistagmo, podendo-se encontrar ainda um quadro de demência, dor nas articulações e músculos⁶¹. Os achados cerebelares, encontrados em 97,8% dos casos portugueses, abrangem ataxia de marcha, disartria e incoordenação apendicular, nessa ordem de aparecimento e de gravidade. Já em pacientes brasileiros a ocorrência destes sintomas é de 93%⁶².

O gene para a MJD/SCA3, chamado de *MJD1* ou *ATXN3*, contém uma região codificante apresentando repetição do trinucleotídeo CAG⁶³, sendo que diferentes haplótipos intragênicos tem sido estudados no sentido de se entender a origem da mutação para MJD, contribuindo também para a caracterização da patologia, incluindo idade de início e severidade da doença^{8,64}. O gene desta doença localiza-se no cromossomo 14q32.1, tendo sido identificado primeiramente em famílias japonesas⁶⁵. O mapeamento foi confirmado em estudos com portugueses, norte-americanos e brasileiros^{66,67}. Vários casos da doença de Machado-Joseph tem sido diagnosticados em famílias francesas, alemãs, americanas, canadenses e brasileiras^{8,30,57,68,69}.

Uma correlação inversa significativa entre idade de início das manifestações clínicas e o tamanho da repetição expandida de CAG também foi observada na MJD/SCA3, com instabilidade da expansão CAG mais pronunciada na transmissão paterna^{61,70}. Uma forte correlação entre o número de repetições CAGs e a gravidade dos sintomas clínicos apresentados pelos pacientes já fora observada, porém apenas cerca de metade da variabilidade clínica pode ser explicada pela variação no tamanho da expansão do gene da SCA3⁵⁷. A idade de início da doença em pacientes brasileiros variou de 9 a 57 anos em uma população do sul do Brasil⁸. A idade de início entre homens e mulheres não se apresenta significativamente diferente. A duração média da doença é de 15,6 anos entre os portugueses, variando entre 7 e 29 anos. Já em pacientes brasileiros é de 17 anos, variando entre 5 e 30 anos⁷¹. No entanto, estudos mais recentes mostraram uma duração média de 8 anos em pacientes do sul do Brasil⁸.

Os indivíduos normais apresentam de 12 a 37 repetições CAG, já os afetados apresentam alelos de 61 a 84 repetições. Alelos intermediários, ou pré-mutações, foram observados em quatro membros de uma família alemã afetada, os quais apresentaram repetições com 53 e 54 CAGs, ou seja, alelos com repetições de um tamanho intermediário podem ser patogênicos⁷².

A ataxina-3 ou MJDp, proteína produzida pelo gene *MJD1*, possui um trato de poliglutamina cuja expansão produz inclusão intranuclear neuronal e neurodegeneração. Ataxina-3 mutada causa agregação proteica e morte celular *in vitro* e *in vivo*⁷³. Esta proteína pertence a um novo grupo de cisteína-proteases, acreditando-se que seja ativa contra cadeias ubiquitinadas ou substratos relacionados^{74,75}. A ataxina-3 é única entre as proteínas poliQ, pois apenas ela pode agir como inibidora da toxicidade de poliQ, apresentando uma atividade supressora que opõe sua própria toxicidade,

característica ligada ao seu envolvimento nos passos de degradação de proteínas ubiquitina-dependente¹¹.

Clivagem de agregados proteicos, no caso da ataxina-3, constitui uma potencial terapia para SCA3⁷⁶. A proteína Hsp27 (*Heat Shock Protein 27*) é conhecida como supressora de morte celular mediada por poliQ, na presença da ataxina-3 mutada, em diferentes culturas celulares. Nos estágios mais tardios da doença, após prolongadas condições de citotoxicidade por poliglutamina, há um aumento nos níveis celulares de Hsp27, o que pode refletir um processo dinâmico das células sobreviventes para remover a ataxina-3 mutante. Contudo, o aumento de Hsp27 não pode inverter a disfunção global das proteínas celulares devido ao acúmulo dos efeitos tóxicos⁷⁷.

Finalmente, pode ser possível desligar seletivamente o gene *MJD1* e outros genes associados às SCAs através de RNA de interferência, o que tem sido observado em modelos animais para certas doenças poliQ¹¹.

Talvez a ilustração mais clara de terapia sintomática para SCA3 seja o tratamento das características parecidas com a doença de Parkinson, incluindo tremor. Estes sintomas respondem bem à terapia de reposição de dopamina. Alguns indivíduos com distonia e bradicinesia também podem responder à terapia dopaminérgica. Já para desordem de REM (*Rapid Eye Movement*), clonazepam pode ajudar, e modafinil pode ser efetivo para desordens do sono¹¹.

Ataxia espinocerebelar tipo 6 (SCA6)

A ataxia espinocerebelar tipo 6 (SCA6) é uma doença causada pela expansão de trinucleotídeos CAG no *locus* 19p13, tendo como característica a morte seletiva e progressiva das células de Purkinje, o que leva a uma ataxia progressiva⁷⁸. O quadro clínico é caracterizado por uma lenta e progressiva ataxia, disartria e disfunção cerebelar^{79,80}. Aproximadamente metade dos casos de ataxias cerebelares nas populações do Japão, são diagnosticados como SCA6, e cerca de 14% na população do Canadá^{30,81}. Algumas famílias com SCA6 foram identificadas no Brasil apresentando severa ataxia dos membros e uma idade de início média de 33 anos⁸.

A mutação na SCA6 consiste de uma expansão de trinucleotídeos CAG no exon 47 do gene *CACNA1A*, o qual codifica a subunidade alfa 1A do canal de cálcio neuronal (CACNA1A) presente em todo o encéfalo, mas expresso especialmente no cerebelo, levando a uma expansão de resíduos de glutamina^{78,80}. Acredita-se que SCA6 seja uma doença provocada por uma alteração no funcionamento do canal de cálcio

das células de Purkinje, levando à degeneração das mesmas, através de excessiva entrada de íons cálcio nas células⁷⁸.

Nos alelos normais, a sequência CAG se encontra repetida de 4 a 20 vezes, enquanto que nos alelos expandidos o número de repetições varia de 21 a 29, sendo que 20 repetições de CAG podem causar a doença^{8,9,82}. Entretanto, um paciente de uma família italiana, acometida por SCA6, manifestou os efeitos clínicos da doença apresentando alelos com 19 repetições em homozigose. Outros três membros, também apresentando este alelo, porém heterozigotos com alelos normais, não foram afetados, demonstrando um efeito patogênico dose dependente em SCA6⁸³.

Vários estudos demonstram o efeito da antecipação em famílias acometidas por SCA6⁸⁴. Contudo, estabilidade intergerações do número de repetições CAG tem sido considerada uma característica específica de SCA6, comparando-se com outras SCAs. Entretanto, instabilidade meiótica no gene de SCA6 foi observada em duas famílias japonesas, tanto na transmissão paterna como materna⁸⁵.

As repetições CAG expandidas nos alelos mutados de SCA6 são bem menores do que as encontradas nas demais doenças causadas por expansões CAG. Como pode ser verificado, tais expansões ficam dentro da faixa normal de variação de outras SCAs. O tamanho bem menor da expansão CAG pode sugerir um mecanismo patogênico distinto das outras ataxias⁴³. A diferente localização das mutações até o momento encontradas no gene *CACNA1A* pode ser uma das explicações. A expansão de glutaminas na terminação carboxila da proteína levaria a uma disfunção contínua do canal de cálcio, levando a uma doença progressiva, enquanto que outras mutações provocariam alterações transitórias da função do canal⁸⁴.

O gene da SCA6 pode sofrer outros dois tipos de mutações, levando a duas patologias diferentes. Trata-se da ataxia cerebelar paroxística hereditária (HPCA) e da enxaqueca hemiplégica familiar (FHM), sendo que os pacientes acometidos por tais patologias também apresentam ataxia, embora seja periódica e transitória⁸⁶. A subunidade alfa 1A do canal de cálcio apresenta quatro domínios homólogos que se encontram face a face dentro do canal propriamente dito. As mutações de ponto associadas às duas doenças, HPCA e FHM, foram identificadas nesses domínios, já a repetição CAG, que quando expandida leva à SCA6, localiza-se na região 3' do gene *CACNA1A*. Atualmente, entretanto, postula-se que uma única mutação no gene *CACNA1A* cause vários fenótipos, incluindo aqueles

da SCA6 e FHM, sugerindo-se que tais doenças sejam a mesma desordem com uma grande variabilidade fenotípica⁸⁷. Para alguns pesquisadores, SCA6 está associada com uma pequena expansão CAG no gene *CACNA1A*, enquanto mutações de ponto são responsáveis por outras duas patologias alélicas, a ataxia episódica tipo 2 e FHM, sendo que SCA6 parece compartilhar as características com ambos os tipos de doenças⁸⁸.

Agregados de proteína do canal de cálcio alfa 1A tem sido demonstrados na SCA6, sendo que pequenas inclusões estão presentes, principalmente, no citoplasma, mas também, no núcleo das células de Purkinje. Embora o tamanho das expansões seja pequeno na SCA6, os achados podem indicar que esta ataxia compartilha dos mesmos mecanismos patogênicos de outras doenças causadas por poliglutamina⁸⁹. Entretanto, a análise funcional do canal de cálcio, em células expressando a proteína alfa 1A expandida, mostrou uma atividade alterada do mesmo, sugerindo que esta doença seja uma patologia causada por disfunção neste canal, e não pelos mecanismos envolvidos nas outras desordens por poliglutaminas⁹⁰.

O surgimento de tratamentos para SCA6 dependerá de uma melhor definição do mecanismo da doença. Como uma doença causada por uma mutação em um gene de canal iônico, SCA6 pode se comportar como uma patologia de canal de íon, podendo responder a tentativas de modular ou corrigir a função do canal. No entanto, como uma doença na qual a proteína mutante contém uma poliglutamina expandida, SCA6 pode responder a terapias desenvolvidas para doença de Huntington e outras desordens causadas por poliglutamina⁸⁰.

Ataxia espinocerebelar tipo 7 (SCA7)

A ataxia espinocerebelar tipo 7 (SCA7) caracteriza-se fundamentalmente pela associação de uma ataxia cerebelar e uma distrofia macular, ambas progressivas. A doença afeta o cerebelo e leva a uma degeneração da retina, mas também acomete muitas outras estruturas do sistema nervoso central com o progresso da doença^{91,92}.

O gene da SCA7 (*SCA7* ou *ATXN7*) está localizado no *locus* 3p12-p12.1 apresentando uma repetição CAG que está expandida em indivíduos afetados⁹³. A expansão é traduzida em um trato de poliglutamina na proteína ataxina-7, produto do gene da SCA7⁹².

A idade de início média para SCA7 fica em torno dos 30 anos, embora varie dos 3 meses de vida aos 65 anos⁴. O sintoma inicial é a ataxia cerebelar no caso da doença surgir após os 30 anos. Em casos onde a

doença é mais precoce, a amaurose normalmente é o primeiro sintoma. Outros achados para SCA7 são a disartria, a oftalmoparesia, a hiperreflexia, o sinal de Babinski, a espasticidade, a hipoacusia e a redução da sensibilidade vibratória, sendo que movimentos distônicos, miocimias faciais e demência, são infrequentes⁹⁴.

Os alelos expandidos apresentam de 36 a 306 repetições e os normais variam de 4 a 35 repetições⁹¹. O alelo expandido é bastante instável na meiose, havendo forte correlação negativa entre o tamanho da repetição CAG e a idade de início⁴. Há também uma correlação significativa entre o tamanho da expansão e a taxa de progressão da doença. A sequência CAG repetida é particularmente instável na SCA7, e mutações *de novo* podem ocorrer na transmissão de alelos intermediários, ou pré-mutações (28-35 repetições CAG), o que explica a persistência de SCA7, apesar da grave antecipação que poderia levar à extinção da doença^{91,92}.

O fenômeno da antecipação é bastante importante nesta ataxia, apresentando, em média, 22 anos quando a transmissão é paterna e 17 anos quando a transmissão é materna^{3,4}. Em um estudo na população do sul do Brasil, a média de antecipação ficou em 25 anos⁸. A instabilidade da sequência repetida, aproximadamente 12 CAG por transmissão, leva a uma antecipação de aproximadamente 20 anos por geração⁹¹. Esta característica corrobora a hipótese de que SCA7 apresenta um grande potencial de aparecimento *de novo*. Entretanto, a frequência de expansões no gene da SCA7 na África do Sul representa uma das mais altas para estas expansões estudadas em qualquer país, sendo que as mutações têm sido encontradas apenas em famílias sul africanas de origem étnica negra⁹⁵.

A SCA7 foi diagnosticada em populações das mais variadas origens geográficas como vários países europeus, africanos, além de Estados Unidos, Brasil, Israel e Coreia do Sul⁹⁴. Vários indivíduos foram reportados com SCA7 na população brasileira, apresentando antecipação severa e significativos sinais piramidais, além de severa atrofia óptica⁸.

Algumas pesquisas têm demonstrado que a proteína ataxina-7 é uma acetiltransferase⁷⁵. Contudo, na SCA7 também se observou o acúmulo de proteínas alteradas no núcleo celular, induzindo a formação de inclusões intranucleares neuronais (NIIs)⁵⁴. Evidências indicam que a desregulação transcricional pode contribuir para a patogênese de SCA7, assim como em outras SCAs⁹⁶. Vários mecanismos potenciais para a patogênese molecular da ataxina-7 poliQ-expandida tem sido sugeridos. Estes incluem alteração de função, processamento e estabilidade anormais, além da

alteração da regulação transcricional via interação de ataxina-7 poliQ-expandida com outros reguladores transcricionais. A função normal da ataxina-7 como um fator de transcrição, pode contribuir para a vulnerabilidade seletiva de populações celulares específicas na SCA7, sendo que a ataxina-7 poliQ-expandida pode causar neurodegeneração nas células de Purkinje cerebelares⁹². Finalmente, alguns achados têm revelado que a ataxina-7 é clivada pela caspase-7, sugerindo que este processamento proteolítico possa contribuir para a patogênese da SCA7¹³.

Terapias pós-transcricionais de silenciamento gênico baseadas em RNA de interferência estão em investigação, procurando-se identificar seletivos “hairpins” de RNA para silenciamento do transcrito da ataxina-7 mutante. Dados recentes têm demonstrado o silenciamento alelo-específico da mutação para poliglutamina em modelos de estudos com SCA7, apresentando significativa redução nos níveis da proteína tóxica com uma diminuição na agregação da ataxina-7 mutante e retenção da forma normal em uma distribuição celular não agregada, proporcionando conhecimento para o uso de RNA de interferência alelo-específico como um método terapêutico viável para o tratamento da ataxia espinocerebelar tipo 7⁹⁷.

O entendimento da base do mecanismo patogênico é o foco principal das atuais pesquisas sobre a SCA7, bem como o desenvolvimento de terapias para esta desordem neurodegenerativa.

CONCLUSÕES

As ataxias espinocerebelares autossômicas dominantes tem sido recentemente, objeto de importantes estudos, visando estabelecer a identificação das mutações e a compreensão da fisiopatologia, além dos aspectos clínicos e epidemiológicos das mesmas. Com o avanço das pesquisas, muito foi descoberto sobre as SCAs, com um aumento substancial no número de *loci* envolvidos nas diferentes ataxias. Nosso conhecimento dos mecanismos moleculares das SCAs está crescendo rapidamente, e o desenvolvimento de relevantes modelos animais está trazendo esperança para terapias efetivas em humanos³. No entanto, muitos estudos devem ser realizados para o surgimento de tratamentos mais eficazes aos pacientes acometidos por estas patologias, buscando-se uma melhor qualidade de vida e, se possível, a cura para estas doenças.

Finalmente, uma questão extremamente importante é a disponibilidade de acesso a testes preditivos por parte dos familiares de pacientes com SCAs, entretanto, existe uma série de implicações éticas e legais que

devem ser levadas em consideração⁹⁸. O oferecimento destes testes deve fazer parte de um aconselhamento genético abrangente, o qual ajude cada indivíduo ou casal a tomar as decisões adequadas às suas necessidades.

Acreditamos que num futuro próximo, através dos novos conhecimentos gerados pelas pesquisas, tenhamos mais perspectivas em termos de diagnósticos para as diferentes ataxias, além de tratamentos mais eficazes. Portanto, sugerimos a busca de novos *loci* envolvidos com estas doenças, além de estudos que possam gerar a total compreensão dos mecanismos fisiopatológicos das diversas SCAs, sendo necessárias mais pesquisas moleculares, epidemiológicas e clínicas na população brasileira.

REFERÊNCIAS

- Zoghbi HY, Orr HT. Spinocerebellar Ataxias, In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, (eds). The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8ª. ed. New York, McGraw-Hill, 2001, p.5741-58.
- Koob MD, Moseley ML, Schut LJ, Benzow K, Bird TD, Day JW, et al. An untranslated CTG expansion causes a novel form of spinocerebellar ataxia (SCA8). *Natura Genet* 1999;21:379-84.
- Manto MU. The wide spectrum of spinocerebellar ataxias (SCAs). *Cerebellum* 2005;4:2-6.
- Jardim LB. Aspecto clínicos e moleculares da doença de Machado-Joseph no Rio Grande do Sul. (Tese). Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000, 317p.
- Harding AE. The hereditary ataxias and related disorders. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1984, 266p.
- Trott A. Análise Molecular e Clínica das Ataxias Espinocerebelares. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007, 105p.
- Stevanin G, Durr A, Brice A. Clinical and molecular advances in autosomal dominant cerebellar ataxias: from genotype to phenotype and pathophysiology. *Eur J Hum Genet* 2000;8:4-18.
- Trott A, Jardim LB, Ludwig HT, Saute JAM, Artigal O, Kieling C, et al. Spinocerebellar ataxias in 114 Brazilian families: clinical and molecular findings. *Clin Genet* 2006;70:173-6.
- Gatchel JR, Zoghbi HY. Diseases of unstable repeat expansion: mechanisms and common principles. *Nature Genet* 2005;6:743-55.
- Soong B, Paulson HL. Spinocerebellar ataxias: an update. *Current Opinion in Neurology* 2007;20:438-46.
- Paulson HL. Dominantly Inherited Ataxias: Lessons Learned from Machado-Joseph Disease/Spinocerebellar Ataxia Type 3. *Seminars in Neurology* 2007;27:133-42.
- Warrick J, Paulson H, Gray-Board G, Bui Q, Fischbeck K, Pittman R, et al. Expanded Polyglutamine Protein Forms Nuclear Inclusions and Causes Neural Degeneration in *Drosophila*. *Cell* 1998;93:939-49.
- Young JE, Gouw L, Propp S, Sopher BL, Taylor J, Lin A, et al. Proteolytic cleavage of ataxin-7 by caspase-7 modulates cellular toxicity and transcriptional dysregulation. *J Biol Chem* 2007;282:30150-60.
- Marsh JL, Walker H, Theisen H, Zhu YZ, Fielder T, Purcell J, et al. Expanded polyglutamine peptides alone are intrinsically cytotoxic and cause neurodegeneration in *Drosophila*. *Hum Mol Genet* 2000;1:13-25.
- Yamada M, Sato T, Tsuji S, Takahashi H. CAG repeat disorder models and human neuropathology: similarities and differences. *Acta Neuropathol* 2008;115:71-86.
- Shao J, Diamond MI. Polyglutamine diseases: emerging concepts in pathogenesis and therapy. *Hum Mol Genet* 2007;16:115-23.
- Okazawa H. Polyglutamine diseases: a transcription disorder? *Cell Mol Life Sci* 2003;60:1427-39.
- Luthi-Carter R, Hanson SA, Strand AD, Bergstrom DA, Chun W, Peters NL, et al. Dysregulation of gene expression in the R6/2 model of polyglutamine disease: parallel changes in muscle and brain. *Hum Mol Genet* 2002;11:1911-26.
- Paulson HL, Perez MK, Trotter Y, Trojanowski JQ, Subramony SH, Das SS, et al. Intracellular inclusions of expanded polyglutamine protein in spinocerebellar ataxia type 3. *Neuron* 1997;19:333-44.
- Einum DD, Townsend JJ, Ptáček LJ, Fu YH. Ataxin-7 expression analysis in controls and spinocerebellar ataxia type 7 patients. *Neurogenetics* 2001;3:83-90.
- Nagaoka U, Uchihara T, Iwabuchi K, Konno H, Tobita M, Funata N, et al. Attenuated nuclear shrinkage in neurons with nuclear inclusions of SCA1 brains. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:597-601.
- Zoghbi HY. Spinocerebellar ataxia type 1. *Clin Neurosci* 1995;3:5-11.
- Zuhlke C, Dalski A, Hellenbroich Y, Babel S, Schwinger E, Burk K. Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1): phenotype-genotype correlation studies in intermediate alleles. *Eur J Hum Genet* 2002;10:204-9.
- Matilla-Dueñas A, Goold R, Giunti P. Clinical, genetic, molecular, and pathophysiological insights into spinocerebellar ataxia type 1. *Cerebellum* 2008;7:106-14.
- Cummings CJ, Orr HT, Zoghbi HY. Progress in pathogenesis studies of spinocerebellar ataxia type 1. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999;354:1079-81.
- Ranum LP, Chung MY, Banfi S, Bryer A, Schut LJ, Ramesar R, et al. Molecular and clinical correlations in spinocerebellar ataxia type 1: evidence for familial effects on the age at onset. *Am J Hum Genet* 1994;55:244-52.
- Silveira I, Lopes-Cendes I, Kish S, Maciel P, Gaspar C, Coutinho P, et al. Frequency of spinocerebellar ataxia type 1, dentatorubropallidolysian atrophy and Machado-Joseph disease mutations in a large group of spinocerebellar ataxia patients. *Neurology* 1996;46:214-8.
- Schöls L, Amoiridis G, Büttner T, Przuntek H, Epplen J, Riess O. Autosomal dominant cerebellar ataxia: phenotypic differences in genetically defined subtypes? *Ann Neurol* 1997;42:924-32.
- Sasaki H, Yabe I, Tashiro K. The hereditary spinocerebellar ataxias in Japan. *Cytogenet Genome Res* 2003;100:198-205.
- Kraft S, Furtado S, Ranawaya R, Parboosingh J, Bleoo S, McElligott K. Adult onset spinocerebellar ataxia in a Canadian movement disorders clinic. *Can J Neurol Sci* 2005;32:450-8.
- Koefoed P, Hasholt L, Fenger K, Nielsen JE, Eiberg H, Buschard K, et al. Mitotic and meiotic instability of the CAG trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Hum Genet* 1998;103:564-9.
- Kim SJ, Kim TS, Kim IY, Hong S, Rhim H, Kang S. Polyglutamine-expanded ataxin-1 recruits Cu/Zn-superoxide dismutase into the nucleus of HeLa cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;307:660-5.
- Chen HK, Fernandez-Funez P, Acevedo SF, Lam YC, Kaytor MD, Fernandez MH, et al. Interaction of Akt-phosphorylated ataxin-1 with 14-3-3 mediates neurodegeneration in spinocerebellar ataxia type 1. *Cell* 2003;113:457-68.
- Orr HT, Zoghbi HY. SCA1 molecular genetics: a history of a 13 year collaboration against glutamines. *Hum Mol Genet* 2001;10:2307-11.
- Kang S, Hong S. Molecular pathogenesis of Spinocerebellar Ataxia type 1 disease. *Mol Cells* 2009;27:621-7.
- Cummings CJ, Sun Y, Opal P, Antalffy B, Mestril R, Orr HT, et al. Over-expression of inducible HSP70 chaperone suppresses neuropathology and improves motor function in SCA1 mice. *Hum Mol Genet* 2001;10:1511-8.
- Klockgether T, Wullner U, Spauschus A, Evert B. The molecular biology of the autosomal-dominant cerebellar ataxias. *Mov Disord* 2000;15:604-12.
- Yue S, Serra HG, Zoghbi HY, Orr HT. The spinocerebellar ataxia type 1 protein, ataxin-1, has RNA-binding activity that is inversely affected by the length of its polyglutamine tract. *Hum Mol Genet* 2001;10:25-30.
- Zoghbi HY, Orr HT. Pathogenic Mechanisms of a Polyglutamine-mediated Neurodegenerative Disease, Spinocerebellar Ataxia Type 1. *J Biol Chem* 2009;284:7425-9.
- Orozco Diaz G, Nodarse Fleites A, Cordovés Sagaz R, Augurger G. Autosomal dominant cerebellar ataxia: clinical analysis of 263 patients from a homogeneous population in Holguín, Cuba. *Neurology* 1990;40:1369-75.
- Gispert S, Twells R, Orozco G, Brice A, Weber J, Heredero L, et al. Chromosomal assignment of the second locus for autosomal dominant ce-

- rebellar ataxia (SCA2) to human chromosome 12q23-24.1. *Nature Genet* 1993;4:295-9.
42. Pulst SM, Nechiporuk A, Nechiporuk T, Gispert S, Chen X-N, Lopes-Cendes I, et al. Moderate expansion of a normally biallelic trinucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 2. *Nat Genet* 1996;14:269-76.
43. Kakizuka A. Protein precipitation: a common etiology in neurodegenerative disorders? *Trend Gen* 1998;14:396-402.
44. Fernandez M, McClain ME, Martinez RA, Snow K, Lipe H, Ravits J, et al. Late-onset SCA2: 33 CAG repeats are sufficient to cause disease. *Neurology* 2000;55:569-72.
45. Choudhry S, Mukerji M, Srivastava AK, Jain S, Brahmachari SK. CAG repeat instability at SCA2 locus: anchoring CAA interruptions and linked single nucleotide polymorphisms. *Hum Mol Genet* 2001;10:2437-46.
46. Moretti P, Blazo M, Garcia L, Armstrong D, Lewis RA, Roa B, et al. Spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) presenting with ophthalmoplegia and developmental delay in infancy. *Am J Med Genet* 2004;124:392-6.
47. Lastres-Becker I, Rüb U, Auburger G. Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2). *The Cerebellum* 2008;7:115-24.
48. Mao R, Aylsworth AS, Potter N, Wilson WG, Brenningstall G, Wick MJ, et al. Childhood-onset ataxia: testing for large CAG-repeats in SCA2 and SCA7. *Am J Med Genet* 2002;110:338-45.
49. Matsuura T, Sasaki H, Yabe I, Hamada K, Hamada T, Shitara M, et al. Mosaicism of unstable CAG repeats in the brain of spinocerebellar ataxia type 2. *J Neurol* 1999;246:835-9.
50. Geschwind DH, Perlman S, Figueroa CP, Treiman LJ, Pulst S. The prevalence and wide clinical spectrum of the spinocerebellar ataxia type 2 trinucleotide repeat in patients with autosomal dominant cerebellar ataxia. *Am J Hum Genet* 1997;60:842-50.
51. Sinha KK, Worth PF, Jha DK, Sinha S, Stinton VJ, Davis MB, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia: SCA2 is the most frequent mutation in eastern India. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:448-52.
52. Cellini E, Forleo P, Nacmias B, Tedde A, Latorraca S, Piacentini S, et al. Clinical and genetic analysis of hereditary and sporadic ataxia in central Italy. *Brain Res Bull* 2001;56:363-6.
53. Pang JT, Giunti P, Chamberlain S, An SF, Vitaliani R, Scaravilli T, et al. Neuronal intranuclear inclusions in SCA2: a genetic, morphological and immunohistochemical study of two cases. *Brain* 2002;125:656-63.
54. Takahashi J, Fujigasaki H, Iwabuchi K, Bruni AC, Uchihara T, El Hachimi KH, et al. PML nuclear bodies and neuronal intranuclear inclusion in polyglutamine diseases. *Neurobiol Dis* 2003;13:230-7.
55. Huynh DP, Yang HT, Vakharia H, Nguyen D, Pulst SM. Expansion of the polyQ repeat in ataxin-2 alters its Golgi localization, disrupts the Golgi complex and causes cell death. *Hum Mol Genet* 2003;12:1485-96.
56. Wiedemeyer R, Westermann F, Wittke I, Nowock J, Schwab M. Ataxin-2 promotes apoptosis of human neuroblastoma cells. *Oncogene* 2003;22:401-11.
57. Jardim LB, Silveira I, Pereira ML, Ferro A, Alonso I, do Ceu Moreira M, et al. A survey of spinocerebellar ataxia in South Brazil - 66 new cases with Machado-Joseph disease, SCA7, SCA8, or unidentified disease-causing mutations. *J Neurol* 2001;248:870-6.
58. Rolim L, Leite A, Lêdo S, Paneque M, Sequeiros J, Fleming M. Psychological aspects of pre-symptomatic testing for Machado-Joseph disease and familial amyloid polyneuropathy type I. *Clin Genet* 2006;69:297-305.
59. Jia D, Jian H, Tang B. Recent advances in molecular genetics of spinocerebellar ataxia type 3/Machado-Joseph disease. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2008;25:660-2.
60. Sequeiros J, Coutinho P. Epidemiology and clinical aspects of Machado-Joseph disease. In: Harding A, Deufel T, Chamberlain S (eds) *Advances in neurology*. Raven Press, New York; 1993, p.139-53.
61. Lokkegaard T, Nielsen JE, Hasholt L, Fenger K, Werdelin L, Tranebjaerg L, et al. Machado-Joseph disease in three Scandinavian families. *J Neurol Sci* 1998;156:152-7.
62. Jardim LB, Pereira ML, Silveira I, Ferro A, Sequeiros J, Giugliani R. Machado-Joseph disease in South Brazil: clinical and molecular characterization of kindreds. *Acta Neurol Scand* 2001;104:224-31.
63. Schmitt I, Evert BO, Khazneh H, Klockgether T, Wuellner U. The human MJD gene: genomic structure and functional characterization of the promoter region. *Gene* 2003;314:81-8.
64. Gaspar C, Lopes-Cendes I, Hayes S, Goto J, Arvidsson K, Dias A, et al. Ancestral Origins of the Machado-Joseph Disease Mutation: A Worldwide Haplotype Study. *Am J Hum Genet* 2001;68:523-8.
65. Takiyama Y, Nishizawa M, Tanaka H, Kawashima S, Sakamoto H, Karube Y, et al. The gene for Machado-Joseph disease maps to human chromosome 14q. *Nature Genet* 1993;4:300-3.
66. Sequeiros J, Silveira I, Maciel P, Coutinho P, Manaia A, Gaspar C, et al. Genetic linkage studies of Machado-Joseph disease with chromosome 14q STRPs in 16 Portuguese-Azorean kindreds. *Genomics* 1994;21:645-8.
67. Twist EC, Casaubon LK, Ruddle MH, Rao VS, Macleod PM, Radvany J, et al. Machado Joseph disease maps to the same region of chromosome 14 as the spinocerebellar ataxia type 3 locus. *J Med Genet* 1995;32:25-31.
68. Stevanin G, Le Guern E, Ravise N, Chneiweiss H, Durr A, Cancel G, et al. A third locus for autosomal dominant cerebellar ataxia type I maps to chromosome 14q24.3-qtter: evidence for the existence of a fourth locus. *Am J Hum Genet* 1994;54:11-20.
69. Schöls L, Vieira-Saecker AM, Schols S, Przuntek H, Epplen JT, Riess O. Trinucleotide expansion within the MJD1 gene presents clinically as spinocerebellar ataxia and occurs most frequently in German SCA patients. *Hum Mol Genet*. 1995;4:1001-5.
70. Riess O, Rüb U, Pastore A, Bauer P, Schöls L. SCA3: neurological features, pathogenesis and animal models. *Cerebellum* 2008;7:125-37.
71. Jardim LB, Pereira ML, Silveira I, Ferro A, Sequeiros J, Giugliani R. Neurologic findings in Machado-Joseph disease. *Arch Neurol* 2001;58:899-904.
72. Van Alfen N, Sinke RJ, Zwarts MJ, Gabreels-Festen A, Praamstra P, Kremer BP, et al. Intermediate CAG repeat lengths (53,54) for MJD/SCA3 are associated with an abnormal phenotype. *Ann Neurol* 2001;49:805-7.
73. Yoshida H, Yoshizawa T, Shibasaki F, Shoji S, Kanazawa I. Chemical chaperones reduce aggregate formation and cell death caused by the truncated Machado-Joseph disease gene product with an expanded polyglutamine stretch. *Neurobiol Dis* 2002;10:88-99.
74. Doss-Pepe EW, Stenroos ES, Johnson WG, Madura K. Ataxin-3 interactions with rad23 and valosin-containing protein and its associations with ubiquitin chains and the proteasome are consistent with a role in ubiquitin-mediated proteolysis. *Mol Cell Biol* 2003;23:6469-83.
75. Scheel H, Tomiuk S, Hofmann K. Elucidation of ataxin-3 and ataxin-7 function by integrative bioinformatics. *Hum Mol Genet* 2003;12:2845-52.
76. Tarlac V, Storey E. Role of proteolysis in polyglutamine disorders. *J Neurosci Res* 2003;74:406-16.
77. Chang WH, Cemal CK, Hsu YH, Kuo CL, Nukina N, Chang MH, et al. Dynamic expression of Hsp27 in the presence of mutant ataxin-3. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;336:258-67.
78. Restituito S, Thompson RM, Eliet J, Raïke RS, Riedl M, Charnet P, et al. The polyglutamine expansion in spinocerebellar ataxia type 6 causes a beta subunit-specific enhanced activation of P/Q-type calcium channels in *Xenopus* oocytes. *J Neurosci* 2000;20:6394-403.
79. Soong B, Liu R, Wu L, Lu Y, Lee H. Metabolic characterization of spinocerebellar ataxia type 6. *Arch Neurol* 2001;58:300-4.
80. Kordasiewicz HB, Gomez CM. Molecular pathogenesis of spinocerebellar ataxia type 6. *Neurotherapeutics* 2007;4:285-94.
81. Yamashita I, Sasaki H, Yabe I, Fukazawa T, Nogoshi S, Komeichi K, et al. A novel locus for dominant cerebellar ataxia (SCA14) maps to a 10.2-cM interval flanked by D19S206 and D19S605 on chromosome 19q13.4-qtter. *Ann Neurol* 2000;48:156-63.
82. Komeichi K, Sasaki H, Yabe I, Yamashita I, Kikuchi S, Tashiro K. Twenty CAG repeats are sufficient to cause the SCA6 phenotype. *J Med Genet* 2001;38:e38.
83. Mariotti C, Gellera C, Grisoli M, Miner R, Castucci A, Di Donato S. Pathogenic effect of an intermediate-size SCA-6 allele (CAG)(19) in a homozygous patient. *Neurology* 2001;57:1502-4.
84. Zhuchenko O, Bailey J, Bonnen P, Ashizawa T, Stockton D, Amos C, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the 1A-voltage-dependent calcium channel. *Nature Genetics* 1997;15:62-8.
85. Shimazaki H, Takiyama Y, Sakoe K, Amaie M, Nagaki H, Namekawa M, et al. Meiotic instability of the CAG repeats in the SCA6/CACNA1A gene in two Japanese SCA6 families. *J Neurol Sci* 2001;185:101-7.
86. Ophoff RA, Terwin DT, Vergouwe MN, Vaneijk R, Oefner PJ, Hoffmans MG, et al. Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type 2 are caused by mutations in the Ca²⁺ channel gene CACNA1A. *Cell* 1996;87:543-52.
87. Alonso I, Barros J, Tuna A, Coelho J, Sequeiros J, Silveira I, et al. Phenotypes of spinocerebellar ataxia type 6 and familial hemiplegic migraine

- caused by a unique CACNA1A missense mutation in patients from a large family. *Arch Neurol* 2003;60:610-4.
- 88.Mantuano E, Veneziano L, Jodice C, Frontali M. Spinocerebellar ataxia type 6 and episodic ataxia type 2: differences and similarities between two allelic disorders. *Cytogenet Genome Res* 2003;100:147-53.
- 89.Ichikawa K, Owada K, Ishida K, Fujigasaki H, Shun Li M, Tsunemi T, et al. Cytoplasmic and nuclear polyglutamine aggregates in SCA6 Purkinje cells. *Neurology* 2001;56:1753-6.
- 90.Frontali M. Spinocerebellar ataxia type 6: channelopathy or glutamine repeat disorder? *Brain Res Bull* 2001;56:227-31.
- 91.Lebre AS, Brice A. Spinocerebellar ataxia 7 (SCA7). *Cytogenet Genome Res* 2003;100:154-63.
- 92.Garden GA, La Spada AR. Molecular pathogenesis and cellular pathology of spinocerebellar ataxia type 7 neurodegeneration. *Cerebellum* 2008;7:138-49.
- 93.David G, Abbas N, Stevanin G, Dürr A, Yvert G, Cancel G, et al. Cloning the SCA7 gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. *Nat Genet* 1997;17:65-70.
- 94.Stevanin G, David G, Abbas N, Dürr A, Holmberg M, Duyckaerts C, et al. Spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7). In: Rubinsztein DC and Hayden MR, Editores. *Analysis of triplet repeat disorders*. Oxford: BIOS Scientific Publishers; 1998, p.155-68.
- 95.Bryer A, Krause A, Bill P, Davids V, Bryant D, Butler J, et al. The hereditary adult-onset ataxias in South Africa. *J Neurol Sci* 2003;216:47-54.
- 96.Helmlinger D, Abou-Sleymane G, Yvert G, Rousseau S, Weber C, Trotter Y, et al. Disease progression despite early loss of polyglutamine protein expression in SCA7 mouse model. *J Neurosci* 2004;24:1881-7.
- 97.Scholefield J, Greenberg LJ, Weinberg MS, Arbutnot PB, Abdelgany A, Wood MJ. Design of RNAi hairpins for mutation-specific silencing of ataxin-7 and correction of a SCA7 phenotype. *PloS One* 2009;4:e7232.
- 98.Sequeiros J. Genética clássica e genética molecular da doença de Machado Joseph. In: Sequeiros J, editor. *O teste preditivo da doença de Machado-Joseph*. Porto: UnIGENE, IBMC; 1996, p.33-48.