

ELBA CRISTINA SÁ DE CAMARGO ETCHEBEHERE

Este exemplar corresponde à versão final da Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas, Área Medicina Interna.

Campinas, 30 de agosto de 2001.

Prof. Dr. Fernando Cendes
Orientador

**SPECT CEREBRAL E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA
NA DOENÇA DE MACHADO-JOSEPH**

CAMPINAS

2001

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

ELBA CRISTINA SÁ DE CAMARGO ETCHEBEHERE

***SPECT CEREBRAL E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA
NA DOENÇA DE MACHADO-JOSEPH***

*Tese de Doutorado apresentada à Pós-graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor
em Ciências Médicas, área de Medicina Interna.*

ORIENTADOR: DR. FERNANDO CENDES

CO-ORIENTADORA: DRA. ISCIA LOPES-CENDES

CAMPINAS

2001

UNIDADE BC
 N.º CHAMADA: TIUNICAMP
Et 18s
 V. 47476
 TC. 837/02
 P. 837/02
 C. 0 D. ☒
 PREÇOS R\$ 11,00
 DATA 05-02-02
 N.º CPD

CM00163312-9

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
 BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
 UNICAMP**

~~Et22s~~

18

Etchebehere, Elba Cristina Sá de Camargo

"Spect cerebral e ressonância magnética na doença de Machado-Joseph" / Elba Cristina Sá de Camargo Etchebehere. Campinas, SP : [s.n.], 2001.

Orientadores : Fernando Cendes, Iscia Lopes Cendes

Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Hemisférios Cerebrais. 2. Ataxia. 3. Córtex Cerebral. 4. Radioisótopos. I. Fernando Cendes. II. Iscia Lopes Cendes. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Banca examinadora da tese de Doutorado

Orientador: Prof. Dr. Fernando Cendes

Membros:

- | | |
|----|---------------------------------|
| 1. | Dr. Fernando Cendes |
| 2. | Dr. Carlos Alberto M. Guerreiro |
| 3. | Dra. Verônica Zanardi |
| 4. | Dr. Paulo Caramelli |
| 5. | Dr. Carlos A. Buchpiguel |

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas, área de concentração em Medicina Interna da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 30/08/2001

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Edwaldo e Elba, pelo amor e apoio constante e incondicional

Ao meu marido, Maurício e à minha filha Marina, razões de minha vida

Aos meus irmãos, Eduardo e Érica, pela confiança

Aos meus sogros, Milton e Maria Isabel, pelo incentivo

Ao Prof. Dr. Edwaldo E. Camargo, Titular do Departamento de Radiologia e Chefe do Serviço de Medicina Nuclear da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas que, com sua dedicação e amor pela Medicina Nuclear, transmitiu com humildade muito além de seus vastos conhecimentos médicos, minha eterna admiração.

Ao Dr. Fernando Cendes, médico docente do Departamento de Neurologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, exemplo de dedicação profissional, pela atenção constante e preocupação dispensados na revisão desta tese e dos trabalhos científicos.

À Dra. Iscia Lopes-Cendes, médica docente do Departamento de Genética da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, pelos conselhos e paciência dedicados à revisão desta tese e dos trabalhos científicos.

Aos Drs. Marilisa Guerreiro, Carlos Alberto Guerreiro e Benito Damasceno, médicos do Departamento de Neurologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas por terem propiciado a realização desta tese no Departamento.

Aos Drs. Celso Darío Ramos, Allan do Oliveira Santos e Mariana Cunha Lopes de Lima, médicos assistentes do Serviço de Medicina Nuclear do Departamento de Radiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, pela amizade e grande apoio profissional, o que permitiu a conclusão deste trabalho.

À Dra. Elizabeth Quagliatto, médica do Departamento de Neurologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, pela realização dos exames de potencial evocado.

À Dra. Érica Cristina Sá de Camargo, médica do Departamento de Neurologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo grande auxílio com seus vastos conhecimentos neurológicos em todas as etapas desta tese.

Aos Drs. Marcus Vinícius Grigolon e Carlos Aimar Castilho Pin, residentes do Serviço de Medicina Nuclear do Departamento de Radiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, pelo auxílio no processamento das imagens.

Às Sras. Juliana Aparecida Pereira, Carla Raquel Sansana e Fabiana Bianchini Barros, técnicas do Serviço de Medicina Nuclear do Departamento de Radiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, pelo grande auxílio na preparação dos radiofármacos, aquisição e processamento das imagens.

À Sra. Cleide Moreira Silva, estatística da Comissão de Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, pela dedicação, interesse e eficiência na análise dos dados estatísticos.

À Sra. Maria Francisca Camargo, técnica do Departamento de Genética da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, pela análise genética.

Às Sras. Mara Lúcia Veiga e Ângela Zanardi, administradoras dos Serviços de Medicina Nuclear do Departamento de Radiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas e da Medicina Nuclear de Campinas, pelo grande auxílio em todas as etapas da tese.

À Maria Cecília Pereira, secretária da Medicina Nuclear de Campinas, pela grande ajuda na impressão da tese.

	PÁG.
RESUMO.....	xxxi
1. INTRODUÇÃO.....	35
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	39
2.1. Histórico.....	41
2.2. Epidemiologia.....	43
2.2.1. Portugal e Açores.....	43
2.2.2. Brasil.....	44
2.2.3. Estados Unidos e Canadá.....	45
2.2.4. Japão.....	45
2.2.5. China.....	46
2.2.6. Índia.....	46
2.3. Frequência das ataxias espino-cerebelares autossômicas dominantes.....	46
2.4. Genética.....	47
2.5. Manifestações clínicas.....	49
2.5.1. Idade de Início.....	49
2.5.2. Síndrome Cerebelar.....	49
2.5.3. Manifestações Oculares.....	49
2.5.4. Síndrome Piramidal.....	50
2.5.5. Síndrome Periférica.....	50
2.5.6. Síndrome Extra-Piramidal.....	50

2.5.7. Outras Manifestações Clínicas.....	50
2.5.8. Tipos Clínicos.....	51
2.6. Achados Neuropatológicos.....	52
2.6.1. Estruturas geralmente atingidas.....	52
2.6.2. Estruturas geralmente poupadas.....	53
2.6.3. Correlação anátomo-clínica.....	53
2.6.4. Correlação entre anatomia e análise genética.....	54
2.7. Neuroimagem.....	55
2.7.1. Ressonância magnética (RM).....	55
2.7.2. Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET).....	56
2.7.3. Tomografia por Emissão de Fóton Único (SPECT).....	59
3. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	65
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	69
4.1. Casuística.....	71
4.2. Análise genética dos pacientes com DMJ/AEC3.....	74
4.2.1. Extração do DNA genômico.....	74
4.2.2. Determinação do tamanho do alelo.....	75
4.3. SPECT cerebral.....	75
4.3.1. Preparo do material radioativo.....	75
4.3.2. Determinação da pureza radioquímica.....	76
4.3.3. Preparo do paciente.....	76
4.3.4. Protocolo de aquisição das imagens.....	77

4.3.5. Protocolo de reconstrução das imagens.....	77
4.3.6. Análises visual e semi-quantitativa.....	77
4.4. Ressonância magnética.....	78
4.4.1. Parâmetros de imagem para as diferentes aquisições.....	78
4.4.2. Análise das imagens por RM.....	79
4.5. Análise estatística.....	80
4.6. Aspectos éticos e formulários de consentimento.....	80
5. RESULTADOS.....	83
5.1. Casuística.....	85
5.2. Análise visual dos estudos de SPECT cerebral e RM.....	86
5.2.1. Grau de concordância entre as análises visuais no SPECT cerebral e na RM.....	86
5.2.2. Associação entre o grau de ataxia e as análises visuais das alterações do vérmis e hemisférios cerebelares no SPECT cerebral e na RM.....	89
5.2.3. Associação entre o tipo clínico e as análises visuais das alterações nos córtices cerebral e cerebelar no SPECT cerebral e na RM.....	92
5.3. Análise semi-quantitativa do SPECT cerebral.....	93
5.3.1. Análise semi-quantitativa da perfusão do córtex cerebral dos pacientes e do grupo controle.....	93
5.3.2. Correlação entre a duração da doença e perfusão do vérmis e dos hemisférios cerebelares.....	95
5.3.3. Comparação entre a perfusão cerebral e os sinais e sintomas.....	96
5.3.4. Correlação entre tamanho da repetição CAG e a perfusão cerebral...	97

5.4. Análise volumétrica na RM.....	98
5.4.1. Correlação entre a duração da doença e os volumes do vérmis e dos hemisférios cerebelares.....	100
5.4.2. Correlação entre o tamanho da repetição CAG e os volumes do vérmis e dos hemisférios cerebelares.....	101
5.5. SPECT cerebral semi-quantitativo e RM volumétrica do vérmis e dos hemisférios cerebelares dos pacientes DMJ/AEC3.....	101
6. FIGURAS.....	103
7. DISCUSSÃO.....	115
7.1. Achados clínicos.....	118
7.2. SPECT cerebral e RM.....	119
7.2.1. Lobos Frontais.....	120
7.2.2. Lobos Parietais.....	121
7.2.3. Lobos Temporais.....	121
7.2.4. Hemisférios Cerebelares.....	122
7.2.5. Vérmis.....	123
7.2.6. Ponte.....	124
7.2.7. Núcleos da Base.....	124
7.2.8. Giros do Cíngulo e Área Visual Primária.....	125
7.2.9. Olivas Bulbares.....	125
7.3. Correlação entre tempo de doença, o tipo clínico, sinais e sintomas e o tamanho da expansão CAG com os achados do SPECT cerebral e da RM..	126
7.3.1. A Duração da Doença.....	126

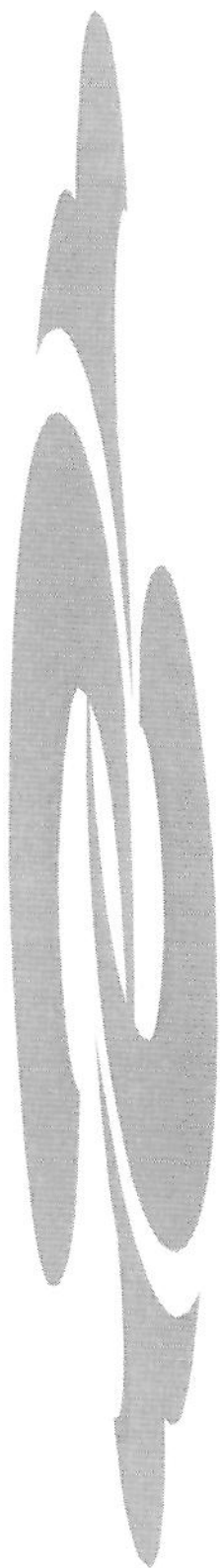
7.3.2. O Tipo Clínico.....	126
7.3.3. Sinais e Sintomas.....	126
7.3.4. O Tamanho da Repetição CAG.....	128
7.4. O papel do SPECT cerebral e da RM em pacientes com DMJ/AEC3.....	128
7.5. Direções futuras.....	129
8. CONCLUSÕES.....	131
9. SUMMARY.....	135
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	139
11. ANEXOS E APÊNDICES.....	149

AEC	Ataxia espino-cerebelar
AOPC	Atrofia olivo-ponto-cerebelar
BHE	Barreira hemato-encefálica
DMJ	Doença de Machado-Joseph
DMJ/AEC3	Doença de Machado-Joseph com confirmação genética
ECD- ^{99m} Tc	Dímero do etilcisteinato, marcado com tecnécio-99m
FD	Dopamina- ¹⁸ F (dopamina marcada com flúor-18)
FDG	Fluor-desoxi-glicose- ¹⁸ F (fluor-desoxi-glicose marcada com flúor-18)
FSC	Fluxo sangüíneo cerebral
FSCr	Fluxo sangüíneo cerebral regional
HMPAO- ^{99m} Tc	Oxima da hexametilpropilenoamina, marcada com tecnécio-99m
IMP	<i>N</i> -isopropil- <i>p</i> -iodoanfetamina, marcada com iodo-123
<i>MJD</i>	Gene da doença de Machado-Joseph
PET	Tomografia por emissão de pósitrons
RAC	Racloprida- ¹¹ C (racloprida marcada com carbono-11)
RM	Ressonância magnética
SPECT	Tomografia por emissão de fóton único

	PÁG.
Tabela 1: Relação dos pacientes DMJ/AEC3.....	72
Tabela 2: Características dos indivíduos dos grupos-controle de SPECT cerebral e RM.....	74
Tabela 3: Distribuição de sexo e idade entre os grupos-controle de SPECT cerebral, RM e pacientes.....	85
Tabela 4: Grau de concordância entre as análises visuais no SPECT cerebral e na RM dos pacientes DMJ/AEC3.....	87
Tabela 5: Níveis descritivos do teste exato de Fisher para verificar associação entre o grau de ataxia e as análises visuais das alterações do vérmis e hemisférios cerebelares no SPECT cerebral e na RM.....	91
Tabela 6: Níveis descritivos do teste exato de Fisher para verificar associação entre o tipo clínico e as análises visuais das alterações nos córtices cerebral e cerebelar no SPECT cerebral e na RM.....	92
Tabela 7: Análise semi-quantitativa da perfusão dos córtices cerebral e cerebelar dos pacientes e do grupo controle.....	94
Tabela 8: Níveis de significância do teste de Mann-Whitney para correlação entre a perfusão cerebral e as síndromes piramidal e extra-piramidal.....	96
Tabela 9: Correlação entre tamanho da repetição CAG e a perfusão cerebral.....	97

	PÁG.
Figura 1: Dois irmãos com o aspecto característico da DMJ.....	105
Figura 2: Cortes transversais de SPECT cerebral mostrando perfusão normal dos córtices cerebral e cerebelar.....	106
Figura 3: Exemplos de diferentes graus de alterações perfusionais no SPECT cerebral e de volume na RM do vérmis.....	107
Figura 4: Hipoperfusão e atrofia do vérmis cerebelar e dos lobos parietais....	108
Figura 5: SPECT cerebral mostrando hipoperfusão das porções inferiores dos lobos frontais, porções mesiais e laterais dos lobos temporais, núcleos da base e hemisférios cerebelares.....	109
Figura 6: Exemplos de atrofia da ponte, das porções superiores dos lobos frontais e olivas na RM.....	110
Figura 7: Exemplo da colocação das áreas de interesse para realização da análise semi-quantitativa do SPECT cerebral.....	111
Figura 8: Exemplo da colocação das áreas de interesse no vérmis e hemisférios cerebelares para realização da análise volumétrica na RM.....	112
Figura 9: Paciente 10, apresentando no vérmis, perda da perfusão maior que a perda volumétrica.....	113

	<i>PÁG.</i>
Gráfico 1: Distribuição dos pacientes DMJ/AEC3 segundo o sexo.....	73
Gráfico 2: Distribuição dos pacientes DMJ/AEC3 segundo a faixa etária.....	73
Gráfico 3: Valores médios obtidos a partir do grau de anormalidade (1 – 4) determinado pela análise visual para cada área analisada na RM e no SPECT cerebral dos pacientes.....	88
Gráfico 4: Associação entre o grau de ataxia e as análises visuais das alterações do vérmis no SPECT cerebral e na RM.....	90
Gráfico 5: Associação entre o grau de ataxia e as análises visuais das alterações dos hemisférios cerebelares no SPECT cerebral e na RM.....	91
Gráfico 6: Dispersão da perfusão dos hemisférios cerebelares em função do tempo de duração da doença.....	95
Gráfico 7: Volume do vérmis na RM dos pacientes e do grupo controle.....	99
Gráfico 8: Volume dos hemisférios cerebelares na RM dos pacientes e do grupo controle.....	99
Gráfico 9: Dispersão do volume do vérmis em função da duração da doença..	100
Gráfico 10: Porcentagem de perda de volume do vérmis na RM e de hipoperfusão do vérmis no SPECT cerebral dos pacientes.....	102
Gráfico 11: Porcentagem de perda de volume dos hemisférios cerebelares na RM e de hipoperfusão dos hemisférios cerebelares no SPECT cerebral dos pacientes.....	102

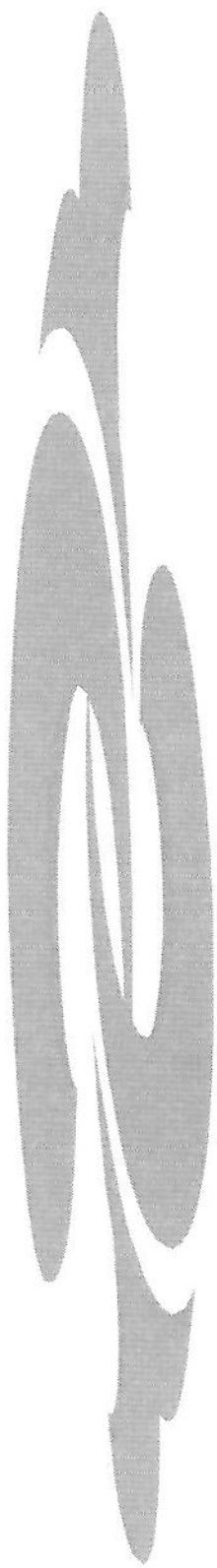


RESUMO

A doença de Machado-Joseph (DMJ) é a ataxia espinocerebelar autossômica dominante mais freqüente no Brasil e na maior parte do mundo ocidental. Não há relatos sobre o uso do SPECT cerebral com HMPAO-^{99m}Tc e da ressonância magnética (RM) para avaliação de pacientes com o diagnóstico molecular da mutação responsável pela DMJ (DMJ/AEC3).

Os objetivos deste trabalho foram utilizar o SPECT cerebral e a RM para avaliar a função e estrutura do sistema nervoso central em pacientes com DMJ/AEC3; determinar se existe correlação entre a magnitude das anormalidades metabólicas e estruturais encontradas nos pacientes com DMJ/AEC3 e a duração da doença, os sinais e sintomas, e características moleculares da mutação para DMJ/AEC3 - tamanho da repetição CAG. Foram estudados 12 pacientes com DMJ/AEC3, sendo 8 masculinos e 4 femininos, idades variando de 22 a 67 anos, média 39 anos. Os pacientes foram submetidos ao SPECT cerebral e RM no mesmo dia. O grupo controle do SPECT cerebral foi constituído de 42 voluntários normais, 22 femininos e 20 masculinos, com idades variando de 22 a 66 anos, média 32,6 anos. O grupo controle da RM foi constituído de 17 voluntários normais, 13 femininos e 4 masculinos, com idades variando de 21 a 62 anos, média 32,2 anos. O SPECT cerebral foi realizado injetando-se HMPAO-^{99m}Tc em repouso e as imagens adquiridas em uma câmara de cintilação computadorizada. As imagens nos planos transversal, coronal e sagital foram submetidas às análises visual e semiquantitativa. Para esta última, foram utilizados os tálamos como referência, com a colocação de áreas de interesse nos córtices cerebral e cerebelar. As imagens de RM foram obtidas em um sistema de 2 Tesla com aquisições nos planos coronal, sagital e transversal e 3D (volumétrica). Determinou-se o volume dos hemisférios cerebelares e vérmis. Houve correlação entre as alterações perfusionais identificadas à análise visual no SPECT cerebral nos lobos parietais e vérmis com as alterações estruturais na RM. O SPECT cerebral identificou, na análise visual, maior número de alterações nas porções inferiores dos lobos frontais, nas porções mesial e lateral dos lobos temporais, núcleos da base e hemisférios cerebelares. A RM identificou mais alterações na ponte e nas porções superiores dos lobos frontais. Atrofia das olivas foi evidenciada à RM. Na análise semiquantitativa, observou-se uma diferença significativa da perfusão nas porções inferiores e superiores dos lobos frontais, porções laterais dos lobos temporais, lobos parietais, núcleos da base esquerdos, hemisférios

cerebelares e vérmis quando comparados com o grupo controle. Houve uma diferença significativa entre os volumes do vérmis e dos hemisférios cerebelares dos pacientes em relação ao grupo controle, na RM. Não houve correlação entre o grau de ataxia ou o tipo clínico com alterações perfusionais ou de volume nos pacientes com DMJ/AEC3. Não se observou correlação significativa entre as alterações da perfusão do vérmis e o volume dos hemisférios cerebelares dos pacientes e a duração da doença, porém houve uma tendência de relação inversa entre as alterações da perfusão dos hemisférios cerebelares e o volume do vérmis dos pacientes e a duração da doença. Observou-se correlação significativa entre a presença de síndrome extra-piramidal e a perfusão do lobo parietal esquerdo. Não houve correlação entre o tamanho da repetição CAG e a perfusão dos córtices cerebral e cerebelar e o volume do vérmis, entretanto houve uma tendência de relação inversa entre as alterações do volume dos hemisférios cerebelares com o tamanho da repetição CAG. O SPECT cerebral e a RM foram capazes de demonstrar alterações perfusionais e estruturais nos córtices cerebral e cerebelar dos pacientes com DMJ/AEC3. O SPECT cerebral e a RM são métodos não invasivos capazes de identificar alterações sub-clínicas nestes pacientes.



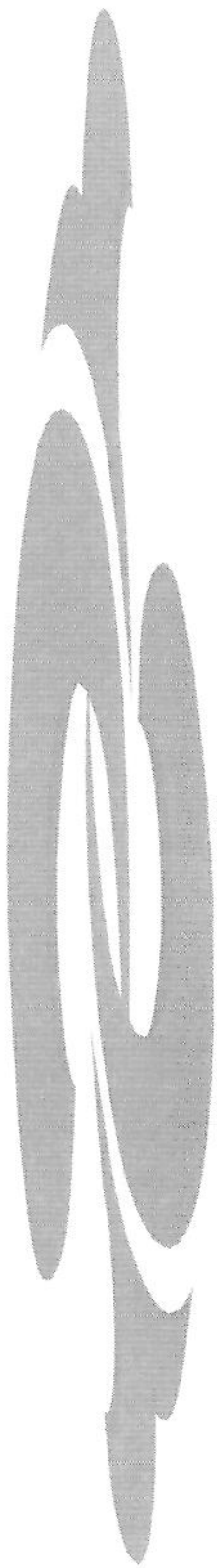
1. INTRODUÇÃO

A doença de Machado-Joseph (DMJ) foi descrita pela primeira vez em 1972 em uma família luso-americana descendendo de Guilherme Machado, nascido na ilha de São Miguel, nos Açores. A doença, herdada de forma autossômica dominante, se manifestava na grande maioria dos pacientes como uma ataxia progressiva e incapacitante. O gene responsável pela DMJ foi transportado ao Brasil através das diversas navegações dos Portugueses em 1500. A DMJ é a ataxia espinocerebelar autossômica dominante mais freqüente no Brasil e na maior parte do mundo ocidental.

Em 1993 o locus para a DMJ foi localizado próximo à extremidade distal do braço longo do cromossomo 14 (14q24.3-q32). A mutação responsável pela doença foi caracterizada como uma seqüência repetitiva de um trinucleotídeo CAG (ou *CAG repeat*).

Estudos realizados com PET (TANIWAKI *et al.*, 1997 ; SHINOTOH *et al.*, 1997; SOONG *et al.*, 1997 ; SOONG & LIU, 1998 ; SCHRAG *et al.*, 1998) em pacientes com DMJ demonstraram alterações cerebelares e corticais, apesar de TAKIYAMA *et al.*, (1994) descreverem, nos seus achados neuropatológicos, que o córtex cerebral quase nunca está afetado.

Não existem estudos com o uso do SPECT cerebral com HMPAO-^{99m}Tc para avaliação de pacientes com o diagnóstico molecular da DMJ. O SPECT cerebral e a ressonância magnética poderiam contribuir para identificar alterações funcionais e anatômicas no cerebelo e no córtex cerebral destes pacientes.



2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. HISTÓRICO

A doença de Machado-Joseph (DMJ) foi descrita pela primeira vez em 1972 em 51 familiares afetados de uma família luso-americana, descendente de William (Guilherme) Machado, nascido na ilha de São Miguel, nos Açores. Alguns de seus filhos emigraram para Massachusetts no final do século XIX, início do século XX e a maioria dos familiares morava no sudeste de Massachusetts. A doença foi denominada pelos autores de doença de Machado. A doença, herdada de forma autossômica dominante, se manifestava na grande maioria dos pacientes como uma ataxia progressiva que se iniciava após os 40 anos de idade. Outros sintomas e sinais também foram descritos, como nistagmo, disartria, reflexos tendíneos ausentes ou reduzidos, atrofia muscular distal, fasciculações e redução das sensibilidades dolorosa e tátil. Os pacientes foram submetidos a dosagens de marcadores bioquímicos e a pneumoencefalografia que demonstraram *diabetes mellitus* e aumento de ar na fossa posterior do crânio, nas cisternas basais ou IV ventrículo. Através das biópsias de nervos e músculos e da pneumoencefalografia, os autores concluíram que a doença compromete extensamente o neuroeixo. O *diabetes mellitus* descrito por estes autores não foi confirmado por nenhum outro trabalho (NAKANO, DAWSON, SPENCE, 1972).

No mesmo ano, 12 membros de outra família acometida, descendentes de José Tomás, também dos Açores e emigrados para Massachusetts, foram descritos. Os pacientes apresentavam uma doença autossômica dominante, porém de início mais precoce (17 a 46 anos) com manifestações de ataxia, sinais piramidais e extrapiramidais e oftalmoplegia externa progressiva. O exame pós-mortem de um dos pacientes evidenciou atrofia da musculatura esquelética (principalmente do gastrocnêmio, tibial anterior, reto femoral, deltóide e musculatura extra-ocular), atrofia da ponte, dos pedúnculos cerebelares médios, raízes espinais anteriores e dos núcleos denteados. Os cordões espinais apresentavam perda de mielina nos tractos espino-cerebelar dorsal e ventral. Os autores propuseram o nome de Degeneração Nigro-Espino-Denteada com Oftalmoplegia Nuclear, devido a lesões da substância negra, trato córtico-espinhal e núcleos denteado e oculomotor. Este foi o primeiro trabalho que deu importância ao aspecto da oftalmoparesia que é tão característico nos pacientes acometidos. É importante ressaltar que no estudo pós-mortem não foi identificado atrofia dos tálamos (WOODS & SCHAUMBURG, 1972).

A investigação dos pacientes com DMJ continua com a descrição da família californiana descendente de Antone Joseph, em 1976. Cem indivíduos foram avaliados, de oito gerações compostas de mais de 329 pessoas, sendo 13 acometidos. Na grande maioria, a doença se iniciava em torno dos 25 anos, herdada de forma autossômica dominante. Em alguns pacientes o início dos sintomas ocorria após os 40 anos. Os principais sintomas descritos eram rigidez parkinsoniana, espasticidade, disartria e anormalidades dos movimentos oculares. Os autores deram pouca importância para a ataxia cerebelar. A autópsia obtida de uma paciente revelou perda de neurônios da substância negra, do corpo do estriado e do núcleo denteado. O córtex frontal, o cerebelo, os tálamos e o hipocampo estavam normais (ROSENBERG *et al.*, 1976).

O nome doença açoreana foi proposto em 1978, após a descrição de mais uma família oriunda dos Açores. Os pacientes apresentavam ataxia da marcha, nistagmo, oftalmoparesia, disartria, fasciculações da língua, espasticidade, dismetria e redução ou abolição dos reflexos tendíneos. O modo de transmissão era autossômico dominante. A autópsia de um dos familiares evidenciou perda de neurônios do núcleo pontino, núcleo vestibular, das fibras do trato espino-cerebelar, porém nenhuma anormalidade no córtex cerebral, núcleos da base, substância negra ou núcleo denteado, diferentemente da descrição de anatomopatológicos anteriores em que tanto a substância negra quanto o núcleo denteado estavam acometidos (ROMANUL *et al.*, 1978).

Em 1978, foi proposta uma classificação da doença em três sub-fenótipos após a observação de 40 pacientes, todos originários das ilhas dos Açores, que apresentavam uma enorme diversidade clínica da mesma doença, possivelmente causada por expressões fenotípicas diferentes. O tipo I ocorria mais precocemente, era mais grave, apresentava rápida evolução e era caracterizado principalmente por síndrome extrapiramidal e piramidal além de ataxia e oftalmoplegia. O tipo II era o tipo mais comum, apresentava gravidade e idade de início intermediárias e era caracterizado por ataxia, sinais piramidais e oftalmoplegia. No tipo III as manifestações clínicas ocorriam tardiamente e eram caracterizadas pelas mesmas manifestações do tipo II associadas a sinais periféricos. Os autores procuram, ainda, classificar os pacientes anteriormente descritos por outros autores nos três tipos clínicos: na família Machado, a maioria seria classificada como tipo III e

alguns como tipo II; os pacientes da família Thomas também em tipo III e os descritos por ROSENBERG *et al.*, 1976, em tipo I (COUTINHO & ANDRADE, 1978).

A DMJ permaneceu sendo descrita como doença açoreana, até que, em 1980, foi descrita uma família não açoreana e sem ligações com ancestrais açoreanos há pelo menos um século, que apresentava sinais clínicos da DMJ. A partir da descrição desta família os autores sugeriram que fosse utilizada a terminologia doença de Machado-Joseph, uma vez que a família Machado foi a primeira a ser descrita e porque a família Joseph era a maior e mais bem descrita até então. Os pacientes observados por estes autores apresentavam um modo de transmissão autossômico dominante, idade de início variável, iniciando na idade adulta (entre os 25 e 55 anos, com média em torno dos 40 anos) e uma velocidade de desenvolvimento da doença compatíveis com os tipos I, II e III. Os pacientes apresentavam um ou mais sintomas de ataxia cerebelar progressiva, oftalmoplegia externa, sinais piramidais, síndrome extrapiramidal, atrofia muscular distal, retração de pálpebras e pequenas fasciculações da face e língua. Os autores ainda acrescentaram o achado de distúrbios sensitivos, que havia sido pouco comentado nos trabalhos anteriores (LIMA & COUTINHO, 1980).

Após esta última descrição, a doença recebeu seu nome atual, doença de Machado-Joseph, firmado com o trabalho realizado com 138 pacientes no qual os autores argumentam que, por razões históricas, a doença deve ser descrita com este nome (BARBEAU *et al.*, 1984).

2.2. EPIDEMIOLOGIA

2.2.1 Portugal e Açores

Foi proposto que um gene mutante surgiu em Portugal no século XV, provavelmente entre as comunidades judaicas, devido à distribuição no continente de indivíduos com DMJ. Especula-se que as perseguições religiosas levaram os portadores do gene de Portugal para as ilhas dos Açores, principalmente para as ilhas São Miguel e Flores. O povoamento das ilhas dos Açores teria começado ao redor de 1450 com a ilha de

Terceira, seguido, em 1460, com as ilhas de Santa Maria e São Miguel. As demais ilhas: São Jorge, Graciosa, Pico, Faial, Flores e Corvo possivelmente foram povoadas entre 1466 e 1510. A prevalência da DMJ na Ilha das Flores é de 1:140 habitantes; em São Miguel, 1:5.000, enquanto que em Portugal, é de 1,2:100.000 habitantes (COUTINHO, 1994).

Das diversas navegações dos Portugueses em 1500, o gene pode ter sido transportado ao Brasil, à Índia, ao Japão, à China, etc. Desde então, a doença tem sido descrita em diversos outros países como Austrália (BURT *et al.*, 1996), China (ZHOU *et al.*, 1997), França (STEVANIN *et al.*, 1994) e no Brasil (RADVANY *et al.*, 1988; RADVANY *et al.*, 1993; LOPES-CENDES *et al.*, 1997b).

2.2.2. Brasil

A emigração dos açorianos para o Brasil ocorreu para Santa Catarina, Pará e Paraíba durante o ciclo pesqueiro (1673), para São Paulo durante o ciclo do gado, para a Bahia e Pernambuco durante o ciclo do açúcar, para Minas Gerais durante o ciclo da mineração e para o Rio Grande do Sul durante o ciclo da agricultura. Entre 1748 e 1756, a fome e os terremotos que estavam ocorrendo nos Açores promoveram a emigração e, por ordem de Dom João V, 6492 açorianos vieram para o Brasil e estabeleceram-se em Santa Catarina.

RADVANY *et al.* (1993) descreveram a maior família brasileira com DMJ, a família Catarina, com 622 indivíduos distribuídos em 9 famílias, sendo 39 acometidos. Os pacientes foram submetidos a exame neuro-psicológico e 10 a exame de neuroimagem com RM. Os autores encontraram 12 pacientes com fenótipo do tipo I, 23 com tipo II e 4 com tipo III. A RM demonstrou atrofia variável da ponte, sendo que os pacientes do tipo I apresentavam menor grau de atrofia, apesar da maior incapacidade motora enquanto que os dos tipos II e principalmente III apresentavam maior grau de atrofia pontina. O grau de atrofia pontina foi descrito pelos autores e também por COUTINHO (1994), como sendo menor do que a encontrada nos pacientes com atrofia olivo-ponto-cerebelar (AOPC). Porém, não necessariamente, é essa a regra (LOPES-CENDES *et al.*, 1996b). Foram

identificadas alterações cognitivas e da visão destes pacientes, levantando a suspeita de que poderia haver alterações de funções corticais superiores e que, portanto, a descrição de ausência de alterações mentais nestes pacientes, que sempre foi relatada em diversos trabalhos, deveria ser revista.

2.2.3. Estados Unidos e Canadá

Das famílias açoreanas, houve uma corrente migratória para os Estados Unidos, sendo que, nos meados de 1800 a 1900, o gene *MJD* foi transportado por portadores de São Miguel para o estado de Rhode Island e sul do estado de Massachusetts, incluindo Cape Cod. De Massachusetts, o gene foi então transportado para outras regiões dos Estados Unidos e para o Canadá. De Flores, a maioria se estabeleceu no norte da Califórnia durante a corrida para o ouro ("gold rush"). A prevalência nos EUA é de 22,2:100.000 na costa leste e 25:100.000 na costa oeste. Para o Canadá emigraram 8% da população açoreana, principalmente para Toronto e para a província de British Columbia, sendo que dentro das comunidades açoreanas a prevalência de afetados é de aproximadamente 1:10.000 habitantes.

HEALTON *et al.*, (1980) descreveram a primeira família negra com DMJ, originária da Carolina do Norte, de ascendência portuguesa. Posteriormente, outras famílias negras acometidas foram identificadas também no Mississippi e na Georgia. Atualmente, mais de 80 famílias acometidas são conhecidas nos EUA, sendo 59 portuguesas.

2.2.4. Japão

O primeiro relato sobre a DMJ no Japão ocorreu em 1983. Após inúmeros estudos epidemiológicos, concluiu-se, naquela ocasião, que o Japão era o segundo maior foco mundial da doença. Comparações entre as manifestações clínicas observadas no Japão e nos Açores levaram à conclusão que o nistagmo e distonia são mais prevalentes entre os japoneses (SAKAI, OHTA, ISHINO, 1983).

2.2.5. China

A maior família chinesa com DMJ encontra-se no norte da China. Dentre 70 indivíduos, 27 pacientes acometidos foram encontrados e dois foram autopsiados. O quadro clínico era muito semelhante àquele descrito nos familiares acometidos nos Açores, assim como o quadro neuropatológico (GUO-XUANG, 1990).

2.2.6. Índia

Em 1986, os primeiros casos de DMJ em duas famílias no norte da Índia foram relatados. Os autores enfatizam o achado de manifestações mais precoces da doença nas terceiras gerações e variações fenotípicas consideráveis em uma mesma família. Quatro anos depois os achados clínicos de 8 famílias foram relatados e concluiu-se que o tipo III era o mais comum, porém com manifestações clínicas mais precoces, ao redor dos 25,6 anos (JAIN & MAHESHWARI, 1986; JAIN & MAHESHWARI, 1990). É importante salientar que nenhum paciente de origem indiana teve a confirmação molecular da doença (LOPES-CENDES, 2001^{*}).

2.3. FREQUÊNCIA DAS ATAXIAS ESPINOCEREBELARES (AECs) AUTOSSÔMICAS DOMINANTES

Através da observação de uma amostra de 67 pacientes com AECs autossômicas dominantes oriundos de Portugal, Estados Unidos, Índia e Brasil, não relacionados entre si, a frequência global de pacientes com a DMJ com confirmação genética (DMJ/AEC3) foi de 37% (17% no subgrupo de não portugueses e 84% no subgrupo de portugueses). Apesar de haver uma alta prevalência da DMJ/AEC3 nos indivíduos de origem portuguesa, esta mutação também ocorre em populações de origem étnica não portuguesa, como americanos negros e brancos e chineses (SILVEIRA *et al.*, 1996).

^{*} LOPES-CENDES, Comunicação pessoal. 2001.

Atualmente, sabe-se que a mutação *MJD* é responsável por 89% das AECs autossômicas dominantes nos Açores, 50% na Alemanha (SCHÖLS *et al.*, 1995), 40% em Portugal, e 20% na América do Norte. Através do estudo de 328 indivíduos pertencentes a 90 famílias brasileiras não relacionadas, pôde-se observar a frequência de DMJ/AEC3 em pacientes com AECs. A mutação *MJD* foi detectada em 30% dos casos de AECs, sendo de 44% nos casos de AECs autossômicos dominantes (59%). A distribuição geográfica dos pacientes com DMJ/AEC3 foi de 38% no Rio Grande do Sul, 71% em Santa Catarina, 27% no Paraná, 38% em São Paulo e 43% em Minas Gerais. Portanto, a DMJ/AEC3 é a forma mais freqüente de AEC autossômica dominante no Brasil (LOPES-CENDES *et al.*, 1997b).

2.4. GENÉTICA

A busca pelo gene responsável pela DMJ ocorreu durante anos até que em 1993, o *locus* para a doença foi localizado próximo à extremidade distal do braço longo do cromossomo 14 (14q24.3-q32). Foi com a utilização de microsátélites altamente polimórficos de DNA e estudos de “linkage” genético, que se determinou a primeira ligação com os microsátélites dos loci D14S55 e D14S48 ($Z_{\max} = 9,719$) (TAKIYAMA *et al.*, 1993).

Em 1994, o defeito genético no braço longo do cromossomo 14 destes pacientes foi identificado e clonado. A mutação responsável foi caracterizada como uma seqüência repetitiva de um trinucleotídeo CAG (ou *CAG repeat*). Em indivíduos normais, o gene contém entre 13 e 36 repetições CAG enquanto que a maioria dos pacientes com DMJ/AEC3 apresentam de 68 a 79 repetições CAG (KAWAGUSHI *et al.*, 1994).

A correlação do tamanho da repetição CAG com os achados clínicos de 156 pacientes com DMJ/AEC3, de um total de 212 indivíduos pertencentes a 33 famílias mostrou que pacientes com início juvenil da doença apresentavam uma média de tamanho da repetição CAG de $80,4 \pm 2,5$, significativamente maior ($p < 0,0001$) que pacientes com início na idade adulta ($72,6 \pm 3,3$). Ainda, que entre os diferentes tipos clínicos, os do tipo I apresentavam tamanho da repetição CAG maior ($76,2 \pm 5,1$); os do tipo II, intermediária ($73,0 \pm 3,64$); e os do tipo III apresentavam uma repetição CAG menor ($72,2 \pm 3,0$) (MACIEL *et al.*, 1995).

Em 1995, TUIITE *et al.* observaram a mesma correlação entre o tipo clínico e o tamanho da repetição CAG: tipo I de $79,4 \pm 1,0$; tipo II de $74,6 \pm 0,5$; e tipo III de $72,6 \pm 1,1$. Estes autores ainda postulam que talvez existisse um tipo IV, com um tamanho da repetição CAG menor que os demais, porém isto ainda não é aceito como definitivo. Em ambos os trabalhos, no entanto, atribui-se parte da gravidade da doença ao tamanho da repetição CAG.

Desse modo, com a genética molecular é possível estabelecer o diagnóstico da DMJ/AEC3 com alta sensibilidade e especificidade. Não há dúvida de que existe uma correlação linear e inversa entre a idade de início da doença e o tamanho da repetição CAG. Entretanto, somente parte (aproximadamente 40%) da variabilidade do CAG pode explicar as diferentes idades de início da doença. A maior parte da variabilidade pode estar relacionada com outros fatores, ainda não detectados e portanto, o grau de expansão do alelo não deve ser utilizado para prever idade de início da doença ou gravidade das manifestações clínicas (LOPES-CENDES *et al.*, 1997a).

Aumentos relativamente pequenos da sequência das repetições CAG são suficientes para produzirem a doença e a homozigotidade para o gene *MJD* está relacionada com um início mais precoce e maior gravidade da doença (SOBUE *et al.*, 1996).

Através de imunocitoquímica PAULSON *et al.* (1997) demonstraram que a proteína especificamente associada ao *MJD* é a ataxina 3. Esta proteína encontra-se dentro do citoplasma da célula em indivíduos normais. Nos indivíduos afetados, a ataxina 3 se deposita nos núcleos pontinos, podendo ocorrer apoptose. Em geral, acredita-se que o mecanismo pelo qual as repetições CAG causam morte neuronal seja devido a um 'ganho' de função da proteína mutante ataxina 3 (IKEDA *et al.*, 1996). Não se sabe qual o real mecanismo que deflagra esta apoptose não programada nem quais são os efeitos celulares de sua expressão ou com quais proteínas interage (ROBITAILLE *et al.*, 1997).

2.5. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

2.5.1. Idade de Início

As manifestações clínicas podem ou não ser homogêneas dentro da mesma família. O início da doença não parece ser afetado pelo sexo ou por herança materna ou paterna. Nos japoneses e nos negros americanos, a doença tende a se manifestar precocemente, enquanto que nos portugueses e americanos, o início é mais tardio (ao redor dos 35 a 43 anos) (COUTINHO, 1994).

Em um estudo de 21 japoneses com DMJ de uma família com 125 componentes, distribuídos em 5 gerações, notou-se que a idade média de início da doença era de 30,1 anos e que ocorria o fenômeno de antecipação do início da doença : 38,6 anos na 3ª geração; 24,5 anos na 4ª geração; 16 anos na 5ª geração (TAKIYAMA *et al.*, 1994).

2.5.2. Síndrome Cerebelar

A ataxia cerebelar é a manifestação clínica mais freqüentemente (98%) encontrada nos indivíduos com DMJ. Inicialmente surge a ataxia da marcha, seguida de dificuldades de articulação verbal, incoordenação dos membros superiores e quedas freqüentes. Nas formas mais avançadas, os pacientes apresentam dificuldade de apoio bilateral, ataxia do tronco e até dificuldade de equilíbrio na cadeira de rodas. A incoordenação se associa a hipotonia dos membros superiores e espasticidade dos membros inferiores (COUTINHO, 1994).

2.5.3. Manifestações Oculares

A oftalmoparesia externa progressiva é a segunda manifestação clínica (93%) encontrada nos indivíduos com DMJ. Observa-se uma limitação do olhar vertical para cima, seguida, após alguns anos, de limitação do olhar lateral. O olhar vertical para baixo está preservado normalmente até os estágios finais da doença. A oftalmoparesia é de natureza supranuclear. Pode haver também ptose palpebral, retração palpebral e por vezes os pacientes apresentam olhar fixo (COUTINHO, 1994).

2.5.4. Síndrome Piramidal

Está presente em (85%) dos indivíduos com DMJ. Pode-se observar hiperreflexia osteotendínea, reflexo masseteriano, clônus dos pés ou das patelas, sinal de Babinski, sinais pseudobulbares e espasticidade. As marchas espásticas os tornam incapacitados. (COUTINHO, 1994).

2.5.5. Síndrome Periférica

Compreende desde a abolição do reflexo Aquileu até a atrofia muscular distal. Pode estar presente em aproximadamente 60% dos indivíduos com DMJ e acompanhar-se de alterações da sensibilidade profunda, inicialmente vibratória, e depois postural. (COUTINHO, 1994).

2.5.6. Síndrome Extrapiramidal

Os pacientes podem apresentar um quadro distônico (postura atetósica dos dedos das mãos, habitualmente em flexão, mas podendo ser em extensão). Nas fases mais avançadas, podem apresentar distorções da face, principalmente da região da mandíbula. (COUTINHO, 1994).

2.5.7. Outras Manifestações Clínicas

A disfagia é uma queixa comum nas fases mais avançadas, sendo que os pacientes engasgam com facilidade e podem morrer de aspiração e/ou broncopneumonia. Foi observada perda de peso (59%) principalmente nos pacientes do tipo I, sem perda de apetite e antes de sinais de disfagia acentuada (COUTINHO, 1994).

São muito freqüentes as fasciculações na face que tardiamente são seguidas de atrofia muscular. A paresia dos músculos da orofaringe e da fonação ocorre em concomitância com a paresia supranuclear (COUTINHO, 1994).

Alterações do sono (pesadelos, agitação e distúrbio do sono REM) foram identificados em 61% dos pacientes examinados, a maioria pertencente ao tipo I. Esta anormalidade se desenvolve 5 anos após o início dos sintomas e tem uma incidência de 70% em 20 anos (COUTINHO, 1994).

Em um grupo de pacientes alemães com DMJ/AEC3, notaram-se manifestações clínicas não características da doença. Os sinais cerebelares eram proeminentes e acompanhados de oftalmoparesia supranuclear, mas sem sinais extrapiramidais, neuropatia periférica, amiotrofia distal ou envolvimento do neurônio motor inferior. A atrofia das olivas bulbares, achado neuropatológico pouco característico da doença, foi evidenciada na RM destes pacientes. Os autores deste relato concluem que simples correlações do genótipo com o fenótipo devem ser feitas com muita cautela (HABERHAUSEN *et al.*, 1995).

2.5.8. Tipos Clínicos

Em 1992, um “workshop” internacional reuniu diversos pesquisadores para classificar a DMJ (SPINELLA & SHERIDAN, 1992). A doença foi classificada em três tipos principais por estes autores. Mais tarde, um quarto tipo menos comum foi descrito por ROSENBERG (1995).

Tipo I (fenótipo Joseph)

Início precoce (20-30 anos), pior prognóstico, com predomínio de sintomas piramidais e extrapiramidais: espasticidade progressiva, rigidez, distonia, coreoatetose, disartria espástica, fasciculações linguais, retração palpebral e morte ao redor dos 45 anos.

Tipo II (fenótipo intermediário)

Início intermediário (20-45 anos) com quadro clínico correspondente à descrição original da família Thomas. Predomina ataxia de marcha e oftalmoplegia, com leves sintomas piramidais e extrapiramidais. A morte ocorre ao redor dos 60 anos.

Tipo III (fenótipo Machado)

Início tardio (45-65 anos), melhor prognóstico, com sinais cerebelares e de amiotrofia distal: ataxia progressiva da marcha e extremidades, fala escandida, polineuropatia distal motora e sensitiva e atrofia muscular das mãos e pernas.

Vinte anos de observação destes pacientes levaram às seguintes conclusões: em qualquer momento durante o curso da doença, os sinais e sintomas dos pacientes podem se encaixar em um dos três tipos descritos; um paciente pode progredir de um tipo para outro tipo durante o curso de sua doença.

Tipo IV (fenótipo parkinsoniano)

A presença de um quadro parkinsoniano na DMJ tem sido descrito (ROSENBERG, 1995). Com o advento do mapeamento genético da doença, foi possível comprovar que, de fato, pacientes com quadro parkinsoniano eram portadores de DMJ/AEC3 (TUIE *et al.*, 1995).

2.6. ACHADOS NEUROPATOLÓGICOS

2.6.1. Estruturas geralmente atingidas

As estruturas que mais apresentam perda neuronal e gliose são : substância negra; núcleos subtalâmicos, denteado, pontinos, rubro, vestibular e dos nervos oculomotor, troclear e trigêmeo; pedúnculos cerebelares médio e superior; fascículo longitudinal medial; coluna de Clark; tractos espino-cerebelares (principalmente o anterior); núcleos dos nervos cranianos motores; *locus ceruleus*; núcleos da raiz posterior e colunas posteriores. No globo pálido ocorre degeneração principalmente dos segmentos internos (TAKIYAMA *et al.*, 1994).

2.6.2. Estruturas geralmente poupadas

Estruturas quase nunca afetadas são : córtex cerebral; *striatum*; tálamos; tractos córtico-espinais; olivas bulbares; feixe piramidal. No córtex cerebelar, as células de Purkinje não apresentam redução significativa. Porém, a substância branca das folhas cerebelares apresentam grande perda de fibras e gliose (TAKIYAMA *et al.*, 1994).

A atrofia das olivas bulbares é um achado neuropatológico pouco característico da doença, mas tem sido evidenciada na RM de alguns pacientes (HABERHAUSEN *et al.*, 1995; LOPES-CENDES *et al.*, 1996b).

2.6.3. Correlação anátomo-clínica

As alterações encontradas nos núcleos denteado e pontino e na coluna de Clark, assim como nas respectivas vias eferentes, se relacionam com a ataxia cerebelar. Não é comum encontrar o tremor intencional que se relaciona com lesões do núcleo denteado. Tardamente, porém, surgem alterações da cinética dos membros superiores, caracteristicamente secundárias às lesões desse núcleo (ROBITAILLE *et al.*, 1997).

Há possivelmente dois níveis de oftalmoparesia. Na supranuclear, os pacientes apresentam paralisia do olhar causada por alterações no fascículo longitudinal medial e no tecto do mesencéfalo. Na oftalmoparesia nuclear há estrabismo, ptose e raramente, alterações pupilares, sendo relacionadas com o núcleo oculomotor.

Há preservação das vias piramidais em todo o seu trajeto na DMJ. Como a síndrome piramidal descrita apresenta um caráter mais irritativo, com sinal de Babinski, hiperreflexia, espasticidade e há integridade do feixe córtico-espinal principal, postula-se haver lesão de outras vias espinais. Os feixes vestibulo-espinais e retículo-espinais encontram-se afetados em alguns pacientes (ROBITAILLE *et al.*, 1997).

Todos os exames anatomopatológicos descritos relatam lesão do neurônio motor periférico, responsável pela síndrome periférica, caracterizada por amiotrofias, fraqueza periférica e fasciculações freqüentes. Há também lesões maciças dos cornos anteriores da medula.

Além do nervo oculomotor e abducente, os demais nervos cranianos também podem estar lesados. Assim, por exemplo, a disfagia pode ser devida a lesão do núcleo dorsal do nervo vago, mas pode ser de início supranuclear, assim como a oftalmoparesia. As lesões vestibulares ocorrem em quase todos os pacientes, que, no entanto, apresentam nistagmo e desequilíbrio ao olhar para o lado, mas sem referir vertigens. As fasciculações e contrações dos músculos faciais possivelmente se relacionam com a lesão do núcleo do VII par (ROBITAILLE *et al.*, 1997).

A síndrome extrapiramidal, caracterizada por bradicinesia e rigidez se relaciona com lesões na substância negra. A insônia, a distonia e o emagrecimento sem relação com a disfagia ou atrofia muscular, podem estar relacionados com lesões no *locus ceruleus*. (ROBITAILLE *et al.*, 1997).

2.6.4. Correlação entre anatomia e análise genética

LOPES-CENDES *et al.* (1996a) investigaram a correlação entre o tamanho da repetição CAG e os achados neuropatológicos em diversas áreas do sistema nervoso central de 3 pacientes com DMJ/AEC3. O exame anatomopatológico revelou preservação dos tálamos e das áreas 9, 22, 7a e 18 dos córtices frontal, temporal, parietal e occipital, respectivamente. Notou-se atrofia leve a moderada do córtex cerebelar e acentuada da ponte. Em todas as regiões estudadas houve expansão do alelo de forma homogênea, com exceção do córtex cerebelar, que apresentou menor grau de expansão do alelo. Houve um menor grau de mosaicismos somático no cerebelo, que pode estar relacionado com taxas menores de divisão celular durante o período de desenvolvimento embrionário quando comparado com outras estruturas do córtex cerebral. Portanto, apesar de existir mosaicismos somático, as diferenças parecem estar relacionadas com a divisão mitótica durante o desenvolvimento e não com alterações neuro-patológicas ligadas à doença.

Estudo semelhante foi realizado por HASHIDA *et al.*, (1997) em 3 pacientes DMJ/AEC3 e em 9 pacientes com atrofia dentato-rubro-palido-luysiano, notando-se o mesmo padrão de mosaicismos nos córtices cerebral e cerebelar relatado por LOPES-

CENDES *et al.* (1996b). Estes autores ainda realizaram dissecação das camadas granular, molecular e de substância branca dos pacientes com atrofia dentato-rubro-palido-luysiano, e observaram, na camada granular, o menor grau de expansão; na substância branca, um grau de expansão semelhante ao do córtex cerebral e na molecular, uma mistura dos dois graus de expansão. Os autores postularam que o menor grau de expansão na camada granular poderia ser devido à enorme densidade neuronal, células que são pós-mitóticas e portanto, menos instáveis; enquanto que a substância branca contém células da glia, que continuam a se dividir ao longo da vida do indivíduo e são, portanto, mais susceptíveis à expansão (HASHIDA *et al.*, 1997). MACIEL *et al.* (1997) buscaram correlacionar o mosaicismismo somático (variação do tamanho da expansão) nos córtices cerebral e cerebelar de 11 pacientes DMJ/AEC3 com a idade de morte das pacientes. Os autores, apesar de não terem encontrado correlação direta entre a idade de morte e o grau de mosaicismismo somático existente no sistema nervoso central, não excluem completamente esta possibilidade, uma vez que a amostra estudada foi pequena, podendo as células da glia serem os maiores contribuintes para o mosaicismismo somático.

2.7. NEUROIMAGEM

2.7.1. Ressonância Magnética (RM)

Estudos de RM em pacientes com DMJ/AEC3 revelam atrofia do tegmento pontino, das olivas bulbares inferiores, dos hemisférios cerebelares, inclusive do vérmis e dilatação do 4º ventrículo, alterações que apresentam estreita correlação com os achados neuropatológicos (LOPES-CENDES *et al.*, 1996b).

Estes achados de RM em pacientes DMJ/AEC3 foram corroborados por um estudo realizado 2 anos depois, evidenciando atrofia acentuada da ponte, dilatação do 4º ventrículo, provavelmente decorrente da atrofia do tegmento pontino e núcleo denteado e atrofia cerebelar moderada. O estudo ainda mostrou pedúnculos cerebelares superior e médio e globo pálido atroficos e atrofia frontal e temporal de moderada a acentuada ($p \leq 0,05$). Os autores notaram que a atrofia pontina é idade-dependente enquanto a atrofia

do globo pálido é diretamente proporcional ao tempo de duração da doença. As atrofia pontina e do pedúnculo cerebelar médio sugerem que o trato cerebelar aferente que faz a conexão do núcleo pontino com o cerebelo através do pedúnculo cerebelar médio está acometido. A atrofia do pedúnculo cerebelar superior parece caminhar junto com a atrofia dos núcleos denteado e rubro nestes pacientes (MURATA *et al.*, 1998).

2.7.2. Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET)

Estudos com PET utilizando diferentes traçadores, como a dopamina- ^{18}F (FD), a fluor-desoxi-glicose- ^{18}F (FDG) e a racloprida- ^{11}C (RAC) também têm sido realizados nestes pacientes.

Avaliando-se as contagens da densidade celular na substância negra e níveis de dopamina no *striatum* pós-morte de 6 pacientes (1 com doença de Alzheimer, 1 com doença de Parkinson, 1 com esclerose lateral amiotrófica e 3 com paralisia supranuclear progressiva) que foram submetidos a FD enquanto vivos, observou-se uma correlação linear entre a captação de FD e as contagens da densidade celular na substância negra ($r = 0,94$) e com os níveis de dopamina no *striatum* ($r = 0,97$). Portanto, estudos com FD são capazes de demonstrar a quantidade de neurônios dopaminérgicos funcionantes na via nigro-estriatal. A FD é transportada através da barreira hemato-encefálica (BHE) por um sistema de transporte de amino-ácidos neutros, é descarboxilada no cérebro em 6-fluoro-dopamina e armazenada nas vesículas das terminações pré-sinápticas. Não havendo qualquer tipo de bloqueio ao transporte de FD através da BHE, como o que ocorre com a infusão de amino-ácidos, a captação de FD deve refletir a integridade dos neurônios nigro-estriatais sendo utilizada para avaliar funções pré-sinápticas dopaminérgicas. Perdas no sistema nigro-estriatal podem preceder as manifestações clínicas, pois os pacientes com doença de Alzheimer não apresentavam sinais extrapiramidais no momento da realização do estudo com FD (SNOW *et al.*, 1993).

TANIWAKI *et al.*, (1997) avaliaram 3 pacientes com DMJ/AEC3 através de RM, FDG e FD. Os autores notaram à RM, atrofia moderada do cerebelo e da ponte e nenhuma alteração no córtex cerebral. A FDG mostrou hipometabolismo difuso do córtex cerebral, mais acentuado nos lobos frontal, temporal, parietal, occipital, putamen, núcleo

caudado, tronco cerebral e cerebelo. Houve redução significativa da captação de FD no putâmen, e, em menor grau, no núcleo caudado. A redução do metabolismo de FDG no tronco cerebral e cerebelo está de acordo com as alterações neuropatológicas evidenciadas nos pacientes DMJ/AEC3. O hipometabolismo reflete a perda de neurônios e sinapses nestas regiões, seqüelas de alterações degenerativas dos sistemas dento-rubro e palidolusiano, substância negra, núcleo pontino e trato espino-cerebelar. O hipometabolismo de FDG evidenciado no córtex cerebral e *striatum* sugere efeitos provocados por deafferentação de estruturas nestes sistemas sabidamente acometidos. Ainda, estes autores compararam seus achados com aqueles descritos anteriormente por GILMAN *et al.*, 1994, 1995. Pacientes com AOPC de herança dominante também apresentam hipometabolismo da FDG no cerebelo e tronco cerebral, porém, o metabolismo cortical é normal. Tanto na AOPC esporádica, quanto na atrofia múltipla sistêmica, também há hipometabolismo de FDG no córtex cerebral, além do tronco e do cerebelo, semelhante aos pacientes com DMJ. O estudo não descreve a análise genética dos pacientes; portanto, eles podem fazer parte de um grupo com AEC composto por diferentes genótipos (GILMAN *et al.*, 1994).

Estudos de PET com $H_2^{15}O$ para avaliar o fluxo sanguíneo cerebral (FSC) e com FDG para avaliar o metabolismo celular, em pacientes com AOPC de forma esporádica revelam hipofluxo e hipometabolismo no tronco cerebral, vérmis e hemisférios cerebrais. As taxas de hipofluxo e hipometabolismo estão acopladas, o que significa que não há, nesta doença, qualquer processo oclusivo vascular e que portanto, o hipofluxo é reflexo de uma redução da demanda metabólica do tecido cerebral que está sofrendo um processo degenerativo. Este estudo também não menciona análise genética dos pacientes; portanto, eles podem fazer parte de um grupo de pacientes com AEC de diferentes genótipos (GILMAN *et al.*, 1995).

A avaliação do comprometimento da via nigro-estriatal, e, conseqüentemente, do *striatum* de pacientes com DMJ/AEC3, também foi estudada em 1997, utilizando-se PET com RAC. Esta molécula é uma benzamida capaz de avaliar seletivamente os receptores D2, diferentemente da FD, utilizada para avaliar a via nigro-estriatal dopaminérgica pré-sináptica. Em todos os 6 pacientes com DMJ/AEC3 estudados, observou-se uma ligação normal de RAC no putamen e no núcleo caudado e, em 2 deles,

ligação levemente reduzida de FD. Não houve correlação entre os achados do PET com o fenótipo, tamanho da repetição CAG, duração ou início da doença. Os autores concluíram que parece não haver um comprometimento do putamen e do núcleo caudado de pacientes com DMJ/AEC3 e a utilização destas substâncias não são úteis na avaliação destes pacientes (SHINOTOH *et al.*, 1997). Estes achados estão em total desacordo com os de TANIWAKI *et al.*, (1997), que notaram redução da captação de FD no putamen e em menor grau no núcleo caudado de pacientes com DMJ/AEC3.

SOONG *et al.*, (1997) realizaram estudos de FDG com PET em 8 pacientes com DMJ/AEC3 oriundos de 21 famílias chinesas. Os autores obtiveram a relação atividade regional de FDG nos hemisférios cerebelares, vérmis cerebelar, tronco cerebral e lobos temporal, parietal, e occipital, pela atividade dos tálamos (referência). Os autores demonstraram hipometabolismo no córtex cerebelar, vérmis, tronco e também no córtex occipital. destes pacientes. Estes autores não observaram hipometabolismo nos lobos temporais e parietais, além de não terem estudado os lobos frontais.

Estudos de FDG com PET em portadores assintomáticos do gene *MJD* têm demonstrado redução do metabolismo no tronco cerebral, hemisférios cerebelares e córtex occipital, e aumento do metabolismo nas regiões parietais e temporais. Os autores não observaram correlação significativa entre o tamanho da repetição CAG e o grau de alteração metabólica nas diferentes regiões (SOONG & LIU, 1998). Este estudo demonstra a capacidade de se identificar alterações sub-clínicas do consumo de FDG que precedem o início dos sintomas.

De fato, outros estudos com PET têm demonstrado alterações precedendo as manifestações clínicas. A avaliação de 7 pacientes AOPC com FD identificou redução da captação de FD em todos. Destes, 3 já apresentavam sintomas parkinsonianos. Os demais 4 pacientes eram assintomáticos no momento do estudo, mas desenvolveram os sintomas 2 a 6 anos após o diagnóstico (SCHRAG *et al.*, 1998).

2.7.3. Tomografia por Emissão de Fóton Único (SPECT)

A barreira hemato-encefálica

As estruturas responsáveis pela barreira hemato-encefálica (BHE) são as *tight junctions* do endotélio do capilar cerebral, a membrana basal perivascular e a astrogliia. A passagem de substâncias através desta barreira só é possível com a quebra da barreira ou através de injeção intra-tecal. A permeabilidade da BHE a substâncias lipossolúveis é primariamente dependente do fluxo sanguíneo cerebral regional (FSCr). Com o desenvolvimento de moléculas lipofílicas, foi possível obter imagens *in vivo* da fisiologia e fisiopatologia cerebral (COSTA, 1995).

Os traçadores lipofílicos

O traçador de perfusão cerebral ideal deveria ser extraído completamente pelo sistema nervoso central durante a primeira passagem intravascular sem sofrer redistribuição. A *N*-isopropil- p - ^{123}I -iodoanfetamina (IMP) é uma amina lipofílica utilizada para medir o FSCr, extraída e retida (80%) quando injetada na artéria carótida interna. Sua extração e retenção, quando injetada por via venosa, também são satisfatórias para uso clínico: 45% de extração em 2 minutos, com captação de 6-9% da dose injetada. A retenção das aminas, em geral, também é um reflexo da variação do pH existente entre o plasma (pH = 7,4) e o cérebro (pH = 7,0) (MORETTI, 1995).

Desde o advento do SPECT cerebral e dos estudos com iodoanfetamina- ^{123}I , esta metodologia ganhou larga aplicação na rotina clínica. Atualmente os traçadores mais utilizados são o HMPAO- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (oxima da hexametilpropilenoamina, marcada com tecnécio-99m ou Ceretec®) e o ECD- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (dímero do etilcisteinato, marcado com tecnécio-99m ou Neurolite®).

HMPAO- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (oxima da hexametilpropilenoamina, marcada com tecnécio-99m ou Ceretec®)

Para que o HMPAO- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ atue como um agente medidor do FSCr, algumas características são importantes:

1. Deve ser um traçador livremente difusível, capaz de atravessar a BHE. Portanto, deve ser lipofílico e neutro em pH fisiológico.
2. Sua captação deve ser proporcional ao FSCr.

3. A capacidade de ligação com proteínas deve ser fraca e limitada.
4. A concentração cerebral deve ser constante durante a aquisição das imagens. Sua retenção, portanto, deve ser prolongada, através de um mecanismo de captação que o impeça de atravessar a BHE na direção oposta : por ionização no menor pH do cérebro; por reação química tornando-o hidrofílico e não difusível; por ligação inespecífica a componentes celulares.
5. Ter custo acessível.
6. Ser marcado com tecnécio-99m.

O HMPAO-^{99m}Tc é um traçador que satisfaz estas características, porém cabe ressaltar que a entrada destas substâncias no neurônio só é possível se houver integridade neuronal e se o fluxo sanguíneo estiver preservado. A marcação do d,l- HMPAO com tecnécio-99m produz um complexo lipofílico e neutro, que *in vivo*, se transforma em um complexo secundário polar, uma substância não-difusível, hidrofílica. A conversão do d,l-HMPAO em substância hidrofílica ocorre em todos os tecidos, inclusive o sanguíneo, o que resulta em uma menor captação desta molécula pelo tecido cerebral. Portanto, é importante evitar a mistura de sangue com esta substância, antes de ser injetada. O mecanismo proposto para esta conversão em substância hidrofílica é a interação do d,l-HMPAO com a glutatona, mas esta teoria não é aceita por todos. A composição do d,l-HMPAO-^{99m}Tc é de uma pureza radioquímica moderada. Além do complexo lipofílico desejado, presente em 80% do preparado, existe na sua composição pertecnetato-^{99m}Tc livre, tecnécio-99m hidrolizado reduzido e outros complexos polares. A qualidade da imagem piora muito quando a pureza radioquímica é inferior a 85%. É fundamental a realização do controle de qualidade do preparado nos estudos de perfusão cerebral com d,l-HMPAO-^{99m}Tc. Alguns autores preconizam o uso de estabilizadores para manter a porcentagem do complexo lipofílico (d,l-HMPAO-^{99m}Tc) após seu preparo. A extração cerebral desta molécula é de 100% nos primeiros 2 minutos após a injeção venosa e a captação cerebral é de 3,5 - 7,0% (média 5%) da dose injetada. Até 15% da dose injetada sofrem clareamento do cérebro 2 minutos após a injeção, mas o material retido permanece estável por 24 horas. Em 48 horas após injeção, 40% da dose injetada é excretada na urina e 15% no intestino. A

biodistribuição do d,l-HMPAO-^{99m}Tc é de 5% no cérebro, 10,2% no fígado, 12% nos pulmões, 3,5% nos rins, 22,4% na vesícula biliar, 2,3% na bexiga e 13,9% no sangue, sendo os órgãos que recebem a maior dose de radiação o cólon ascendente, os rins e a bexiga (VERBRUGGEN, 1995).

Estudos de fluxo sanguíneo cerebral em pacientes com AECs

O uso de SPECT cerebral nos pacientes com suspeita de demências de Alzheimer, Pick, demência vascular, doenças cérebro-vasculares, epilepsia, doenças psiquiátricas e outras está bem documentado na literatura. Entretanto, existem poucos relatos sobre o uso do SPECT cerebral para avaliação de pacientes com AECs.

A comparação do FSCr com N-isopropil-p-iodoanfetamina-¹²³I (IMP) com as alterações evidenciadas na tomografia computadorizada (TC) em 5 pacientes com DMJ mostrou uma redução do FSCr no cerebelo de todos os pacientes em relação ao grupo controle. Porém, em um paciente, a magnitude da atrofia cerebelar à TC foi maior do que a redução do FSCr. Os autores concluíram que as células de Purkinje estão praticamente normais no cerebelo, e que as camadas granular e molecular permanecem intactas, apesar da atrofia cortical (TAKAHASHI *et al.*, 1994).

As evidências destes autores não são corroboradas por outros utilizando traçadores de atividade metabólica e de fluxo sanguíneo cerebral. É curioso o fato de se encontrarem sinais mais evidentes de atrofia cerebelar à TC do que com IMP, uma vez que a CT tem dificuldades para avaliar estas estruturas.

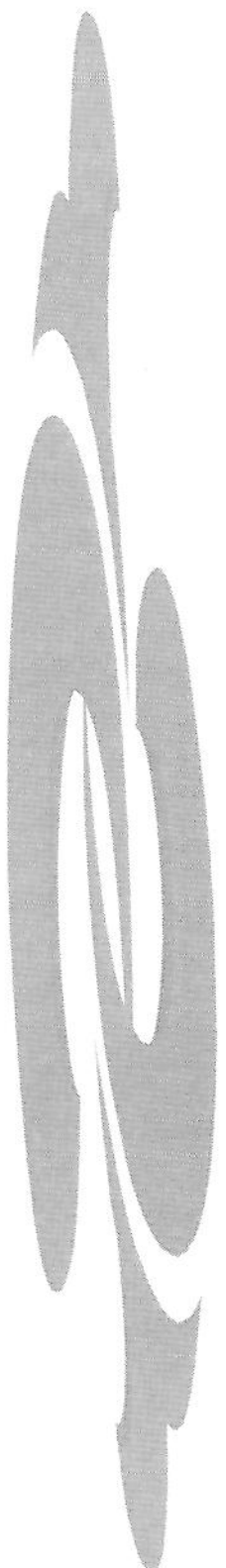
BOTEZ *et al.* (1991), detectaram redução da concentração do HMPAO-^{99m}Tc nos hemisférios cerebelares e cerebrais de pacientes com AOPC sendo 14 hereditários e 1 esporádico. Os pacientes com ataxia cerebelar acentuada apresentaram redução significativa da concentração do HMPAO-^{99m}Tc no córtex, principalmente frontal ou fronto-parietal, quando comparados com pacientes com ataxias leves. As tomografias destes pacientes foram normais. Não houve relação entre a redução da captação nos córtices cerebral e cerebelar com a duração da doença ou idade do paciente.

Apesar de estes pacientes não terem sido classificados de acordo com o subtipo genético, possivelmente formando um grupo muito heterogêneo de diferentes formas de ataxias isoladas e familiares, pode-se tirar algumas conclusões interessantes do trabalho destes autores. A redução da captação do HMPAO-^{99m}Tc no córtex cerebral, que ocorreu em 73% dos pacientes, pode estar relacionada com duas vias de conexão. A via cerebelo-tálamo-cortical (i.e., frontal e parietal), ou a via dopaminérgica, que tem origem no núcleo denteado, cruza a linha média enviando terminações para o núcleo rubro, para a substância negra, que por sua vez envia projeções ao *striatum* e daí ao córtex frontal. Tanto as alterações da via clássica quanto as da via dopaminérgica já haviam sido postuladas quando se identificaram áreas de hipofluxo cortical e redução de FD no *striatum* destes pacientes. Estes achados podem ter um valor inestimável no entendimento das vias de conexão córtico-cerebelares relacionadas com o comportamento e a motricidade. Estes pacientes foram genotipados alguns anos após a publicação e nenhum era portador da mutação da DMJ/AEC3 (LOPES-CENDES, 2001*).

ISHIBASHI *et al.*, em 1998 estudaram 4 pacientes japoneses DMJ/AEC3 com IMP, RM e iomazenil-¹²³I, um traçador com afinidade para receptores benzodiazepínicos. Os autores notaram redução da captação de iomazenil-¹²³I no córtex cerebral, tálamos, cerebelo e *striatum* de todos os pacientes mas apenas hipoperfusão cerebelar e do lobo temporal esquerdo em 1 paciente. A RM destes indivíduos não identificou alterações corticais, apenas atrofia cerebelar. O achado de lesão de receptores benzodiazepínicos é inédito na literatura. Desde a primeira descrição anátomo-patológica da doença até a avaliação do fluxo sanguíneo cerebral, atividade glicolítica e de receptores dopaminérgicos, nunca foram identificadas alterações talâmicas. Mais estudos devem ser realizados com uma casuística maior para corroborar os achados destes autores.

* LOPES-CENDES, Comunicação pessoal. 2001.

YEN *et al.*, (2000), realizaram SPECT cerebral em 10 pacientes DMJ/AEC3 utilizando um análogo da cocaína, o TRODAT-^{99m}Tc. O DAT é um transportador de dopamina que se encontra na membrana do neurônio pré-sináptico responsável pela reutilização da dopamina livre da fenda pré-sináptica. A cocaína, assim como o TRODAT-^{99m}Tc se ligam ao DAT e bloqueiam sua ação. Em pacientes com lesão do sistema nigro-estriatal dopaminérgico haveria redução da captação de TRODAT-^{99m}Tc. Os pacientes DMJ/AEC3 estudados apresentaram de fato, redução de TRODAT-^{99m}Tc no caudado e putamen, principalmente aqueles pacientes com sintomas extrapiramidais. Porém, no estudo destes autores, somente 2 pacientes apresentavam sintomas extrapiramidais enquanto que a redução da captação do TRODAT-^{99m}Tc ocorreu em 8 dos 10 pacientes. Talvez a alteração do receptor sem sintomas extrapiramidais (6/10) pode predizer um distúrbio de sinais extrapiramidais. Estudos prospectivos destes pacientes serão necessários para confirmar ou não esta teoria. Os autores não encontraram nenhuma correlação das alterações do SPECT com a gravidade dos sintomas e o tamanho da repetição CAG.



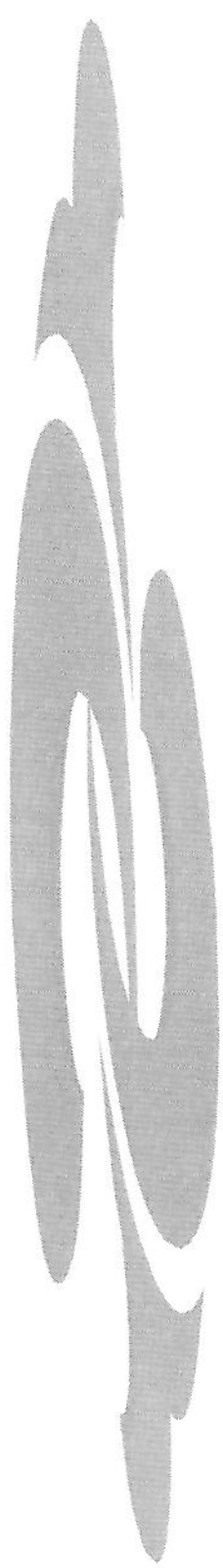
3. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

Estudos realizados com PET (TANIWAKI *et al.*, 1997 ; SHINOTOH *et al.*, 1997; SOONG *et al.*, 1997 ; SOONG & LIU, 1998 ; SCHRAG *et al.*, 1998) em pacientes com DMJ demonstraram alterações cerebelares e corticais, apesar de TAKIYAMA *et al.*, (1994) descreverem, nos seus achados neuropatológicos, que o córtex cerebral quase nunca está afetado.

Não existem estudos com o uso do SPECT cerebral com HMPAO-^{99m}Tc para avaliação de pacientes com o diagnóstico molecular da DMJ/AEC3. O SPECT cerebral com HMPAO-^{99m}Tc e a RM poderiam contribuir para identificar alterações funcionais e anatômicas no cerebelo e no córtex cerebral destes pacientes.

OBJETIVOS

1. Avaliar no SPECT cerebral qualitativo e semiquantitativo os córtices cerebral e cerebelar dos pacientes com DMJ/AEC3.
2. Avaliar por RM de alta resolução com análise qualitativa as estruturas cerebrais e cerebelares, além de medidas volumétricas dos hemisférios cerebelares e vérmis, nos pacientes com DMJ/AEC3.
3. Determinar se existe correlação entre a magnitude das anormalidades metabólicas e estruturais encontradas nos pacientes com DMJ/AEC3 e a duração da doença, o tipo clínico, os sinais e sintomas e as características moleculares da mutação: tamanho da repetição CAG.



4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. CASUÍSTICA

A casuística deste trabalho foi constituída por 12 pacientes com diagnóstico genético da mutação responsável pela DMJ/AEC3, sendo 8 masculinos (67%) e 4 femininos (33%), com idades variando de 22 a 67 anos, média 39 anos. Na Tabela 1 estão relacionados os 12 pacientes com DMJ/AEC3, constando sexo, idade, tipo clínico, duração da doença, sinais e sintomas, grau de ataxia cerebelar e tamanho da repetição CAG. A duração da doença foi determinada como o momento inicial em que o paciente percebeu a manifestação clínica de ataxia da marcha.

As alterações de ataxia foram graduadas em :

- 1- Marcha discretamente alterada
- 2- Marcha discretamente a moderadamente alterada
- 3- Marcha moderadamente a acentuadamente alterada
- 4- Marcha extremamente comprometida

Nos Gráficos 1 e 2 está a distribuição dos pacientes segundo o sexo e a faixa etária, respectivamente.

Os pacientes foram submetidos ao SPECT cerebral e RM no mesmo dia. Foram também obtidos grupos controle para o SPECT cerebral e a RM.

O grupo-controle do SPECT cerebral foi constituído de 42 voluntários normais, sendo 22 femininos e 20 masculinos, com idades variando de 22 a 66 anos, média 32,6 anos. O grupo-controle da RM foi constituído de 17 voluntários normais, sendo 13 femininos e 4 masculinos, com idades variando de 21 a 62 anos, média 32,2 anos. Na Tabela 2 estão relacionadas as características dos indivíduos dos grupos controle do SPECT cerebral e de RM, com a distribuição por sexo e por idade.

Tabela 1: Relação dos pacientes DMJ/AEC3

Paciente	Sexo	Idade (anos)	Tipo clínico	Duração da doença (anos)	Sinais e Sintomas			Grau de ataxia cerebelar	Tamanho da repetição CAG
					Cerebelares	Piramidais	piramidais Extra-		
1 ♣	M	36	II	3	Sim	Sim	Não	1	73
2 ♦	M	42	II	9	Sim	Sim	Não	3	73
3 ♦	F	43	II	7	Sim	Sim	Não	2	70
4 ▲	F	22	I	7	Sim	Sim	Não	1	75
5 ▲	M	28	I	16	Sim	Sim	Sim	4	77
6 ♣	M	31	II	4	Sim	Sim	Sim	1	68
7	F	25	I	7	Sim	Não	Sim	4	78
8	M	65	III	19	Sim	Não	Sim	4	68
9 +	M	67	III	15	Sim	Não	Sim	4	70
10 +	M	35	II	5	Sim	Sim	Sim	3	68
11 ♣	F	30	II	3	Sim	Sim	Não	1	70
12 ♦	M	44	II	9	Sim	Não	Não	2	71
Média	-	39	-	8,7	-	-	-	2,6	71,8
Desvio- padrão	-	14,4	-	5,3	-	-	-	1,2	3,5

♣, ♦, ▲, + = indicam indivíduos pertencentes à mesma família

M = masculino

F = feminino

Grau de ataxia :

1 = normal – discreta

2 = leve – moderada

3 = moderada – acentuada

4 = extrema

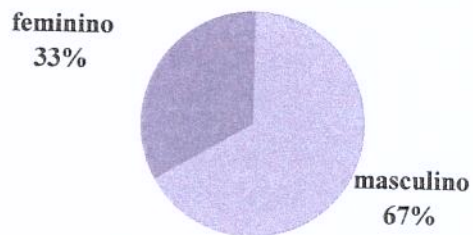


Gráfico 1: Distribuição dos pacientes DMJ/AEC3 segundo o sexo.

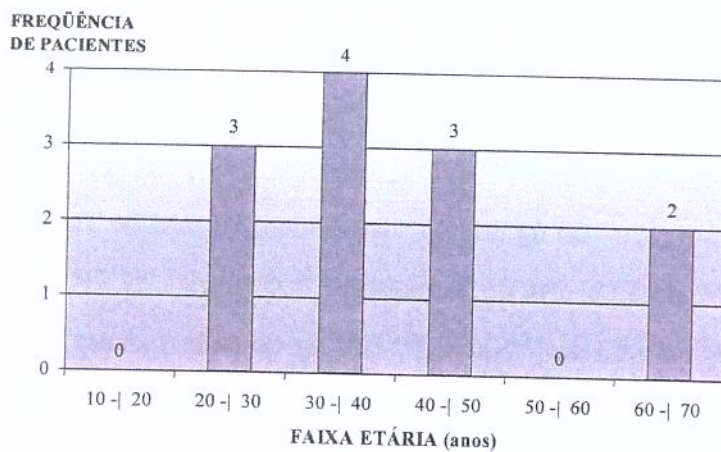


Gráfico 2: Distribuição dos pacientes DMJ/AEC3 segundo a faixa etária.

Tabela 2: Características dos indivíduos dos grupos-controle de SPECT cerebral e RM.

SPECT CEREBRAL			RM
	Total	42	17
	Frequência	22	13
F	Percentual	52,4	76,5
	Frequência	20	4
M	Percentual	47,6	23,5
	Média de idade	32,6	32,2
	Desvio-padrão	11,2	12
	Idade mínima	22	21
	Idade máxima	66	62

F = feminino

M = masculino

4.2. ANÁLISE GENÉTICA DOS PACIENTES DMJ/AEC3

4.2.1. Extração do DNA genômico

O DNA genômico foi isolado a partir de linfócitos periféricos através de métodos convencionais. O fragmento contendo a repetição CAG do gene *MJD* foi amplificado por PCR usando os “primers” MJD52 e MJD25. O PCR foi realizado em um volume final de 12,5 µl, contendo 100 ng de DNA genômico, 10 mM de Tris-HCl (pH 8,8), 15 mM de MgCl₂, 50 mM de KCl, 2% de formamida, 250 µM de dCTP, dGTP e dTTP, cada um, 25 µM de ATP, 1,5 µCi de [³⁵S]dATP, 100 ng de cada “primer” e 1 unidade da enzima *Taq* DNA polimerase. O DNA foi desnaturado a 94° C por 5 minutos, depois 32 ciclos a 94° C por 1 minuto, 60° C por 1 minuto e 72° C por 5 minutos, seguidos de uma extensão final a 72° C por 5 minutos.

4.2.2. Determinação do tamanho do alelo

Para determinação do tamanho do alelo, os produtos do PCR foram analisados em géis de poliacrilamida a 6% em paralelo com um marcador de peso molecular e visualizados através de autoradiografias. Os tamanhos dos alelos foram determinados comparando-se com a sequência do marcador e convertidos em números de unidades de repetição CAG (N), usando a equação $N = (T - 121) / 3$, onde T é o tamanho do fragmento em pares de base, assumindo-se que a variação do tamanho do produto PCR ocorreu dentro da sequência repetitiva de CAG.

4.3. SPECT CEREBRAL

4.3.1. Preparo do material radioativo

O SPECT cerebral foi realizado com o radiofármaco oxima da hexametilpropileno amina ($C_{13}H_{28}N_4O_2$ - HMPAO - Ceretec[®], Amersham), marcado com tecnécio-99m (HMPAO-^{99m}Tc).

O frasco deste material contém uma mistura liofilizada de 0,5 mg de d,l-HMPAO, 7,6 µg de di-hidrato de cloreto estanoso e 4,5 mg de cloreto de sódio. A marcação com tecnécio-99m foi realizada adicionando-se um máximo de 1.850 MBq (50 mCi) de pertecnetato de sódio-^{99m}Tc de um gerador de tecnécio-99m, diluído em solução fisiológica, a um volume de 5 ml. O eluato havia sido obtido a não mais do que 2 horas (elução fresca, para garantir alta pureza radioquímica) a partir de um gerador que havia sido eluído nas últimas 24 horas (para evitar oxidantes, como por exemplo Al^{+3}). Foram retirados 5 ml de gás do frasco e, em seguida, o frasco foi agitado por 10 segundos para dissolução completa do liofilizado e invertido várias vezes por 10 segundos. O pH do radiofármaco obtido foi mantido entre 9,0 e 9,8. O preparado final foi injetado no máximo até 25 minutos de sua preparação.

O pertecnetato- ^{99m}Tc adicionado ao HMPAO na presença do redutor cloreto estanhoso promove a formação de um complexo lipofílico (primário) que atravessa a barreira hemato-encefálica e de um complexo secundário que não atravessa esta barreira.

4.3.2. Determinação da pureza radioquímica

Para determinar a pureza radioquímica, utilizou-se a extração por solvente, método mais simples e rápido. Em um tubo de ensaio foram colocados 2 ml de acetato de etila e 2 ml de cloreto de sódio 0,9%. A este tubo adicionou-se 0,1 ml de HMPAO- ^{99m}Tc reconstituído e agitou-se a solução. Pipetou-se 1 ml de cada fase desta mistura e transferiu-se cada um deles para um tubo limpo. A radioatividade de ambas as fases equivale a 100%. A fase orgânica (acetato de etila) extrai o complexo lipofílico e a fase salina, o $^{99m}\text{TcO}_4^-$ livre. A duração deste procedimento é de 5 minutos. A porcentagem do complexo lipofílico é obtida com a equação :

$$\% \text{ complexo lipofílico} = \frac{\text{contagem fase orgânica} \times 100}{(\text{contagem fase org.}) + (\text{contagem fase aquosa})}$$

Aceitou-se uma pureza radioquímica de $90 \pm 5\%$.

4.3.3. Preparo do paciente

Os pacientes permaneceram em repouso em um ambiente sem estímulos luminosos e sonoros durante 15 minutos, com acesso venoso permanente garantido por um “butterfly” conectado a um cateter contendo soro fisiológico. Após o repouso, foram injetados 1.110 MBq (30 mCi) de HMPAO- ^{99m}Tc no catéter de soro fisiológico e os pacientes permaneceram em repouso por mais 10 minutos. Após a remoção do material de acesso venoso, iniciou-se o SPECT cerebral.

4.3.4. Protocolo de aquisição das imagens

O SPECT cerebral foi realizado em uma câmara de cintilação computadorizada equipada com colimador “fan beam” (SPX-6, Elscint Ltd., Haifa, Israel ou Helix, Elscint Ltd., Haifa, Israel). A câmara de cintilação foi previamente calibrada para a energia do tecnécio-99m, com fotopico centrado em 140 keV e uma janela de 20%. Foram adquiridas 60 imagens, em uma matriz 64 x 64, zoom 1,5, a intervalos de 6 graus, totalizando 360 graus. As imagens foram adquiridas a intervalos de 25 segundos, totalizando aproximadamente 6 a 7 milhões de contagens.

4.3.5. Protocolo de reconstrução das imagens

Após o término da aquisição, as imagens foram normalizadas. Utilizando-se um filtro Metz (número de ordem : 3 ; FWHM : 13,0 mm para Elscint SPX-6 e FWHM : 14,0 mm para Elscint Helix) as imagens no plano transversal foram obtidas através de “filtered back projection”. As imagens reconstruídas foram exibidas na matriz 64 x 64 (5,9 mm x 5,9 mm) em um grupo de 64 imagens (espessura do corte = 5,9 mm). Imagens nos planos coronal e sagital foram obtidas a partir dos cortes transversais originais paralelos à linha supra-órbito-meatal. Imagens transversais paralelas ao maior eixo do lobo temporal foram obtidas para análise desta estrutura (espessura de corte = 5,9 mm) e imagens transversais perpendiculares ao maior eixo do tronco cerebral foram também obtidas para análise do vérmis cerebelar (espessura de corte = 5,9 mm).

4.3.6. Análises visual e semi-quantitativa

As imagens de todos os pacientes foram submetidas às análises visual e semi-quantitativa. Para esta última, foram utilizados os tálamos como referência, com a colocação de áreas de interesse no córtex cerebelar, córtex cerebral e estruturas sub-corticais. Foram obtidas as contagens por pixel de cada área e divididas pelas contagens por pixel da região de referência (tálamos). As áreas analisadas foram: as

porções inferiores e superiores dos lobos frontais, a porção anterior dos giros do cíngulo, lobos parietais, as porções mesial e lateral dos lobos temporais, área visual primária, núcleos da base, ponte, vérmis cerebelar e hemisférios cerebelares. A determinação das áreas dos córtices cerebral e cerebelar no SPECT cerebral foi feita com a comparação das imagens de RM de cada paciente para aumentar a acurácia na quantificação. A análise das imagens do SPECT cerebral foi feita independente da análise da RM. A análise semi-quantitativa foi comparada à do grupo-controle.

4.4. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

As imagens de RM foram obtidas em um sistema de 2 Tesla (Prestige, Elscint Ltd., Haifa, Israel) com aquisições nos planos coronal, sagital e transversal além de uma aquisição 3D (volumétrica) que permitiu reconstrução *a posteriori* das imagens em qualquer plano e com qualquer inclinação.

4.4.1. Parâmetros de imagem para as diferentes aquisições

As imagens sagitais foram utilizadas para orientar o plano de aquisição das demais imagens. As imagens sagitais foram ponderadas em T1: *spin echo* (espessura de 6 mm, ângulo de excitação ou *flip angle* de 180°, TR= 430, TE= 12, matriz de 200 x 350 pixels, FOV= 25 x 25 cm).

As imagens coronais oblíquas foram obtidas em um plano perpendicular ao eixo longo da formação hipocampal, definido nas imagens sagitais: a) ponderadas em T2 *fast spin echo* (espessura de 4 mm; *flip angle* de 120° ; TR= 5800; TE= 129; matriz de 252 x 320; FOV= 18 x 18 cm); b) ponderadas em T1 *inversion recovery* (espessura de 3 mm; *flip angle* de 200° ; TR IR 2800; TE= 14; TI= 840; matriz de 130 x 256; FOV= 16 x 18 cm).

As imagens no plano transversal foram : *duplo spin echo* (ponderadas em T2 e densidade de prótons); ponderadas em T2 (espessura de 6 mm; *flip angle* de 180° ; TR= 1800; TE= 90; matriz de 165 x 256; FOV= 20 x 24 cm) ; densidade de prótons (espessura de 6 mm; *flip angle* de 180° ; TR= 1800; TE= 16; matriz de 165 x 256; FOV= 20 x 24 cm), ou *fast spin echo* ponderadas em T2 (espessura de 4 mm; *flip angle* de 120° ; TR= 6800; TE= 129; matriz de 252 x 328; FOV= 21 x 23 cm).

A aquisição 3D foi obtida no plano sagital *gradient-echo*, ponderada em T1 (espessura de 1,5 mm; *flip angle* de 35° ; TR=22; TE=9; matriz de 256 x 220; FOV=230 x 250; pixel=1 x 1).

4.4.2. Análise das imagens por RM

A análise das imagens de RM foi feita independente da análise do SPECT cerebral. As imagens foram comparadas às do grupo-controle. As características das lesões atroficas foram analisadas sistematicamente em todas as seqüências descritas acima. Levou-se em conta a extensão e topografia das lesões, bem como as alterações de sinal do parênquima cerebral adjacente e a presença de outras alterações à distância. As áreas analisadas foram: as porções inferiores e superiores dos lobos frontais, lobos parietais, as porções mesial e lateral dos lobos temporais, ponte, vérmis e hemisférios cerebelares e olivas bulbares. As estruturas dos hemisférios cerebelares foram minuciosamente analisadas.

Estudos volumétricos foram realizados em um computador “Silicon Graphics”, usando um aplicativo semi-automático permitindo o traçado manual dos contornos dos hemisférios cerebelares e do vérmis. Determinou-se também o volume total destas estruturas, para a análise estatística.

Para a determinação do volume dos hemisférios cerebelares, utilizaram-se 16 cortes sagitais da aquisição 3D obtida no plano sagital “gradient-echo” ponderada em T1 (espessura de 3 mm; *flip angle* de 35° ; matriz de 256 x 220; FOV=23 x 25 cm;

pixel=1 x 1), ou as imagens sagitais ponderadas em T1 *spin echo* (espessura de 6 mm, ângulo de excitação ou *flip angle* de 180° ; matriz de 200 x 350 pixels, FOV= 25 x 25 cm).

Para a determinação do volume do vérmis, utilizaram-se 4 cortes sagitais da aquisição 3D obtida no plano sagital *gradient-echo* ponderada em T1 (espessura de 3 mm; *flip angle* de 35° ; matriz de 256 x 220; FOV=23 x 25 cm; pixel=1 x 1).

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística teve o propósito de caracterizar os grupos estudados. Para algumas características das áreas do cérebro considerou-se como padrão de normalidade a média menos dois desvios-padrão de cada variável do grupo-controle, verificando o percentual de alteração no grupo DMJ/AEC3.

Para comparar as variáveis medidas entre os grupos foi aplicado o teste de Mann-Whitney. Para verificar associações ou comparar proporções, foi utilizado o teste χ^2 ou o teste exato de Fisher. O nível de significância adotado foi de 5% ($p \leq 0,05$).

Para identificar o grau de relação entre duas medidas foi usado o coeficiente de correlação linear de Spearman, devido ao tamanho da casuística.

Para verificar a concordância entre os resultados do SPECT cerebral e da RM foi aplicado o coeficiente Kappa. A interpretação da magnitude deste coeficiente é definida como: valores maiores ou iguais a 0,75 indicam excelente concordância; valores entre 0,75 e 0,40 indicam boa concordância; valores menores do que 0,40 não indicam concordância.

4.6. ASPECTOS ÉTICOS E FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO

Uma cópia dos formulários de consentimento pós-informação para realização do estudo genético (ANEXO 1) e do SPECT cerebral e RM (ANEXO 2) foi assinada pelos participantes no projeto.

O estudo genético das AECs tem aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (parecer nº 055/98) (APÊNDICE 1). Os estudos do SPECT cerebral e RM também têm aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (parecer nº 072/99) (APÊNDICE 2).

5. RESULTADOS

5.1. CASUÍSTICA

Na Tabela 1 estão relacionados todos os pacientes DMJ/AEC3 incluindo sexo, idade, tipo clínico, duração da doença, sinais e sintomas, o grau da ataxia e o tamanho da repetição CAG. Ataxia grau 1 foi observada em 33% dos pacientes, ataxia grau II em 17%, ataxia grau 3 em 17% e ataxia grau 4 em 33%. Em indivíduos normais, o gene contém entre 13 e 36 repetições CAG enquanto que a maioria dos pacientes com DMJ/AEC3 apresentam de 68 a 79 repetições CAG. No grupo DMJ/AEC3 estudado, o tamanho da repetição CAG variou de 68 a 78, semelhante ao que se encontra na literatura.. O tempo de duração da doença foi muito variável e pode haver grande subjetividade entre os entrevistados. A Figura 1 mostra o aspecto típico de dois pacientes com DMJ.

Na Tabela 3 estão relacionadas as distribuições por sexo e idade para o grupo-controle do SPECT cerebral e da RM e para os pacientes. Não houve diferença entre as idades dos grupos controle e DMJ/AEC3 que realizaram SPECT cerebral ($p = 0,093$ – teste de Mann-Whitney) assim como não houve entre os grupos-controle e DMJ/AEC3 que realizaram RM ($p = 0,092$ – teste de Mann-Whitney).

Tabela 3: Distribuição de sexo e idade entre os grupos-controle de SPECT cerebral, RM e pacientes.

		CONTROLE			DMJ/AEC3
		SPECT CEREBRAL	RM		
SEXO	Feminino	Frequência	22	13	4
		Porcentagem	52,4	76,5	33,3
	Masculino	Frequência	20	4	8
		Porcentagem	47,6	23,5	66,7
	Total	Frequência	42	17	12
		Porcentagem	100	100	100
IDADE		Média	33 ♦	32 ♦♦	39
		Desvio padrão	11	12	14
		Mínimo	22	21	22
		Máximo	66	62	67

♦ $p = 0,093$ – Teste de Mann-Whitney

♦♦ $p = 0,092$ – Teste de Mann-Whitney

5.2. ANÁLISE VISUAL DOS ESTUDOS DE SPECT CEREBRAL E RM

A análise visual dos estudos de SPECT cerebral foi realizada por dois médicos especialistas em medicina nuclear. A análise visual dos estudos de RM foi realizada por um especialista em neuroimagem.

Graduaram-se as alterações perfusionais e de volume como :

- 1- Perfusão ou volume normais ou discretamente alterados
- 2- Perfusão ou volume discretamente a moderadamente alterados
- 3- Perfusão ou volume moderadamente a acentuadamente alterados
- 4- Perfusão ou volume acentuadamente alterados

Em ambos os estudos (SPECT cerebral e RM) foram avaliados as porções inferiores e superiores dos lobos frontais, as porções laterais e mesiais dos lobos temporais, lobos parietais, hemisférios cerebelares, vermis cerebelar e ponte. Nos estudos de SPECT cerebral obteve-se também a análise visual dos núcleos da base e área visual primária. Obteve-se também a análise visual das olivas bulbares pela RM. No Anexo 3 constam todos os valores obtidos das análises visuais para cada área analisada no SPECT cerebral e na RM dos 12 pacientes DMJ/AEC3. A Figura 2 mostra a perfusão normal dos córtices cerebral e cerebelar e a Figura 3 ilustra diferentes graus de alterações perfusionais e de volume.

5.2.1. Grau de concordância entre as análises visuais no SPECT cerebral e na RM

As alterações perfusionais identificadas no SPECT cerebral nos lobos parietais e vermis cerebelar apresentaram correlação com os achados na RM. A Figura 4 mostra a hipoperfusão e atrofia do vermis cerebelar e dos lobos parietais. Entretanto, o SPECT cerebral identificou maior número de alterações nas porções inferiores dos lobos frontais, porções mesiais e laterais dos lobos temporais e hemisférios cerebelares. Observou-se,

também, hipoperfusão dos núcleos da base. A Figura 5 mostra a hipoperfusão dos lobos frontais e temporais, núcleos da base e hemisférios cerebelares. A análise da RM não incluiu estudo volumétrico dos núcleos da base, porém, na análise visual não foram observadas alterações de sinal destas estruturas. A RM identificou mais alterações na ponte e nas porções superiores dos lobos frontais. Atrofia das olivas bulbares foi evidenciada à RM em 58,3% dos pacientes, e não foram, por limitação do método, analisadas no SPECT cerebral. A Figura 6 mostra atrofia da ponte, lobos frontais superiores e olivas bulbares. A perfusão na área visual primária dos pacientes foi normal com exceção do paciente 5 que apresentou hipoperfusão no SPECT cerebral, mas a área visual na RM estava normal. Este paciente foi submetido a potencial evocado da área visual que mostrou eletroretinograma bilateral normal porém como não conseguiu fixar o olhar suficientemente para realizar o padrão alternante, o estudo foi inconclusivo.

Na Tabela 4 constam os coeficientes *kappa* obtidos das análises visuais para cada área analisada no SPECT cerebral e na RM dos 12 pacientes DMJ/AEC3. A análise demonstra que existe excelente concordância entre as alterações observadas no vérmis no SPECT cerebral e na RM (*kappa* = 0,74), e boa concordância no lobo parietal (*kappa* = 0,40). Nas demais áreas não há concordância.

Tabela 4: Grau de concordância entre as análises visuais no SPECT cerebral e na RM dos pacientes DMJ/AEC3

Área		Coefficiente Kappa *
Lobo frontal	Porção inferior	0,05
	Porção superior	0,25
Lobo temporal	Porção lateral	0,16
	Porção mesial	0,16
Lobo parietal		0,40 ♦
Hemisférios cerebelares		0,00
Vérnis		0,74 ♦
Ponte		0,01

♦ indicam boa concordância.

Em geral, as alterações perfusionais observadas no SPECT cerebral são mais acentuadas e exuberantes do que as alterações estruturais evidenciadas na RM. O Gráfico 3 demonstra a relação entre os valores médios obtidos para as áreas dos córtices cerebral e cerebelar avaliadas visualmente no SPECT cerebral e na RM.

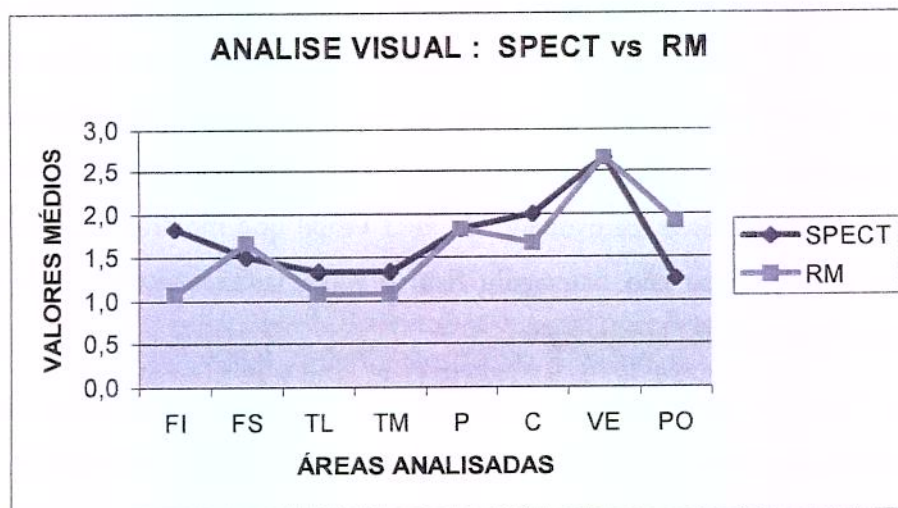


Gráfico 3: Valores médios obtidos a partir do grau de anormalidade (1 – 4) determinado pela análise visual para cada área analisada na RM e no SPECT cerebral dos pacientes. FI = porção inferior dos lobos frontais ; FS = porção superior dos lobos frontais; TL = porção lateral dos lobos temporais; TM = porção mesial dos lobos temporais; P = parietais ; C = hemisférios cerebelares ; VE = vérmis ; PO = ponte.

5.2.2. Associação entre o grau de ataxia e as análises visuais das alterações do vérmis e hemisférios cerebelares no SPECT cerebral e na RM

Os Gráficos 4 e 5 mostram o grau de ataxia e as alterações no SPECT cerebral e na RM em cada paciente, no vérmis e nos hemisférios cerebelares, respectivamente. A Tabela 5 mostra as análises visuais dos estudos de SPECT cerebral e RM em relação ao grau de ataxia. Para verificar associação entre os dados, foi aplicado o teste exato de Fisher. O nível de significância adotado foi de 5%.

Não houve associação entre o grau de ataxia e alterações perfusionais ou de volume dos hemisférios cerebelares ou do vérmis à análise visual nos pacientes DMJ/AEC3. Nota-se que, em geral, as alterações observadas no SPECT cerebral e na RM são mais acentuadas do que o grau de ataxia, com exceção dos pacientes 7, 8 e 11 na análise do vérmis. É possível que a partir de um determinado nível de ataxia, as diferenças perfusionais e de volume do vérmis à análise visual não sejam mais evidentes. Na análise dos hemisférios cerebelares, observa-se também que o grau de ataxia é mais evidente que as alterações do SPECT cerebral e RM em 5 pacientes (5, 7, 8, 9, 11) talvez pelo fato de a ataxia do tronco estar mais relacionada com as alterações do vérmis do que com as dos hemisférios cerebelares.

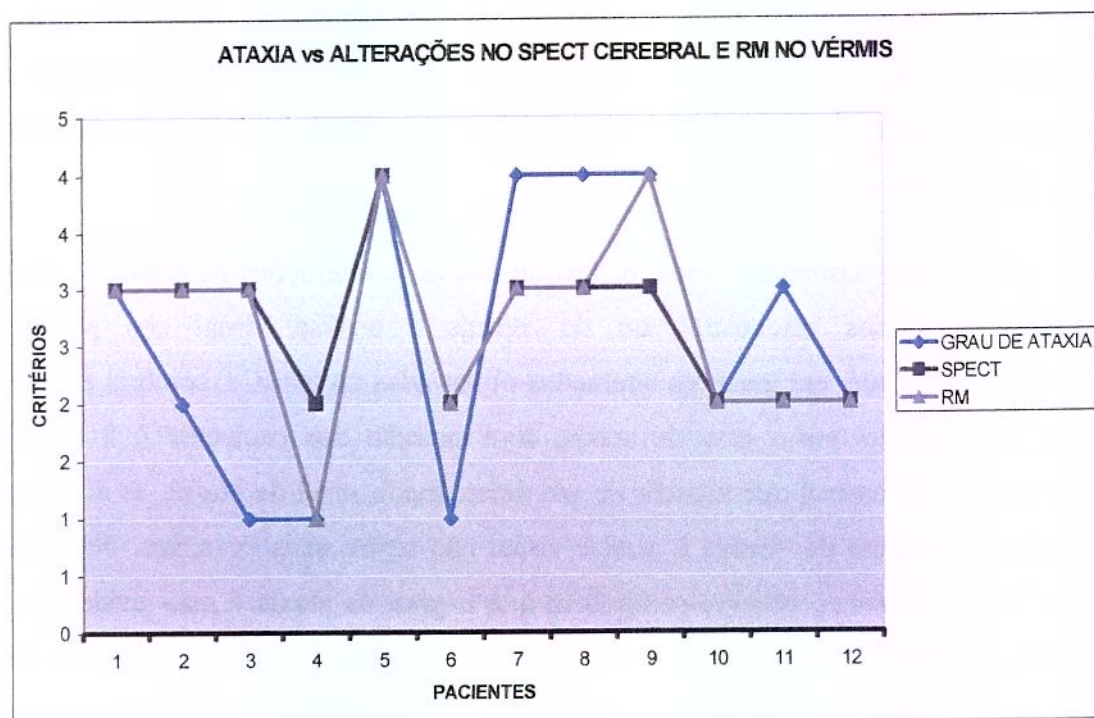


Gráfico 4: Associação entre o grau de ataxia e as análises visuais das alterações do vérmis no SPECT cerebral e na RM

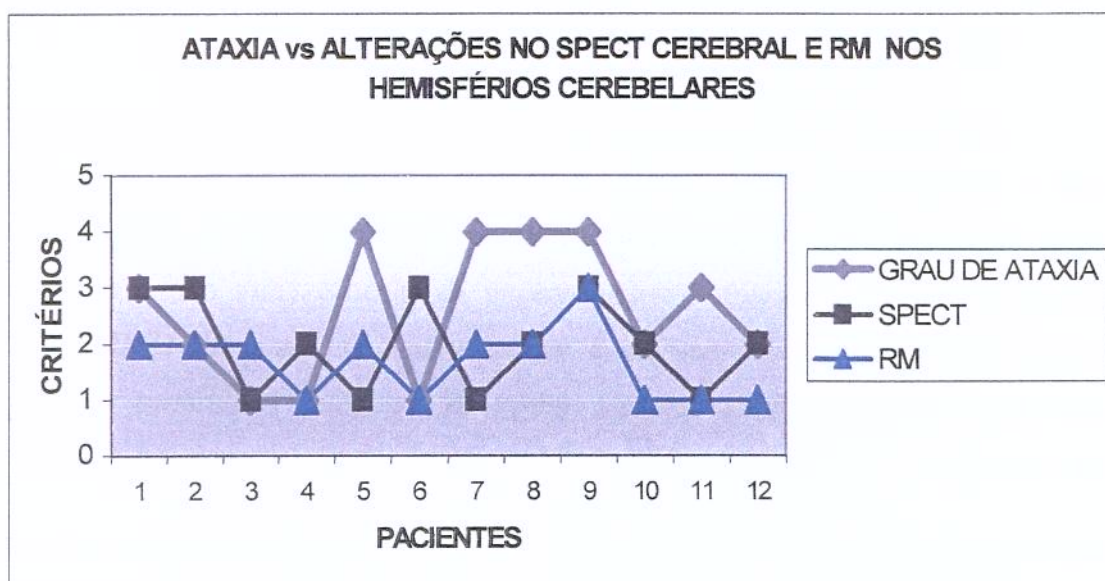


Gráfico 5: Associação entre o grau de ataxia e as análises visuais das alterações dos hemisférios cerebelares no SPECT cerebral e na RM

Tabela 5: Níveis descritivos dos testes exato de Fisher para verificar associação entre o grau de ataxia e as análises visuais das alterações do vérmis e hemisférios cerebelares no SPECT cerebral e na RM

Área	SPECT CEREBRAL	RM
Vérmis	0,54	0,68
Hemisférios cerebelares	0,93	0,54

5.2.3. Associação entre o tipo clínico e as análises visuais das alterações nos córtices cerebral e cerebelar no SPECT cerebral e na RM

Na Tabela 6 consta a associação entre as alterações visuais de áreas nos córtices cerebral e cerebelar no SPECT cerebral e na RM em relação ao tipo clínico dos 12 pacientes DMJ/AEC3. Para verificar associação entre os dados, foi aplicado o teste exato de Fisher. Não houve associação estatisticamente significativa entre o tipo clínico e as alterações perfusionais ou volumétricas à análise visual nos pacientes DMJ/AEC3 nas diversas áreas estudadas (lobos frontais, temporais, parietais, hemisférios cerebelares, vérmis e ponte).

Tabela 6: Níveis descritivos do teste exato de Fisher para verificar associação entre o tipo clínico e as análises visuais das alterações nos córtices cerebral e cerebelar no SPECT cerebral e na RM

Área		SPECT	RM
		CEREBRAL	
Lobo frontal	Porção inferior	0,15	0,17
	Porção superior	0,30	0,22
Lobo temporal	Porção lateral	0,43	0,17
	Porção mesial	0,43	0,17
Lobo parietal		1,00	0,64
Hemisférios cerebelares		0,78	0,47
Vérnis		0,47	0,13
Ponte		0,37	0,13

5.3. ANÁLISE SEMIQUANTITATIVA DO SPECT CEREBRAL

5.3.1. Análise semiquantitativa da perfusão do córtex cerebral dos pacientes e do grupo-controle

A análise semiquantitativa foi obtida utilizando-se os tálamos como referência. Analisaram-se as porções inferiores e superiores dos lobos frontais, as porções laterais e mesiais dos lobos temporais, lobos parietais, núcleos da base, hemisférios cerebelares, vermis, ponte, porção anterior dos giros do cíngulo e área visual dos pacientes e do grupo-controle. A Figura 7 mostra a colocação das áreas de interesse para realização da análise semiquantitativa. No Anexo 4 estão relacionados todos os indivíduos do grupo-controle do SPECT cerebral, incluindo sexo, idade e valores obtidos da análise semiquantitativa. No Anexo 5 estão relacionados todos os valores obtidos na análise semiquantitativa do SPECT cerebral dos pacientes.

Na Tabela 7 estão relacionados a média, o desvio-padrão e a mediana dos valores obtidos na análise semiquantitativa do SPECT cerebral dos pacientes e do grupo-controle, e a análise comparativa entre estes grupos. Para comparação das medidas entre os grupos foi aplicado o teste de Mann-Whitney. O nível de significância adotado foi de 5%. Observou-se uma diferença significativa da perfusão nas porções inferiores e superiores dos lobos frontais, na porção lateral dos lobos temporais, lobos parietais, hemisférios cerebelares, núcleos da base esquerdos e vermis quando comparados com o grupo-controle. Não houve diferença estatisticamente significativa de perfusão da porção mesial dos lobos temporais, núcleos da base direitos, porção anterior dos giros do cíngulo, ponte e área visual primária dos pacientes quando comparada à perfusão no grupo-controle.

Tabela 7: Análise semiquantitativa da perfusão dos córtices cerebral e cerebelar dos pacientes e do grupo-controle

		Grupo-controle			DMJ/AEC3				
Área	Lado	Média	Desvio-padrão	Mediana	Média	Desvio-padrão	Mediana	p •	
Lobo frontal	Porção superior	D	0,95	0,08	0,93	0,83	0,09	0,84	0,0004 ♦
	inferior	E	0,93	0,08	0,92	0,82	0,09	0,82	0,0012 ♦
	Porção superior	D	0,98	0,08	0,98	0,88	0,05	0,88	0,0002 ♦
		E	0,97	0,07	0,97	0,86	0,07	0,86	0,0002 ♦
Lobo temporal	Porção lateral	D	0,96	0,09	0,95	0,90	0,07	0,88	0,0260 ♦
		E	0,92	0,09	0,90	0,83	0,09	0,84	0,0051 ♦
	Porção mesial	D	0,84	0,07	0,85	0,85	0,06	0,82	0,9254
		E	0,84	0,07	0,83	0,82	0,07	0,81	0,3281
Lobo Parietal		D	0,92	0,09	0,92	0,74	0,10	0,73	0,0001 ♦
		E	0,91	0,08	0,90	0,75	0,08	0,75	0,0001 ♦
Hemisférios cerebelares		D	1,09	0,10	1,08	0,95	0,06	0,93	0,0001 ♦
		E	1,07	0,09	1,07	0,92	0,11	0,95	0,0001 ♦
Núcleos da Base		D	1,03	0,07	1,04	1,00	0,10	1,04	0,3986
		E	1,03	0,06	1,04	0,97	0,08	0,98	0,0363 ♦
Giros do Cíngulo			1,03	0,08	1,03	1,00	0,06	0,99	0,1257
Área Visual	----		1,01	0,09	1,00	0,98	0,12	1,00	0,7156
Vérmis	----		1,08	0,09	1,08	0,78	0,08	0,76	0,0001 ♦
Ponte			0,98	0,10	0,99	0,92	0,13	0,93	0,2351

D = direito ; E = esquerdo

• Para comparação das medidas entre os grupos foi aplicado o teste de Mann-Whitney.

♦ $p \leq 0,05$

5.3.2. Correlação entre a duração da doença e perfusão do vérmis e dos hemisférios cerebelares

Não se observou correlação significativa entre as alterações da perfusão do vérmis dos pacientes e a duração da doença (coeficiente de Spearman = 0,10; $p = 0,77$). Apesar de a correlação entre as alterações da perfusão dos hemisférios cerebelares dos pacientes e a duração da doença também não ter sido significativa (coeficiente de Spearman = - 0,37; $p = 0,24$), o valor do coeficiente demonstra uma tendência de relação inversa entre estas variáveis conforme verificado no Gráfico 6.

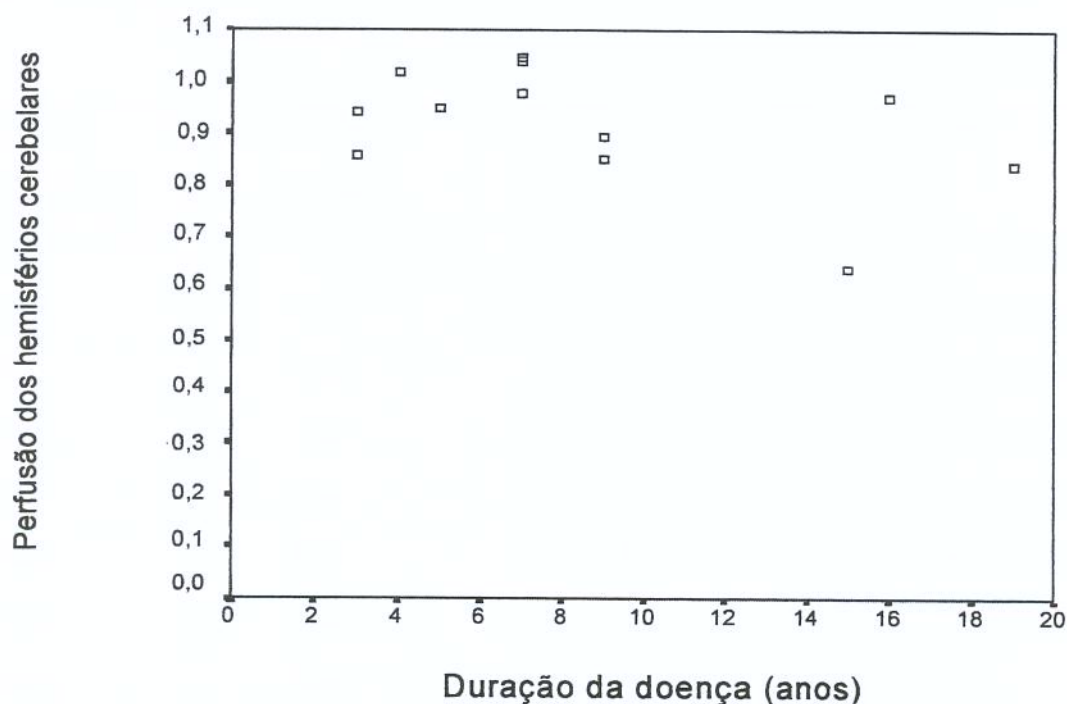


Gráfico 6: Dispersão da perfusão dos hemisférios cerebelares em função da duração da doença. Coeficiente de correlação linear de Spearman = - 0,37 ($n = 12$).

5.3.3. Comparação entre a perfusão cerebral e os sinais e sintomas

Houve uma relação direta entre a presença de síndrome cerebelar e a perfusão do vérmis e dos hemisférios cerebelares. As síndromes piramidal e extrapiramidal foram correlacionadas com a perfusão dos lobos frontais, temporais, parietais e núcleos da base. A Tabela 8 mostra os diversos níveis de significância dos testes de Mann-Whitney para correlação entre a perfusão das áreas analisadas e a presença de síndrome piramidal ou extrapiramidal. Observou-se nível de significância entre a perfusão do lobo parietal esquerdo e a presença de síndrome extrapiramidal ($p = 0,05$). As demais áreas não apresentaram nível de significância.

Tabela 8: Níveis de significância do teste de Mann-Whitney para correlação entre a perfusão cerebral e as síndromes piramidal e extrapiramidal.

Área	Lado	Síndrome	Síndrome
		Piramidal	Extrapiramidal
Lobo frontal	D	0,07	0,52
(porção inferior)	E	0,40	0,47
Lobo frontal	D	0,17	1,00
(porção superior)	E	0,31	0,87
Lobo temporal	D	0,15	0,81
(porção lateral)	E	0,55	0,38
Lobo parietal	D	0,35	0,23
	E	0,23	0,05♦
Núcleos da Base	D	0,93	0,47
	E	0,17	1,00

D= direito; E = esquerdo. ♦ $p \leq 0,05$

5.3.4. Correlação entre tamanho da repetição CAG e a perfusão cerebral

A Tabela 9 mostra os diversos coeficientes de correlação de Spearman e o p-valor entre o tamanho da repetição CAG e as medidas de perfusão no SPECT cerebral. Não houve correlação estatisticamente significativa entre o grau de perfusão e o tamanho da repetição CAG.

Tabela 9: Correlação entre tamanho da repetição CAG e a perfusão cerebral.

	Lado Direito		Lado Esquerdo	
	Coeficiente •	p	Coeficiente •	p
Lobo frontal (porção inferior)	0,04	0,89	0,27	0,40
Lobo frontal (porção superior)	0,41	0,19	0,21	0,51
Lobo temporal (porção lateral)	0,31	0,33	0,54	0,07
Lobo temporal (porção mesial)	0,14	0,68	0,28	0,37
Lobo parietal	0,18	0,57	0,11	0,74
Hemisférios cerebelares	0,07	0,83	0,22	0,48
Núcleos da Base	0,18	0,59	0,26	0,42
Giros do Cíngulo	0,45	0,15		
Área Visual	-0,17	0,59		
Vérmis	0,16	0,62		
Ponte	0,25	0,43		

• Para identificar o grau de relação entre duas medidas foi utilizado o coeficiente de correlação linear de Spearman.

5.4. ANÁLISE VOLUMÉTRICA NA RM

Foram obtidos os volumes dos hemisférios cerebelares e do vérmis dos pacientes e do grupo-controle. A Figura 8 mostra a colocação das áreas de interesse para realização da análise volumétrica. No Anexo 6, estão relacionados todos os indivíduos do grupo-controle da RM, incluindo sexo, idade e valores obtidos nas análises dos volumes do vérmis e dos hemisférios cerebelares. O Anexo 7 mostra os valores obtidos dos volumes do vérmis e dos hemisférios cerebelares na RM dos pacientes. Os pacientes apresentaram redução volumétrica acentuada dos hemisférios cerebelares e vérmis à RM. O Gráfico 7 compara os volumes do vérmis dos pacientes e do grupo-controle na RM. O Gráfico 8 compara os volumes dos hemisférios cerebelares dos pacientes e do grupo-controle na RM. Houve uma diferença significativa entre o volume do vérmis dos pacientes em relação ao grupo-controle ($p = 0,0037$ – teste de Mann-Whitney), bem como dos hemisférios cerebelares ($p = 0,0015$ – teste de Mann-Whitney).

Os Gráficos 7 e 8 representam a distribuição dos valores de cada grupo. O retângulo representa a distribuição de 50% dos pontos e a linha horizontal dentro do retângulo indica a mediana. Cada linha vertical acima e abaixo do retângulo, indica a distribuição de 25% dos pontos da amostra. O asterisco indica um “outlier”.

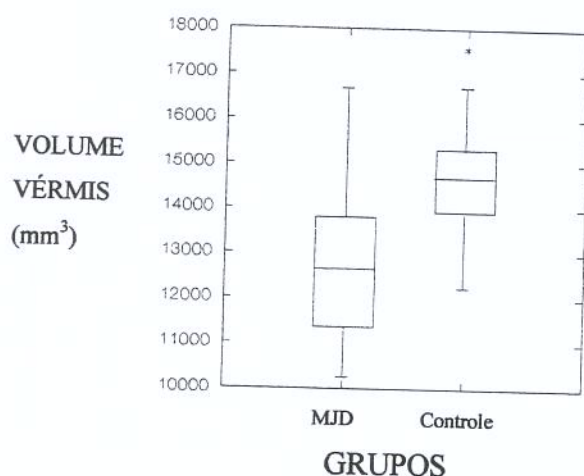


Gráfico 7: Volume do vérmis na RM dos pacientes e do grupo-controle.

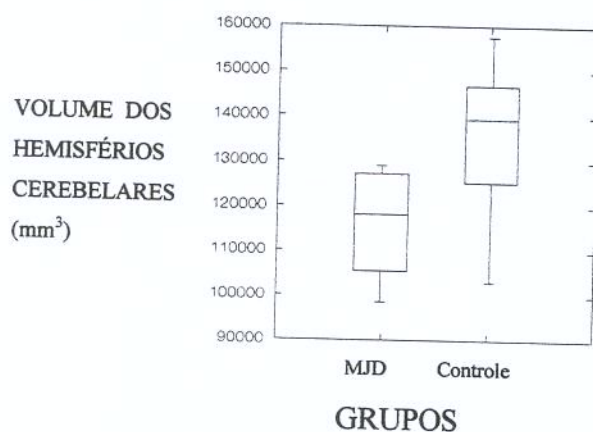


Gráfico 8: Volume dos hemisférios cerebelares na RM dos pacientes e do grupo-controle.

5.4.1. Correlação entre a duração da doença e os volumes do vérmis e dos hemisférios cerebelares

Não se observou correlação entre as alterações do volume dos hemisférios cerebelares dos pacientes e a duração da doença (coeficiente de Spearman = - 0,25; $p = 0,42$). Apesar de a correlação entre as alterações do volume do vérmis dos pacientes e a duração da doença também não ter sido significativa (coeficiente de Spearman = - 0,30; $p = 0,34$) o valor do coeficiente demonstra uma tendência de relação inversa entre estas variáveis conforme verificado no Gráfico 9.

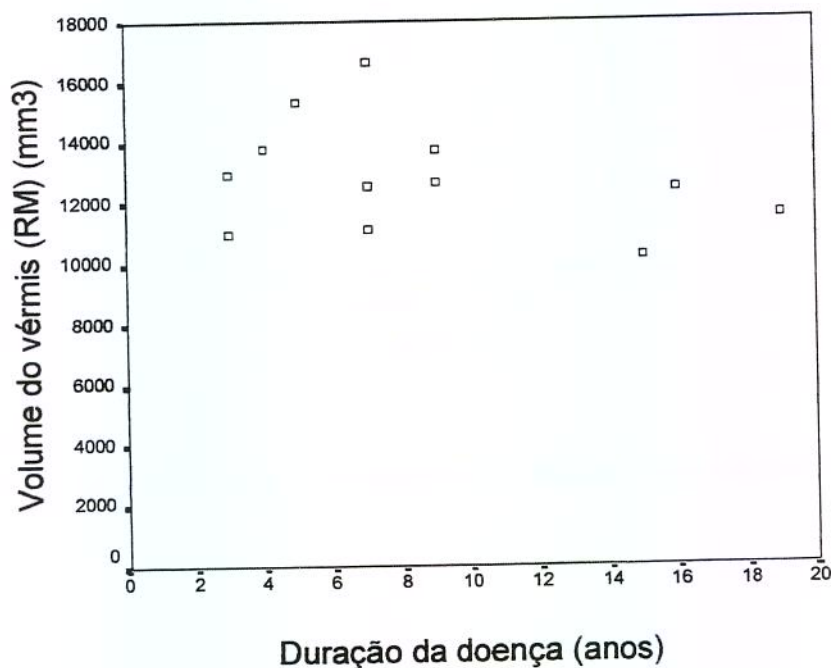


Gráfico 9: Dispersão do volume do vérmis em função da duração da doença. Coeficiente de correlação linear de Spearman= - 0,304 ($n=12$).

5.4.2. Correlação entre o tamanho da repetição CAG e os volumes do vérmis e dos hemisférios cerebelares

Não se observou correlação significativa entre as alterações do volume do vérmis dos pacientes e o tamanho da repetição CAG (coeficiente de Spearman = - 0,07; p = 0,82) e entre as alterações do volume dos hemisférios cerebelares e o tamanho da repetição CAG (coeficiente de Spearman = -0,28; p = 0,38).

Entretanto, o valor deste último coeficiente demonstra uma tendência de relação inversa entre estas variáveis.

5.5. SPECT CEREBRAL SEMI-QUANTITATIVO E RM VOLUMÉTRICA DO VÉRMIS E DOS HEMISFÉRIOS CEREBELARES DOS PACIENTES DMJ/AEC3

Para analisar as alterações do vérmis e hemisférios cerebelares no SPECT e na RM e verificar o grau de correlação existente entre estas duas medidas, foi aplicado o coeficiente de correlação linear de Spearman. Não se observou correlação entre a perfusão do vérmis e o volume do vérmis (coeficiente de Spearman = - 0,08; p = 0,81) assim como não se observou correlação entre a perfusão dos hemisférios cerebelares e o volume dos hemisférios cerebelares (coeficiente de Spearman = 0,35; p = 0,26). Apesar de a correlação entre a perfusão dos hemisférios cerebelares e o volume dos hemisférios cerebelares não ter sido significativa, o valor do coeficiente demonstra uma tendência de relação direta entre estas variáveis. Os Gráficos 10 e 11 mostram a porcentagem de perda de volume na RM e de hipoperfusão no SPECT cerebral dos pacientes, do vérmis e hemisférios cerebelares, respectivamente.

A porcentagem de perda foi calculada pela seguinte equação :

$$\% \text{ perda} = \frac{\text{paciente} - \text{controle} \blacklozenge}{\text{controle} \blacklozenge} \times 100\%$$

◆ média do grupo-controle

Nota-se que apesar de os dados não apresentarem correlação, há uma tendência de se identificar mais alterações perfusionais do que volumétricas, pois a porcentagem de perda observada no SPECT cerebral é maior do que a observada na RM. A Figura 9 mostra paciente com perda da perfusão do vérmis maior que a perda volumétrica.

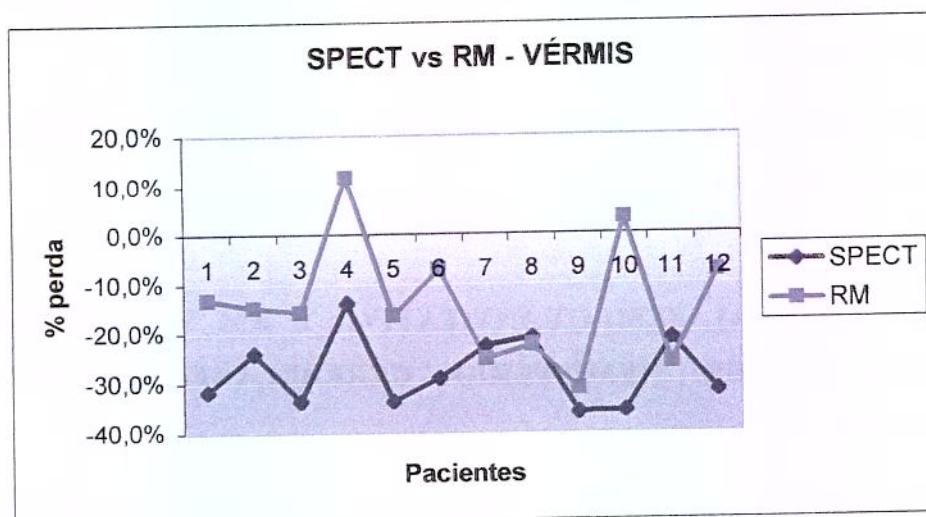


Gráfico 10: Porcentagens de perda de volume do vérmis na RM e de hipoperfusão do vérmis no SPECT cerebral dos pacientes.

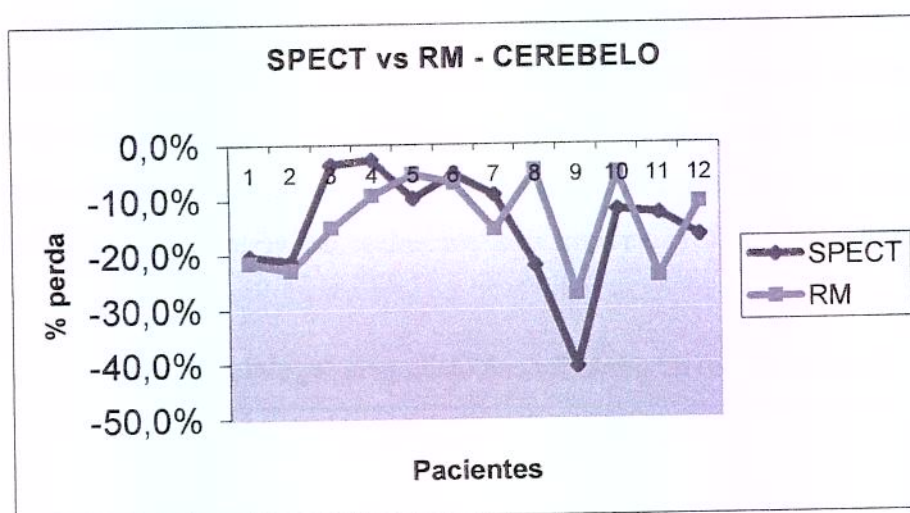
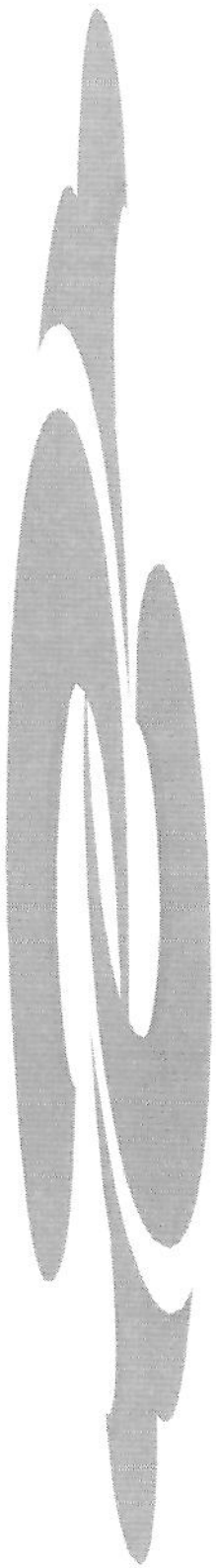


Gráfico 11: Porcentagens de perda de volume dos hemisférios cerebelares na RM e de hipoperfusão dos hemisférios cerebelares no SPECT cerebral dos pacientes.



6. *FIGURAS*



Figura 1:. Dois irmãos com o aspecto característico da DMJ. Paciente 4 (à direita) e 5 (à esquerda). O paciente 5 apresenta doença avançada; não consegue erguer a cabeça e se equilibrar na cadeira de rodas e apresenta atrofia e hipertonía muscular. Notar também a retração palpebral, o olhar fixo e uma aparente exoftalmia. A paciente 4 apresenta os sintomas iniciais da doença. Ela já exibe a ataxia da marcha, dificuldades de articulação verbal e quedas frequentes.

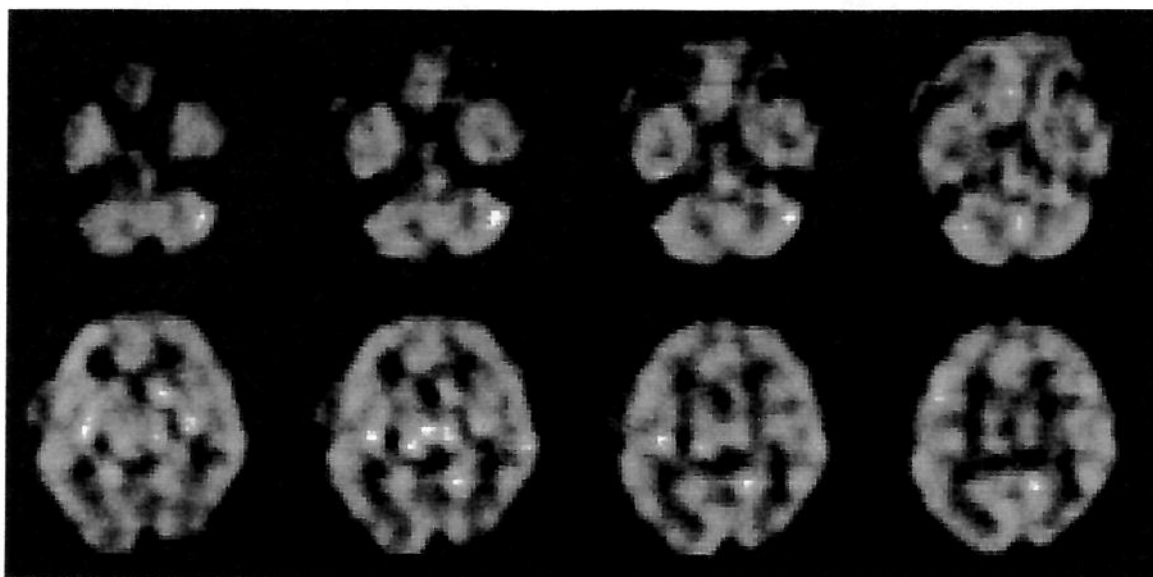


Figura 2: Cortes transversais de SPECT cerebral, mostrando perfusão normal dos córtices cerebral e cerebelar.

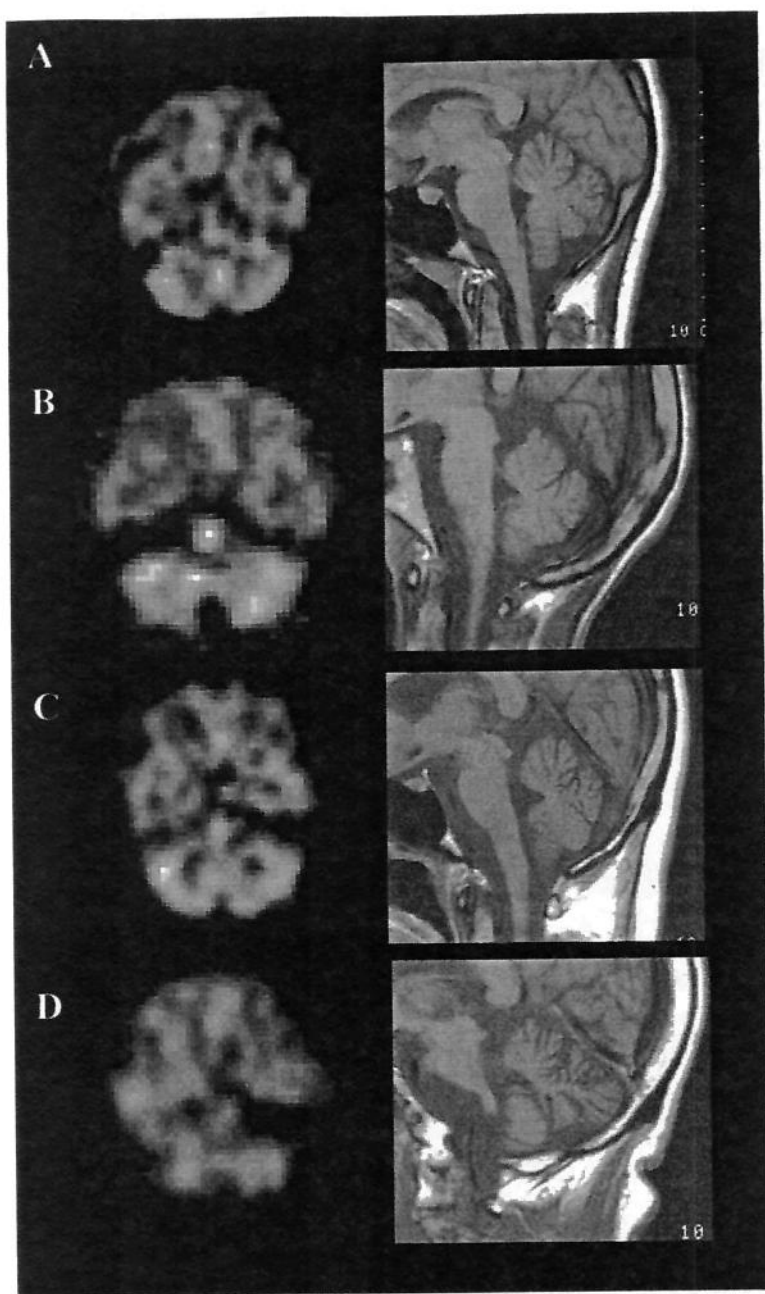


Figura 3: Exemplos de diferentes graus de alterações perfusionais no SPECT cerebral e de volume na RM do vérmis (setas). A) Grau 1. B) Grau 2. C) Grau 3. D) Grau 4.



Figura 4: Hipoperfusão e atrofia do vérmis cerebelar (setas) e dos lobos parietais (pontas de seta).

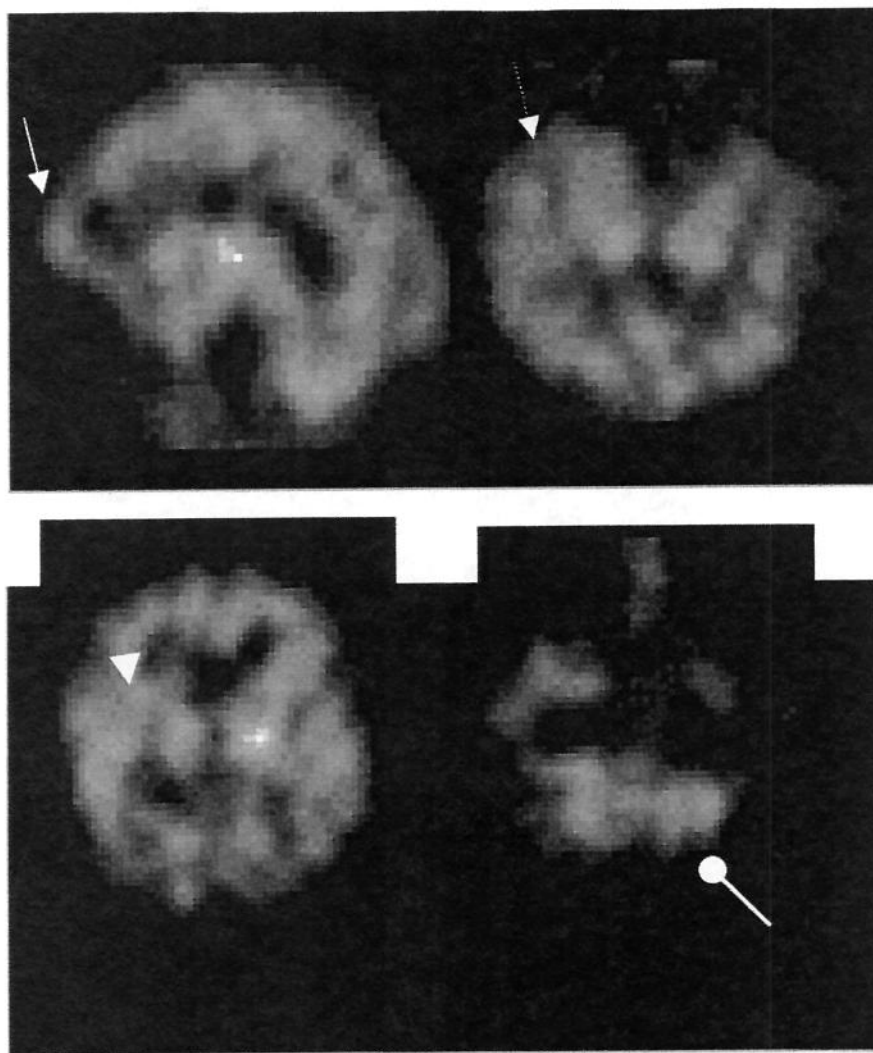


Figura 5: SPECT cerebral mostrando hipoperfusão das porções inferiores dos lobos frontais (seta), porções mesiais e laterais (seta tracejada) dos lobos temporais, núcleos da base (ponta de seta) e hemisférios cerebelares (seta em elipse).

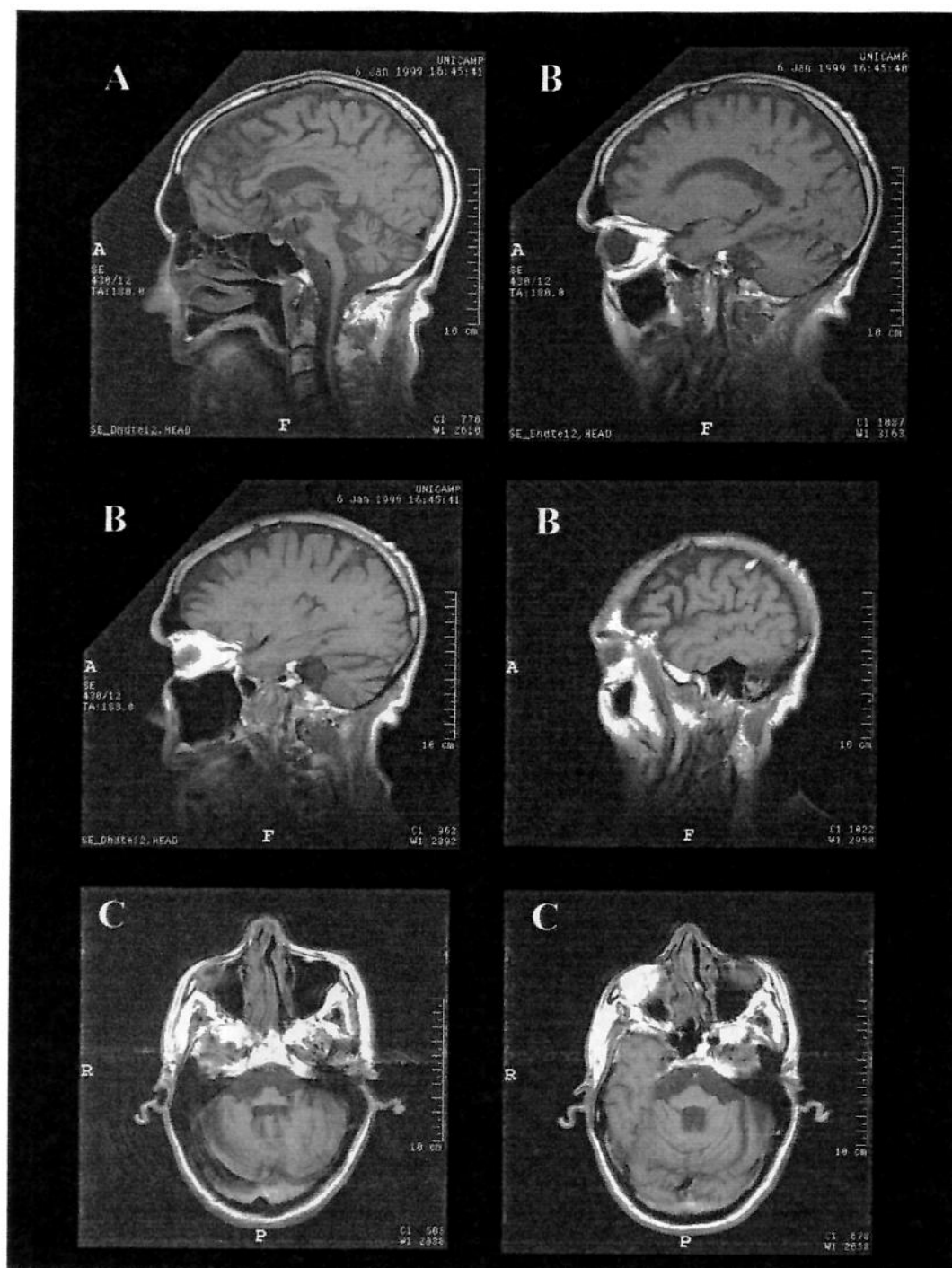


Figura 6: Exemplos de atrofia da ponte (A) , porções superiores dos lobos frontais (B) e olivas (C) na RM.

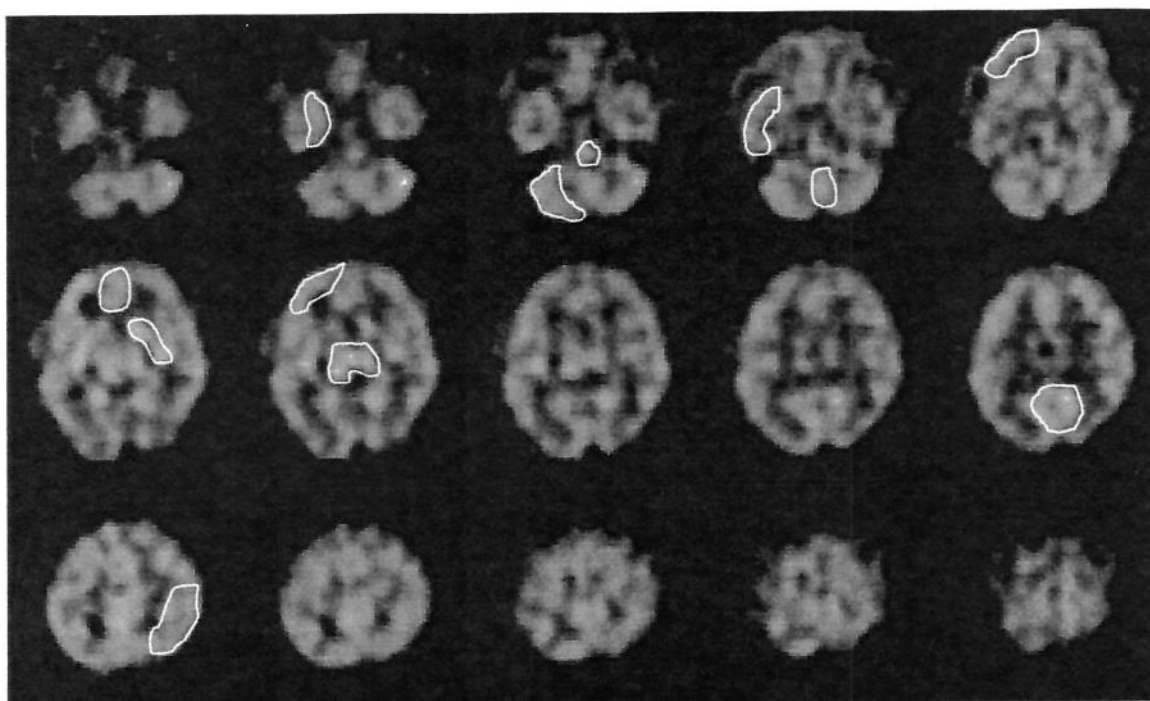


Figura 7: Exemplo da colocação das áreas de interesse para realização da análise semi-quantitativa do SPECT cerebral. As áreas colocadas são, da esquerda para a direita e de cima para baixo: porção mesial do lobo temporal direito; ponte e hemisfério cerebelar direito; porção lateral do lobo temporal direito e vérmis; porção inferior do lobo frontal direito; porção anterior dos giros do cíngulo e núcleos da base esquerdos; porção superior do lobo frontal direito e tálamos (referência); área visual primária; lobo parietal esquerdo.



Figura 8: Exemplo da colocação das áreas de interesse no vérmis e hemisférios cerebelares para realização da análise volumétrica na RM.

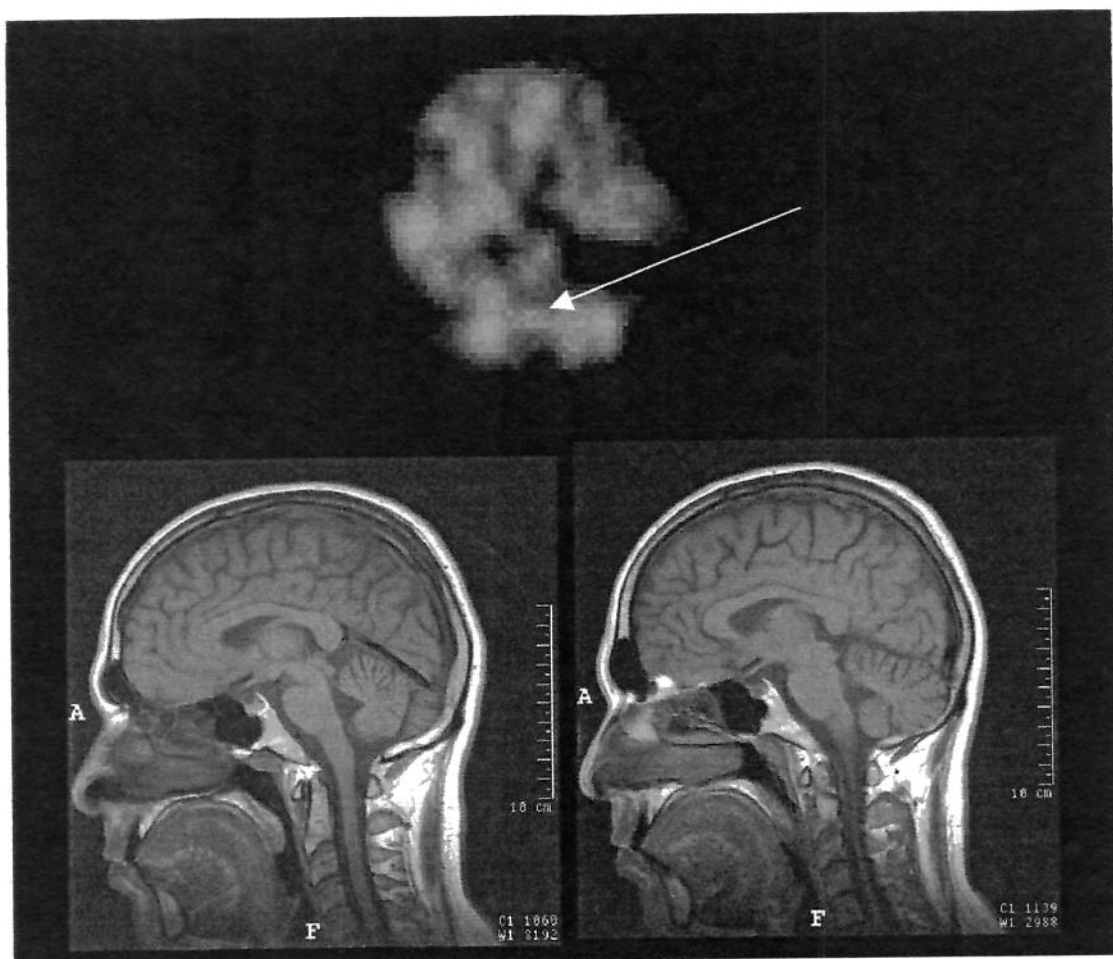
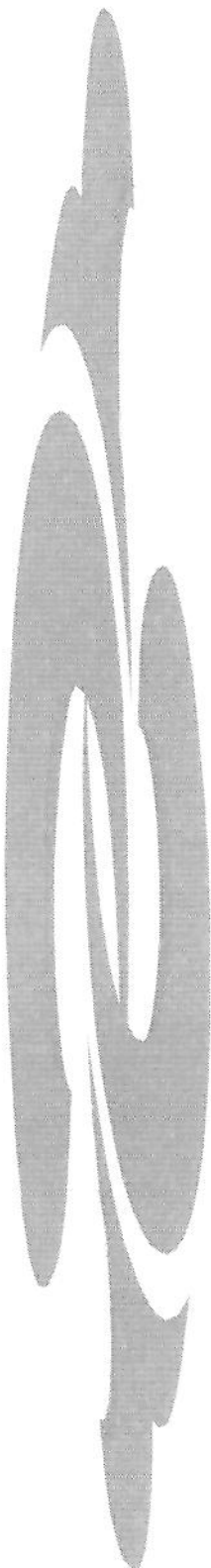


Figura 9: Paciente 10, apresentando, no vérmis, perda da perfusão maior que a perda volumétrica.



7. DISCUSSÃO

A doença de Machado-Joseph é a AEC mais frequentemente encontrada no nosso meio (LOPES-CENDES *et al.*, 1997b). Como existe uma grande heterogeneidade fenotípica e genotípica das AECs, o diagnóstico da DMJ baseado somente em dados clínicos está sujeito a falhas. Por isto todos os pacientes estudados foram submetidos à análise genética através de amostragem de linfócitos do sangue periférico, que é específica (LOPES-CENDES *et al.*, 1997a) para o diagnóstico da doença. Como a expansão do alelo ocorre de forma homogênea, a amostragem do sangue periférico reflete o mosaicismo somático existente no córtex cerebral (LOPES-CENDES *et al.*, 1996a; HASHIDA *et al.*, 1997).

Não existem estudos com o uso do SPECT cerebral com HMPAO-^{99m}Tc para avaliação de pacientes com o diagnóstico molecular da DMJ/AEC3. O estudo de Botez *et al.*, (1991) foi realizado na época em que o diagnóstico da DMJ era fundamentado apenas nos sinais e sintomas e não na análise genética. Na verdade, estudos moleculares realizados após a publicação de Botez *et al.*, (1991) excluíram a presença de mutação DMJ/AEC3 naqueles pacientes (LOPES-CENDES, 2001^{**}). Há estudos de SPECT cerebral com outros traçadores (TAKAHASHI *et al.*, 1994; ISHIBASHI *et al.*, 1998; YEN *et al.*, 2000) e RM (LOPES-CENDES *et al.*, 1996b; MURATA *et al.*, 1998) em pacientes com DMJ/AEC3, sendo importante a descrição dos aspectos de neuroimagem na população afetada no Brasil. O presente trabalho é o primeiro a estudar pacientes com DMJ/AEC3 com SPECT cerebral utilizando HMPAO-^{99m}Tc.

Tentou-se, no presente estudo, identificar possíveis correlações dos achados de neuroimagem com as manifestações clínicas, a duração da doença, tipo clínico e o tamanho da repetição CAG. A integração dos aspectos funcionais do SPECT cerebral e morfológicos da RM com a genética molecular é importante para o avanço no entendimento dos mecanismos básicos da doença, e assim melhorar o diagnóstico e a terapêutica.

^{**} LOPES-CENDES, Comunicação pessoal. 2001.

7.1. ACHADOS CLÍNICOS

A idade de início das manifestações clínicas dos pacientes com DMJ pode ou não ser homogênea dentro da mesma família, os familiares manifestando a doença precocemente ou tardiamente (COUTINHO, 1994). A casuística deste estudo foi constituída por 12 pacientes com diagnóstico genético confirmado do genótipo *MJD*. Na maioria dos indivíduos, a idade de início da doença foi homogênea ou semelhante dentro da mesma família (pacientes 4 e 5; 2, 3 e 12; 1, 6 e 11). Em uma família a idade de início foi muito diferente (pacientes 9 e 10 são pai e filho e apresentaram os sintomas aos 52 e 30 anos, respectivamente). A doença tende a se manifestar ao redor dos 35 a 43 anos nos portugueses e americanos. Este achado difere da casuística estudada em que a média de idade de início dos sintomas ocorreu aos 31 anos. Nos pacientes brasileiros, o fenômeno da antecipação pode ter ocorrido, como a exemplo dos pacientes 9 e 10 e como observaram os japoneses em que a idade média de início da doença era de 30,1 anos (TAKIYAMA *et al.*, 1994).

A manifestação clínica mais proeminente é a ataxia cerebelar e portanto a avaliação das alterações dos hemisférios cerebelares e do vérmis cerebelar é de grande valia. A ataxia cerebelar foi encontrada em 100% dos pacientes desta casuística, semelhante aos dados de literatura (COUTINHO, 1994). Os pacientes com a forma avançada da doença (pacientes 5, 7, 8 e 9) apresentavam acentuado grau de ataxia (ataxia grau 4). Estes pacientes apresentaram acentuada hipoperfusão e atrofia do vérmis, enquanto que os hemisférios cerebelares não foram muito afetados, indicando que a ataxia era fundamentalmente de tronco e não apendicular.

Os pacientes apresentaram alguns ou a maioria dos demais sintomas freqüentemente encontrados nesta doença como nistagmo, oftalmoparesias, síndrome piramidal, alterações de sensibilidade profunda, fasciculações peitorais, tremores, câimbras principalmente da região da mandíbula em casos mais avançados, disfagia, distonia orofacial (síndrome extrapiramidal) e disartria. O tipo I foi observado em 3 pacientes (pacientes 4, 5 e 7), o tipo II em 7 pacientes (pacientes 1 – 3, 6, 10 – 12) e o tipo III em 2 pacientes (pacientes 8 e 9). Nenhum paciente apresentou manifestações clínicas do tipo IV.

7.2. SPECT CEREBRAL E RM

Os estudos com PET (SOONG *et al.*, 1997) têm contribuído para identificar lesões corticais que ocorrem na DMJ e que não eram identificados pelos outros métodos de imagem. As desvantagens dos estudos que utilizam PET são o custo elevado e a pouca disponibilidade. O SPECT cerebral com HMPAO-^{99m}Tc é um método de menor custo que o PET e sensível para avaliar a perfusão cerebral e a função neuronal, sendo também indicado para fornecer informações sobre locais de envolvimento da doença. No presente trabalho, utilizou-se o SPECT cerebral com HMPAO-^{99m}Tc que, apesar de apresentar resolução menor que os equipamentos PET, é disponível no nosso meio.

No presente trabalho, os tálamos foram utilizados como referência para quantificação no SPECT cerebral pois em diversos estudos neuropatológicos (TAKIYAMA *et al.*, 1994 ; ROBITAILLE *et al.*, 1997), anatômicos (LOPES-CENDES *et al.*, 1996b; MURATA *et al.*, 1998), e funcionais (BOTEZ *et al.*, 1991; TAKAHASHI *et al.*, 1994; TANIWAKI *et al.*, 1997 ; SHINOTOH *et al.*, 1997 ; SOONG *et al.*, 1997; SOONG *et al.*, 1998; YEN *et al.*, 2000) estas estruturas não têm demonstrado anormalidades. Apesar de ISHIBASHI *et al.*, (1998), notarem redução da captação de iomazenil-¹²³I nos tálamos dos pacientes com DMJ/AEC3, este é um achado inédito na literatura. Desde a primeira descrição anatomopatológica da doença até a avaliação do fluxo sanguíneo cerebral, atividade glicolítica e de receptores dopaminérgicos, nunca foram identificadas alterações talâmicas. Mais estudos devem ser realizados com uma casuística maior para corroborar os achados de ISHIBASHI *et al.* (1998), uma vez que apenas quatro pacientes foram estudados. Talvez estes achados possam ser fruto do uso de um traçador que reflete a integridade de receptores benzodiazepínicos, que não havia sido estudado nestes pacientes até então. Os mesmos autores, realizando imagens precoces de iomazenil-¹²³I destes quatro pacientes, avaliaram o fluxo sanguíneo cerebral e notaram perfusão normal nos tálamos.

Comparando-se as análises visual e semiquantitativa do SPECT cerebral nas diversas regiões dos hemisférios cerebrais e cerebelares dos pacientes com DMJ/AEC3, pode-se observar que existe concordância entre ambas as análises na maioria das regiões. A exceção é nas porções mesiais dos lobos temporais, núcleos da base à direita e na ponte, que a análise visual mostrou estarem alterados mas na análise semiquantitativa não houve

diferença em relação ao grupo controle. As hipoperfusões mais acentuadas foram identificadas nas porções inferiores e superiores dos lobos frontais, nas porções laterais dos lobos temporais, lobos parietais, núcleos da base à esquerda, hemisférios cerebelares e vermis sendo que à análise semiquantitativa houve diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. Comparando-se as alterações perfusionais da análise visual do SPECT cerebral com as da RM, pode-se observar que existe concordância entre ambas no vermis cerebelar e no lobo parietal, não havendo concordância entre os achados de SPECT cerebral e RM nas demais regiões. No entanto, a observação do Gráfico 3 evidencia que as alterações do SPECT e na RM seguem uma mesma tendência. O SPECT cerebral identificou maior número de alterações nas porções inferiores dos lobos frontais, nas porções laterais e mesiais dos lobos temporais e hemisférios cerebelares, mais acentuadas e exuberantes do que as evidenciadas na RM. A exceção é nas porções superiores dos lobos frontais e na ponte em que a atrofia destas estruturas foi mais exuberante que o grau de hipoperfusão. O SPECT cerebral subestimou as alterações da ponte possivelmente por ser uma estrutura pequena, de difícil análise devido à resolução do método, o que não ocorre com a RM. Em relação às porções superiores dos lobos frontais, talvez estas alterações perfusionais sejam mascaradas pela acentuada perfusão dos giros do cíngulo, produzindo um efeito de volume parcial. MURATA *et al.*, em 1998, identificaram atrofia principalmente dos lobos frontais, temporais, ponte e cerebelo de pacientes com DMJ/AEC3.

7.2.1. Lobos Frontais

A redução da captação do HMPAO-^{99m}Tc e a atrofia dos lobos frontais poderia estar relacionada com a deafferentação de pelo menos duas vias anatômicas. A primeira é a via dento-rubro-tálamo-córtico-ponto-cerebelar, que tem origem no núcleo denteado, cruza a linha média enviando terminações para o núcleo rubro e para a substância negra, que por sua vez envia projeções ao estriado e daí ao córtex frontal. A segunda via também tem origem no hemisfério cerebelar, porém envia terminações para os núcleos globoso e emboliforme, que por sua vez enviam projeções ao tálamo e daí ao córtex frontal.

Uma terceira possibilidade seria a via dopaminérgica (nigro-estriatal ou meso-córtico-límbica, sendo esta última mais provável) que poderia produzir lesões frontais ou parietais e eventualmente temporais.

7.2.2. Lobos Parietais

A hipoperfusão e a atrofia dos lobos parietais poderia ter duas explicações: pela deaferentação de sinapses oriundas dos lobos frontais, que encontram-se hipofuncionantes pelo mecanismo descrito acima; ou por deaferentação da via de associação do córtex parietal com o cerebelo através dos núcleos inespecíficos da base da ponte. A avaliação neurológica detalhada dos pacientes do presente trabalho provavelmente identificaria alterações cognitivas. RADVANY *et al.*, (1993), observaram alterações cognitivas em um grupo de pacientes com DMJ, levantando a suspeita de que poderia haver alterações de funções corticais superiores e que a descrição de ausência de alterações mentais nestes pacientes, que sempre foi relatada em diversos trabalhos, deveria ser revista.

7.2.3. Lobos Temporais

A hipoperfusão e a atrofia dos lobos temporais também poderia ser causada por dois mecanismos : pela deaferentação das vias de comunicação com os lobos frontais e parietais; ou por deaferentação da via dopaminérgica ou mesocórtico-límbica secundária a lesão do tegmento ventral do mesencéfalo, levando à hipofunção da porção mesial do lobo temporal. Como a porção mesial do lobo temporal, principalmente a região das amígdalas, tem conexões com a porção lateral do lobo temporal contra-lateral, a perda de função da porção mesial poderia provocar hipoperfusão na porção lateral. Entretanto, a hipoperfusão identificada nas porções mesiais dos lobos temporais foi discreta à análise visual e na análise semiquantitativa não houve diferença estatisticamente significativa destas estruturas em relação ao grupo controle.

Os trabalhos de BOTEZ *et al.*, (1991), e TANIWAKI *et al.*, (1997), descrevem hipoperfusão com HMPAO-^{99m}Tc e hipometabolismo com FDG, respectivamente, nos lobos frontais, temporais e parietais. ISHIBASHI *et al.*, (1998), utilizando IMP notaram hipoperfusão do lobo temporal esquerdo. Estes achados do SPECT cerebral podem ter um valor inestimável no entendimento das vias de conexão córtico-cerebelares relacionadas com o comportamento e a motricidade.

Existe ainda a possibilidade de neurodegeneração primária, explicando a atrofia e/ou hipoperfusão dos lobos frontais, parietais e temporais.

7.2.4. Hemisférios Cerebelares

A hipoperfusão dos hemisférios cerebelares, por sua vez, pode estar relacionada não apenas com a deafferentação da via dento-rubro-tálamo-córtico-ponto-cerebelar, já descrita acima, mas também pode ser decorrente da atrofia dos pedúnculos cerebelar superior e médio e dos tratos espino-cerebelar anterior e posterior, estruturas sabidamente afetadas em pacientes com DMJ/AEC3. Em todos os trabalhos relacionados com a DMJ, a lesão dos hemisférios cerebelares é sempre encontrada. Nos trabalhos de TANIWAKI *et al.* (1997) e SOONG *et al.* (1997) houve relato de hipometabolismo no cerebelo dos pacientes com DMJ/AEC3 utilizando-se FDG. A redução do FSCr no cerebelo de pacientes com DMJ foi observada por TAKAHASHI *et al.*, (1994), e em pacientes com AEC por BOTEZ *et al.*, (1991). Lopes-Cendes *et al.* (1996b) notaram redução volumétrica significativa dos hemisférios cerebelares e vérmis à RM de pacientes com DMJ/AEC3 apresentando estreita correlação com os achados neuro-patológicos. MURATA *et al.*, (1998), também demonstraram atrofia cerebelar na RM de pacientes com DMJ/AEC3 medindo-se o diâmetro destas estruturas, diferentemente do presente trabalho em que foi realizada a medida volumétrica.

A porcentagem de perda de volume dos hemisférios cerebelares na RM e de hipoperfusão no SPECT cerebral dos pacientes do presente estudo apresentaram uma tendência a serem concordantes, apesar de não haver correlação estatisticamente

significativa. Isto pode ser devido ao tamanho da amostra. É compreensível que não se tenha identificado correlação entre a perfusão dos hemisférios cerebelares com o volume dos hemisférios cerebelares, pois o SPECT cerebral é mais sensível para detectar pequenas alterações funcionais, que só aparecem posteriormente na RM. TANIWAKI *et al.*, (1997), observaram hipometabolismo com FDG no córtex cerebral e cerebelar de pacientes com DMJ/AEC3 e pouca ou nenhuma atrofia nas mesmas regiões à RM. TAKAHASHI *et al.*, (1994), notaram redução do FSCr no cerebelo de 2 pacientes com DMJ sem haver atrofia concomitante, corroborando os achados do presente estudo em que os pacientes 5, 8, 9, 10 e 12 apresentaram um grau de hipoperfusão maior que o grau de atrofia. Portanto, as alterações volumétricas podem ser visíveis somente tardiamente. Em contrapartida, os mesmos autores notaram FSCr normal do cerebelo em 1 paciente que apresentava atrofia grave. No presente trabalho isto também foi identificado nos hemisférios cerebelares dos pacientes 3, 4, 7 e 11, nos quais o grau de atrofia foi maior que o de hipoperfusão.

7.2.5. Vérnis

A hipoperfusão no vérnis cerebelar identificada no SPECT cerebral apresentou excelente correlação com a atrofia do vérnis na RM à análise visual. Estes achados se correlacionaram com as alterações neuropatológicas nos pacientes com DMJ/AEC3. Estas alterações refletem a perda neuronal nesta região e as alterações degenerativas dos tratos espino-cerebelar anterior e posterior e da coluna de Clark. Não houve, entretanto, correlação estatisticamente significativa entre as análises semiquantitativa do SPECT cerebral e volumétrica da RM no vérnis cerebelar. Porém, houve uma tendência de correlação entre estas duas variáveis. Um exemplo destes achados é claramente visível nos pacientes 7, 8, 9 e 11, que apresentam ataxia acentuada e a porcentagem de perda volumétrica do vérnis se aproxima da porcentagem de perda de perfusão. Há poucos relatos na literatura (LOPES-CENDES *et al.*, 1996b ; SOONG *et al.*, 1997) observando alterações perfusionais e de volume no vérnis dos pacientes com DMJ/AEC3, talvez por considerar o vérnis como integrado aos hemisférios cerebelares. Entretanto, a análise isolada do vérnis é importante, uma vez que alterações desta estrutura se relacionam à ataxia de tronco que é altamente incapacitantes nestes pacientes. GILMAN *et al.*, (1995),

utilizando $H_2^{15}O$ para avaliar o fluxo sanguíneo cerebral, mostraram hipofluxo no vérmis de pacientes com AOPC, mas este estudo não menciona análise genética dos pacientes, que podem fazer parte de um grupo com AEC composto por diferentes genótipos. É possível observar novamente que o SPECT cerebral é mais sensível para identificar anormalidades corticais e cerebelares. Um exemplo disto são os pacientes 1 a 6, 10 e 12, que apresentam grau de hipoperfusão do vérmis mais acentuado que o grau de atrofia. Este, possivelmente, é o motivo pelo qual não houve correlação estatisticamente significativa entre os valores encontrados.

7.2.6. Ponte

Hipoperfusão discreta foi identificada na ponte sendo que na análise semiquantitativa não houve diferença estatisticamente significativa desta estrutura em relação ao grupo controle. Entretanto, a atrofia da ponte foi facilmente observada à análise visual na RM. A atrofia pontina está relacionada com lesões de diversas estruturas que ali se situam, como o *locus ceruleus*, os pedúnculos cerebelares superior e médio, os nervos trigêmeo, facial, vestibulo-coclear e os núcleos pontinos. A atrofia do tegmento pontino já foi observada em estudos de RM em pacientes com DMJ/AEC3 (LOPES-CENDES *et al.*, 1996b ; MURATA *et al.*, 1998). Estudos comparativos de RM e FDG em pacientes com DMJ/AEC3, mostraram atrofia da ponte e hipometabolismo do tronco cerebral, respectivamente (TANIWAKI *et al.*, 1997; SOONG *et al.*, 1997).

7.2.7. Núcleos da Base

Nos núcleos da base, notou-se hipoperfusão moderada na análise visual do SPECT cerebral. Entretanto, na análise semiquantitativa, notou-se somente alteração estatisticamente significativa nos núcleos da base à esquerda, em relação ao grupo controle. Esta alteração pode ser relevante, decorrente da lesão da substância negra causando deafferentação das vias aferentes e eferentes ao corpo do estriado. A redução da função do *striatum* foi identificada por YEN *et al.*, (2000), utilizando TRODAT- ^{99m}Tc e por

ISHIBASHI *et al.*, (1998), com iomazenil-¹²³I. TANIWAKI *et al.*, (1997), identificaram hipometabolismo de FD no putamen, sem haver atrofia concomitante, na RM, enquanto que SHINOTOH *et al.*, no mesmo ano, identificaram captação normal de RAC nos receptores D2 do *striatum* e captação variável de FD em pacientes com DMJ/AEC3. Estes traçadores apresentam mecanismos diferentes de captação devido à influência de diversos fatores e estes achados podem ser reflexo da degeneração difusa de neurônios da via nigroestriatal dopaminérgica.

No presente trabalho, a análise visual da RM não mostrou alterações de sinal ou estrutura dos núcleos da base, porém não foram realizadas medidas quantitativas de RM destas estruturas.

7.2.8. Giros do Cíngulo e Área Visual Primária

A porção anterior dos giros do cíngulo e a área visual primária foram normais nas análises visual e semiquantitativa em todos os pacientes com exceção do paciente 5, que apresentou hipoperfusão da área visual. Este paciente apresentava queixas de dificuldade visual desde a infância. Porém, não foi possível a realização de um exame neurooftalmológico detalhado uma vez que o paciente encontrava-se em estado avançado da doença. Alguns trabalhos (TANIWAKI *et al.*, 1997; SOONG *et al.*, 1997) relatam alterações metabólicas na região occipital, porém sem explicação de como e em que circunstâncias isto ocorreu.

7.2.9. Olivas Bulbares

A atrofia das olivas bulbares foi evidenciada à RM na maioria dos pacientes. A atrofia das olivas bulbares, apesar de descrita como um achado neuropatológico pouco característico da doença (TAKIYAMA *et al.*, 1994), tem sido evidenciada na RM em alguns estudos (HABERHAUSEN *et al.*, 1995; LOPES-CENDES *et al.*, 1996b).

Por limitação do método, as olivas bulbares não foram analisadas no SPECT cerebral.

7.3. CORRELAÇÃO ENTRE A DURAÇÃO DA DOENÇA, O TIPO CLÍNICO, SINAIS E SINTOMAS E O TAMANHO DA REPETIÇÃO CAG COM OS ACHADOS DO SPECT CEREBRAL E DA RM

7.3.1. A Duração da Doença

Notou-se uma tendência de relação inversa entre a duração da doença e a perfusão dos hemisférios cerebelares e o volume do vérmis. Estas alterações podem não ter sido significativas pela pequena casuística estudada. Foram avaliados o vérmis e os hemisférios cerebelares pois estas estruturas estão diretamente relacionadas com a ataxia de tronco e apendicular, respectivamente, que são as manifestações clínicas mais exuberantes deste grupo de pacientes estudados, bem como os mais precoces. Existe grande subjetividade na avaliação pelo paciente com relação ao momento exato do início de suas manifestações clínicas. Geralmente, os familiares relatam uma idade de início diferente daquele relatado pelo próprio paciente.

7.3.2. O Tipo Clínico

Não houve correlação entre o tipo clínico e as alterações do córtex cerebral e cerebelar à análise visual do SPECT cerebral e RM nos pacientes com DMJ/AEC3.

7.3.3. Sinais e Sintomas

Tentou-se identificar relação entre o grau de ataxia dos pacientes com DMJ/AEC3 com as alterações do vérmis e hemisférios cerebelares. A ataxia dos pacientes com DMJ/AEC3 é principalmente uma ataxia do tronco, havendo também manifestações de incoordenação apendicular, em menor intensidade. Apesar de não haver correlação significativa entre o grau de ataxia com as alterações perfusionais ou de volume dos hemisférios cerebelares ou do vérmis à análise visual, é possível notar que a hipoperfusão e a atrofia do vérmis têm uma tendência a se correlacionar com o grau de ataxia e são mais acentuadas que a hipoperfusão e atrofia dos hemisférios cerebelares, que têm menor

correlação com o grau de ataxia. Isto está de acordo com as alterações neuropatológicas em que a ataxia do tronco é mais acentuada que a apendicular. Os pacientes 2, 3, 4 e 6 apresentaram um grau de hipoperfusão do vérmis mais acentuado do que o grau de ataxia observado clinicamente. Além disso, o paciente 4 apresentou um grau de hipoperfusão maior que o grau da atrofia. Isto pode ser indício de alterações funcionais, pré-clínicas, que antecedem as alterações anatômicas. Estudos prospectivos serão necessários para confirmar estes achados.

Alterações pré-clínicas já foram identificadas em outros estudos de pacientes com DMJ/AEC3. Metabolismo anormal de FDG no vérmis, córtex cerebral e cerebelar foi encontrado em portadores assintomáticos do gene *MJD* (SOONG *et al.*, 1998). Os pacientes 5, 7, 8, 9 e 11 apresentaram hipoperfusão do vérmis menos acentuada ou da mesma intensidade que o grau de ataxia observado clinicamente, sendo que todos apresentavam ataxia grau 3 ou 4.

Este relato sugere que a partir de uma determinada gravidade clínica, o SPECT cerebral pode não ser capaz de graduar com precisão a intensidade de perda funcional nestas estruturas. O SPECT cerebral parece ser mais útil em estágios iniciais da doença, na identificação de alterações pré-clínicas e antes de as alterações anatômicas serem evidentes e eventualmente ser utilizado como uma ferramenta auxiliar que permite prognosticar a intensidade do acometimento cerebral destes pacientes.

No presente estudo, as síndromes piramidal e extrapiramidal foram relacionadas com a perfusão dos lobos frontais, temporais, parietais e núcleos da base pois são estruturas que possivelmente poderiam demonstrar estarem alterados já que se relacionam diretamente ou indiretamente com tais síndromes. Houve uma associação significativa entre a presença de síndrome extrapiramidal e a hipoperfusão do lobo parietal esquerdo e tal alteração provavelmente representa deafferentação desta área. Por outro lado, YEN *et al.* (2000) observaram hipocaptação de TRODAT-^{99m}Tc no *striatum* de 8/10 pacientes com DMJ/AEC3 dos quais somente dois apresentavam manifestações extra-piramidais. Esses autores não correlacionaram as manifestações extra-piramidais com alterações perfusionais em outras áreas do córtex cerebral.

7.3.4. O Tamanho da Repetição CAG

Houve uma tendência de correlação inversa entre o grau de atrofia dos hemisférios cerebelares e o tamanho da repetição CAG. Não houve correlação entre as alterações perfusionais dos córtices cerebral e cerebelar ou do volume do vérmis com o tamanho da repetição CAG. Com poucos pacientes estudados no presente trabalho, este trabalho não tem poder estatístico para demonstrar correlação entre estas variáveis. Não há outros estudos na literatura que correlacionem o tamanho da repetição CAG com os achados do SPECT cerebral com HMPAO-^{99m}Tc ou com os achados da RM.

SHINOTOH *et al.*, (1997), não observaram correlação entre os achados do PET com RAC em pacientes com DMJ/AEC3 com o fenótipo, tamanho da repetição CAG, duração ou início da doença. O estudo com FDG e PET em portadores assintomáticos do gene *MJD*, realizado por SOONG & LIU (1998), também não evidenciou correlação entre o hipometabolismo no tronco cerebral, hemisférios cerebelares e córtex cerebral com o tamanho da repetição CAG.

LOPES-CENDES *et al.*, (1997^a), notaram que a duração da doença pode explicar somente parte da variabilidade do tamanho da repetição CAG. Outros fatores, ainda não detectados, podem contribuir para explicar outra parte desta variabilidade. Estes mesmos fatores podem modular a gravidade das alterações perfusionais e volumétricas. Idealmente deveria ter sido realizada uma análise multivariada, onde outros fatores seriam incluídos. Entretanto, devido ao tamanho da casuística estudada, esta análise não foi possível.

7.4. O PAPEL DO SPECT CEREBRAL E DA RM EM PACIENTES COM DMJ/AEC3

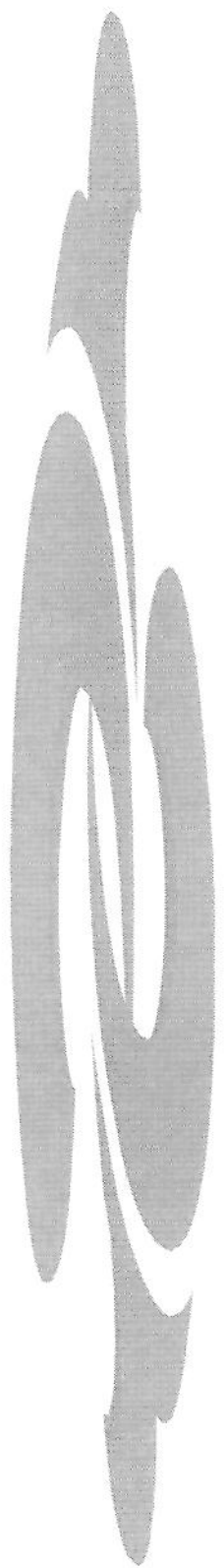
Apesar de TAKIYAMA *et al.*, (1994), descreverem, nos seus achados neuropatológicos, que o córtex cerebral quase nunca está afetado, é evidente que de fato ocorre lesão destas estruturas, como identificadas no SPECT cerebral e na RM dos pacientes do presente trabalho. Apesar da dificuldade de realizar exame neurológico em

pacientes com DMJ, é possível que um exame neurológico detalhado demonstre alterações cognitivas nestes pacientes estudados, justificando as alterações observadas no córtex cerebral. A descrição de ausência de alterações mentais em pacientes com DMJ, que sempre foi relatada em diversos trabalhos, deve ser revista, como já proposto por RADVANY *et al.*, (1993).

A medida do metabolismo regional é um método não invasivo capaz de identificar alterações subclínicas e um marcador objetivo de atividade da doença. A anormalidade genética pode produzir alterações anatômicas como a observada nos hemisférios cerebelares.

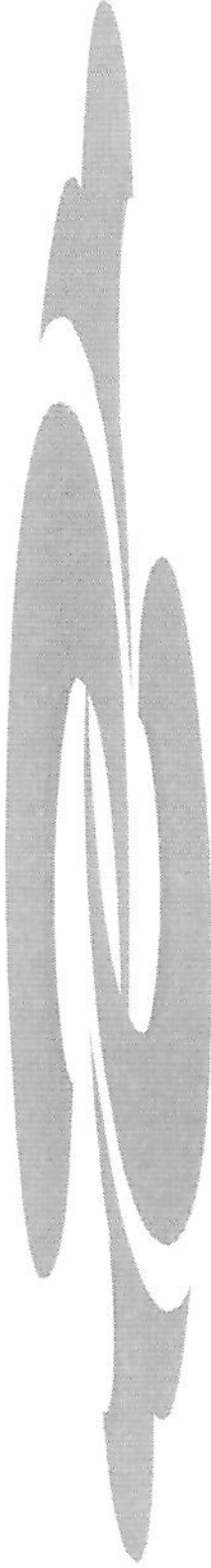
7.5. DIREÇÕES FUTURAS

Outros estudos utilizando o SPECT cerebral com HMPAO-^{99m}Tc e em uma casuística maior de pacientes com DMJ/AEC3 seriam importantes para testar o poder deste método em identificar alterações precocemente. Desta forma, este método poderia ser eventualmente utilizado para identificar pacientes adequados para intervenções terapêuticas, avaliar a resposta ao tratamento e verificar se este poderia deter ou retardar a doença antes de ocorrerem as manifestações clínicas.



8. CONCLUSÕES

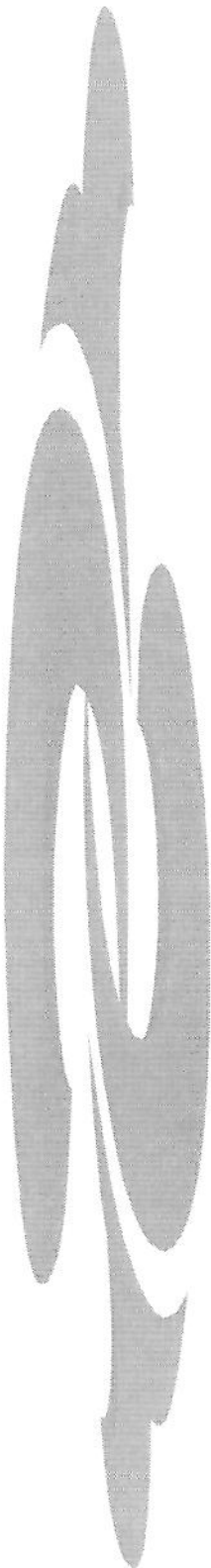
1. O SPECT cerebral e a RM demonstraram alterações perfusionais e estruturais no córtex cerebral e no cerebelo nos pacientes com DMJ/AEC3. Foi evidenciado acometimento dos lobos frontais, temporais, parietais, núcleos da base, vérmis, hemisférios cerebelares, ponte e olivas bulbares.
2. As alterações estruturais observadas no vérmis e no lobo parietal, foram concordantes com as alterações perfusionais nestas mesmas regiões. Por outro lado, as alterações perfusionais do vérmis e dos hemisférios cerebelares foram, em geral, mais acentuadas que a atrofia destas estruturas.
3. A síndrome cerebelar, nos pacientes com DMJ/AEC3, está relacionada com hipoperfusão e atrofia do vérmis e dos hemisférios cerebelares, bem como a síndrome extra-piramidal está relacionada com a hipoperfusão do lobo parietal esquerdo. Foi possível observar que a hipoperfusão dos hemisférios cerebelares e a atrofia do vérmis foram mais acentuadas nos pacientes com maior tempo de doença. As evidências indicam que as correlações entre tamanho da repetição CAG e atrofia do vérmis e hipoperfusão dos córtices cerebral e cerebelar não atingiram significado estatístico devido ao número de pacientes. No entanto, houve uma tendência para correlação entre atrofia dos hemisférios cerebelares e tamanho da repetição CAG.
4. A análise detalhada, qualitativa e semiquantitativa, do SPECT cerebral e RM permitiram a detecção de anormalidades sub-clínicas em pacientes com DMJ/AEC3. Os resultados deste trabalho serão importantes para a melhor compreensão das variáveis clínicas e neurobiológicas desta forma de doença neurodegenerativa.



9. SUMMARY

Machado-Joseph disease (MJD) is the most frequently encountered autosomal dominant spinocerebellar ataxia in Brazil and in most parts of the eastern world. There are no reports on brain SPECT imaging with ^{99m}Tc -HMPAO and magnetic resonance imaging (MRI) in patients with genetically proven MJD (MJD/SCA3). **Objectives :** The purpose of this report was to perform brain SPECT imaging with ^{99m}Tc -HMPAO and MRI to evaluate the cerebral structure and function of patients with MJD/SCA3 and to determine if there is correlation between the magnitude of the metabolic and structural abnormalities with the duration of the disease, signs and symptoms and the length of the expanded CAG repeat. **Materials and Methods:** Twelve patients with MJD/SCA3, 8 males, 4 females, ages ranging from 22 to 67 years, mean 39 years were studied. The patients were submitted to brain SPECT imaging and MRI on the same day. The control group for brain SPECT imaging consisted of 42 normal volunteers, 22 females, 20 males, ages ranging from 22 to 66 years, mean 32.6 years. The MRI control group consisted of 17 normal volunteers, 13 females, 4 males, ages ranging from 21 to 62 years, mean 32.2 years. Brain SPECT images were performed injecting ^{99m}Tc -HMPAO with patients resting in a dark, quiet room and images acquired in a gamma camera. Transaxial, coronal and sagittal images obtained were submitted to visual and semi-quantitative analysis. The thalami were used as a reference, with regions of interest being placed in the cerebral and cerebellar cortex. MRI images were obtained in a 2 Tesla system with coronal, sagittal, transaxial and 3D (volumetric) acquisitions. The cerebellar and vermis volumes were obtained. **Results :** There was a positive correlation between perfusion abnormalities identified by visual analysis in the brain SPECT images in the parietal lobes and vermis with the structural abnormalities on the MRI. Brain SPECT images identified, by visual analysis, more perfusion abnormalities in the inferior portion of the frontal lobes, mesial and lateral portions of the temporal lobes, basal ganglia, and cerebellar hemispheres. MRI identified more abnormalities in the pons and superior frontal lobes. Olives atrophy was identified by MRI. Semi-quantitative analysis showed a significant difference of perfusion in the inferior and superior frontal lobes, lateral temporal lobes, parietal lobes, left basal ganglia, cerebellar hemispheres and vermis when compared to the control group. There was a statistically significant difference between the vermis and cerebellar volumes when compared to the MRI control group. No significant difference was observed of the perfusion abnormalities or anatomical

abnormalities with the magnitude of the ataxia or clinical type. No significant correlation was observed between perfusion abnormalities in the vermis and volumetric abnormalities in the cerebellar hemispheres and the duration of the disease, however, there was a tendency towards an inverse relationship between cerebellar perfusion abnormalities and vermis volumetric abnormalities and the duration of the disease. There was a significant correlation between the presence of extra-pyramidal symptoms and perfusion of the left parietal lobe. No relationship was observed between the length of the expanded CAG repeat and the perfusion of the cerebral and cerebellar cortex or the volume of the vermis. There was a tendency towards an inverse relationship between the volume of the cerebellar hemispheres with the length of the expanded CAG repeat. **Conclusions** : Brain SPECT imaging with ^{99m}Tc -HMPAO and MRI were able to demonstrate perfusion and structural abnormalities in the cerebral and cerebellar cortices of patients with MJD/SCA3. Brain SPECT imaging and MRI are non-invasive methods capable of identifying sub-clinical abnormalities in these patients.



10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBEAU, A.; ROY, M.; CUNHA, L.; de VICENTE, A.N.; ROSENBERG, R.N.; NYHAN, W.L.; MacLEOD, P.L.; CHAZOT, G.; LANGSTON, L.B.; DAWSON, D.M.; COUTINHO, P. – The natural history of Machado-Joseph disease. An analysis of 138 personally examined cases. **Can J Neurol Sci**, 11: 510-525, 1984.
- BOTEZ, M.I.; LÉVILLÉ, J.; LAMBERT, R.; BOTEZ, T. – Single photon emission computed tomography (SPECT) in cerebellar disease: cerebello-cerebellar diaschisis. **Eur Neurol**, 31: 405-412, 1991.
- BURT, T.; CURRIE, B.; KILBURN, C.; LETHLEAN, A.K.; DEMPSEY, K.; BLAIR, I.; COHEN, A.; NICHOLSON, G. – Machado-Joseph disease in east Arnhem Land, Australia: chromosome 14q32.1 expanded repeat confirmed in four families. **Neurology**, 46: 1118-1122, 1996.
- COSTA, D.C. – The blood-brain barrier. In: MURRAY, I.P.C.; ELL, P.J., ed. **Nuclear Medicine in Clinical Diagnosis and Treatment**. New York, Churchill Livingstone, 1995, p 449-455.
- COUTINHO, P., ed – **Doença de Machado-Joseph. Estudo clínico e epidemiológico de uma doença neurológica de origem portuguesa**. Porto, Tipografia Nunes, 1994. 263p.
- COUTINHO, P. & ANDRADE, C. – Autosomal dominant system degeneration in portuguese families of the Azores Islands: a new genetic disorder involving cerebellar, pyramidal, extrapyramidal and spinal cord motor functions. **Neurology**, 28: 703-709, 1978.
- GILMAN, S.; KOEPPE, R.A.; JUNCK, L.; KLUIN, K.J.; LOHMAN, M. ST. LAURENT, R.T. – Patterns of cerebral glucose metabolism detected with positron emission tomography differ in multiple system atrophy and olivopontocerebellar atrophy. **Ann Neurol**, 36: 166-175, 1994.
- GILMAN, S.; ST. LAURENT, R.T.; KOEPPE, R.A.; JUNCK, L.; KLUIN, K.J.; LOHMAN, M. – A comparison of cerebral blood flow and glucose metabolism in olivopontocerebellar atrophy using PET. **Neurology**, 45: 1345-1352, 1995.

- GUO-XUANG, W. – Studies in a large Huang's Chinese family with Joseph disease. **J of China-Japan Friendship Hospital**, 4: 269, 1990.
- HASHIDA, H.; GOTO, J.; KURISAKI, H.; MIZUSAWA, H.; KANAZAWA, I. – Brain regional differences in the expansion of a CAG repeat in the spinocerebellar ataxias: dentatorubral-pallidoluysian atrophy, Machado-Joseph disease, and spinocerebellar ataxia type 1. **Ann Neurol**, 41 : 505-511, 1997.
- HABERHAUSEN, G.; DAMIAN, M.S.; LEWEKE, F.; MÜLLER, U. – Spinocerebellar ataxia, type 3 (SCA3) is genetically identical to Machado-Joseph disease. **J Neurol Sci**, 132: 71-75, 1995.
- HEALTON, E.B.; BRUST, J.C.M.; KERR, D.L.; RESOR, S.; PENN, A.; – Presumably Azorean disease in a presumably non-Portuguese family. **Neurology**, 30: 1084-1089, 1980.
- IKEDA, H.; YAMAGUCHI, M.; SUGAI, S.; AZE, Y.; NARUMIYA, S.; KAKIZUKA, A. – Expanded polyglutamine in the Machado-Joseph disease protein induces cell death in vitro and in vivo. **Nature Genet**, 13: 196-202, 1996.
- ISHIBASHI, M.; SAKAI, T.; MATSUSHI, T.; YONEKURA, Y.; YAMASHITA, Y.; ABE, T.; OHNISHI, Y.; HAYABUCHI, N. – Decreased benzodiazepine receptor binding in Machado-Joseph disease. **J Nucl Med**, 39: 1518-1520, 1998.
- JAIN, S. & MAHESHWARI, M.C. – Eight families with Joseph disease in India. **Neurology**, 40: 128-131, 1990.
- JAIN, S. & MAHESHWARI, M.C. – Joseph disease in India – report of two families. **J Neurogenet**, 3: 61-73, 1986.
- KAWAGUSHI, Y.; OKAMOTO, T.; TANIWAKI, M.; AIZAWA, M.; INOUE, M.; KATAYAMA, S.; KAWAKAMI, H.; NAKAMURA, S.; NISHIMURA, M.; AKIGUCHI, I.; KIMURA, J.; NARUMIYA, S.; KAKIZUKA, A. – CAG expansions in a novel gene from Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. **Nat Genet**, 8: 221-227, 1994.

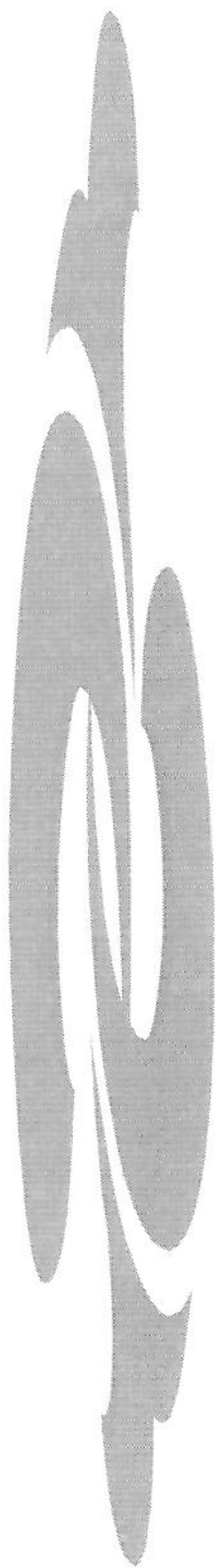
- LIMA, L. & COUTINHO, P. – Clinical criteria for diagnosis of Machado-Joseph disease: report of a non-Azorena Portuguese family. *Neurology*, **30**: 319-322, 1980.
- LOPES-CENDES, I.; MACIEL, P.; KISH, S.; GASPAR, C.; ROBITAILLE, Y.; CLARK, B.; KOEPPEN, A.H.; NANCE, M.; SCHUT, L.; SILVEIRA, I.; COUTINHO, P.; SEQUEIROS, J.; ROULEAU, G.A. – Somatic mosaicism in the central nervous system in spinocerebellar ataxia type I and Machado-Joseph disease. *Ann Neurol*, **40**: 199-206, 1996a.
- LOPES-CENDES, I.; SILVEIRA, I.; MACIEL, P.; GASPAR, C.; RADVANY, J.; CHITAYAT, D.; BABUL, R.; STEWART, J.; DOLLIVER, M.; ROBITAILLE, Y.; ROULEAU, G.A. – Limits of clinical assessment in the accurate diagnosis of Machado-Joseph disease. *Arch Neurol*, **53**: 1168-1174, 1996b.
- LOPES-CENDES, I.; TEIVE, H.G.A.; CARDOSO, F.; VIANA, E.K.; CALCAGNOTTO, M.E.; COSTA, J.C.; TREVISOL-BITTENCOURT, P.C.; MACIEL, J.A.; ROUSSEAU, M.; SANTOS, A.S.; ARAÚJO, A.Q.C.; ROULEAU, G.A. – Molecular characteristics of Machado-Joseph disease mutation in 25 newly described Brazilian families. *Brazilian Journal of Genetics*, **20**: 717-724, 1997a.
- LOPES-CENDES, I.; TEIVE, H.G.A.; CALCAGNOTTO, M.E.; COSTA, J.C.; CARDOSO, F.; VIANA, E.; MACIEL, J.A.; RADVANY, J.A.; ARRUDA, W.O.; TREVISOL-BITTENCOURT, P.C.; ROSA NETO, P.; SILVEIRA, I.; STEINER, C.E.; PINTO-JÚNIOR, W.; SANTOS, A.S.; CORREA NETO, Y.; WERNECK, L.C.; ARAÚJO, A.Q.C.; CARAKUSHANSKY, G.; MELLO, R.L.; JARDIM, L.B.; ROULEAU, G.A. – Frequency of the distant mutations causing spinocerebellar ataxia (*SCA1*, *SCA2*, *MJD/SCA3* and *DRPLA*) in a large group of Brazilian patients. *Arq Neuropsiquiatr*, **55**: 519-529, 1997b.
- MACIEL, P.; GASPAR, C.; DeSTEFANO, A.L.; SILVEIRA, I.; COUTINHO, P.; RADVANY, J.; DAWSON, D.M.; SUDARSKY, L.; GUIMARÃES, J.; LOUREIRO, J.E.L.; NEZARATI, M.M.; CORWIN, L.I.; LOPES-CENDES, I.; ROOKE, K.; ROSENBERG, R.; MacLEOD, P.; FARRER, L.A.; SEQUEIROS, J.; ROULEAU, G.A. – Correlation between CAG repeat length and clinical features in Machado-Joseph disease. *Am J Hum Genet*, **57**: 54-61, 1995.

- MACIEL, P.; LOPES-CENDES, I.; KISH, S.; SEQUEIROS, J.; ROULEAU, G.A. – Mosaicism of the CAG repeat in CNS tissue in relation to age at death in spinocerebellar ataxia type I and Machado-Joseph disease patients. **Am J Hum Genet**, **60**: 993-996, 1997.
- MORETTI, F.L. – Lipophilic tracers : the amines. In: MURRAY, I.P.C.; ELL, P.J., ed. - **Nuclear Medicine in Clinical Diagnosis and Treatment**. New York, Churchill Livingstone, 1995, p 457-464.
- MURATA, Y.; YAMAGUCHI, S.; KAWAKAMI, H.; IMON, Y.; MARUYAMA, H.; SAKAI, T.; KAZUTA, T.; OHTAKE, T.; NISHIMURA, M.; SAIDA, T.; CHIBA, S.; TAKEKAZU, O.; NAKAMURA, S. – Characteristic magnetic resonance imaging findings in Machado-Joseph disease. **Arch Neurol**, **55** : 33-37, 1998.
- NAKANO, K.K.; DAWSON, D.M.; SPENCE, A. – Machado Disease : a hereditary ataxia in Portuguese emigrants to Massachusetts. **Neurology**, **22**: 49-55, 1972.
- PAULSON, H.L.; DAS, S.S.; CRINO, P.B.; PEREZ, M.K.; PATEL, S.C.; GOTSDINER, D.; FISCHBECK, K.H.; PITTMAN, R.N. – Machado-Joseph disease gene product is a cytoplasmic protein widely expressed in brain. **Ann Neurol**, **41** : 453-462, 1997.
- RADVANY, J.; AVILA, J.O.; GABBAI, A.A.; BACHESCHI, L.A. – Doença de Machado-Joseph no Brasil: o relato das primeiras duas famílias. **Arq Neuropsiquiatr**, **46** (suppl 1): 46B, 1988.
- RADVANY, J.; CAMARGO, C.H.; COSTA, Z.M.; FONSECA, N.C.; NASCIMENTO, E.D. – Machado-Joseph disease of Azorean ancestry in Brazil: the Catarina kindred. Neurological, neuroimaging, psychiatric and neuropsychological findings in the largest known family, the "Catarina" kindred. **Arq Neuropsiquiatr**, **51** : 21-30, 1993.
- ROBITAILLE, Y.; LOPES-CENDES, I.; BECHER, M.; ROULEAU, G.; CLARK, A.W. – The neuropathology of CAG Repeat diseases: review and update of genetic and molecular features. **Brain Pathology**, **7** : 901-926, 1997.

- ROMANUL, F.C.A.; RADVANY, J.; FOWLER, H.L.; TARSEY, D. – Azorean disease of the central nervous system : report of six additional families. *Am Neurol Assoc*, **103**: 269-273, 1978.
- ROSENBERG, R.N. – Autosomal dominant cerebellar phenotypes : the genotype has settled the issue. *Neurology*, **45** : 1-5, 1995.
- ROSENBERG, R.N.; NYHAN, W.L.; BAY, C.; SHORE, P. – Autosomal dominant striatonigral degeneration. A clinical, pathologic and biochemical study of a new genetic disorder. *Neurology*, **26** : 703-714, 1976.
- SAKAI, T.; OHTA, M.; ISHINO, H. – Joseph disease in a non-Portuguese family. *Neurology*, **33** : 74-80, 1983.
- SCHÖLS, L.; VIEIRA-SAECKER, A.M.M.; SCHÖLS, S.; PRZUNTEK, H.; EPPLEN, J.T.; REISS, O. – Trinucleotide expansion within the MJD1 gene presents clinically as spinocerebellar ataxia and occurs most frequently in German SCA patients. *Hum Mol Genet*, **4** : 1001-1005, 1995.
- SCHRAG, A.; RINNE, J.O.; BURN, D.J.; MATHIAS, C.J.; MARSDEN, C.D.; BROOKS, D.J.; QUINN, N.P. – Olivopontocerebellar atrophy and multiple system atrophy : clinical follow-up of 10 patients studied with PET. *Ann Neurol*, **44** : 151-152, 1998.
- SHINOTOH, H.; THIESSEN, B.; SNOW, B.J.; HASHIMOTO, S.; MACLEOD, P.; SILVEIRA, I.; ROULEAU, G.A.; SCHULZER, M.; CALNE D.B. - Fluorodopa and raclopride PET analysis of patients with Machado-Joseph disease. *Neurology*, **49** : 1133-1136, 1997.
- SILVEIRA, I.; LOPES-CENDES, I.; KISH, S.; MACIEL, P.; GASPAR, C.; COUTINHO, P.; BOTEZ, M.I.; TEIVE, H.; ARRUDA, W.; STEINER, C.E.; PINTO-JUNIO, W.; MACIEL, J.A.; JAIN, S.; SACK, G.; ANDERMANN, E.; SUDARSKY, L.; ROSENBERG, R.; MacLEOD, P.; CHITAYAT, D.; BABUL, R.; SEQUEIROS, J.; ROULEAU, G.A. – Frequency of spinocerebellar ataxia type I, dentatorubropallidoluysian atrophy, and Machado-Joseph disease mutations in a large group of spinocerebellar ataxia patients. *Neurology*, **46** : 214-218, 1996.

- SNOW, B.J.; TOOYAMA, I.; McGEER, E.G.; YAMADA, T.; CALNE, D.B.; TAKAHASHI, H.; KIMURA, H. – Human positron emission tomographic [^{18}F] fluorodopa studies correlate with dopamine cell counts and levels. **Ann Neurology**, **34** : 324-330, 1993.
- SOBUE, G.; DOYU, M.; NAKAO, N.; SHIMADA, N.; MITSUMA, T.; MARUYAMA, H.; KAWAKAMI, S.; NAKAMURA, S. – Homozygosity for Machado-Joseph disease gene enhances phenotypic severity. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, **60**: 354-356, 1996.
- SOONG, B.W.; CHENG, C.; LIU, R.S.; SHAN, D. – Machado-Joseph disease: clinical, molecular and metabolic characterization in Chinese kindreds. **Ann Neurol**, **41**: 446-452, 1997.
- SOONG, B.W. & LIU, R.S. – Positron emission tomography in asymptomatic gene carriers of Machado-Joseph disease. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, **64**: 499-504, 1998.
- SPINELLA, G.M. & SHERIDAN, P.H. – Research initiatives on Machado-Joseph disease: National Institute of Neurological Disorders and Stroke Workshop summary. **Neurology**, **42** : 2048-2051, 1992.
- STEVANIN, G.; LE GUERN, E.; RAVISÉ, N.; CHNEIWEISS, H.; DÜRR, A.; CANCEL, G.; VIGNAL, A.; BOCH, A.L.; RUBERG, M.; PENET, C.; POTHIN, Y.; LAGROUA, I.; HAGUENAU, M.; RANCUREL, M.; WEISSENBAACH, J.; AGID, Y.; BRICE, A. – A third locus for autosomal dominant cerebellar ataxia type I maps to chromosome 14q24.3-qter: evidence for the existence of a fourth locus. **Am J Hum Genet**, **54** : 11-20, 1994.
- TAKAHASHI, N.; ODANO, I.; NISHIHARA, M.; YUASA, T.; SAKAI, K. – Regional cerebral blood flow measured with N-isopropyl-p-[123] iodoamphetamine single-photon emission tomography in patients with Joseph disease. **Eur J Nucl Med**, **21** : 615-620, 1994.

- TAKIYAMA, Y.; NISHIZAWA, M.; TANAKA, H.; KAWASHIMA, S.; SAKAMOTO, H.; KARUBE, Y.; SHIMAZAKI, H.; SOUTOME, M.; ENDO, K.; OHTA, S.; KAGAWA, Y.; KANAZAWA, I.; MIZUNO, Y.; YOSHIDA, M.; YUASA, T.; HORIKAWA, Y.; OYANAGUI, K.; KONDO, T.; INUZUKA, T.; ONODERA, O.; TSUJI, S. – The gene for Machado-Joseph disease maps to human chromosome 14q. *Nat Genet*, **4**: 300-304, 1993.
- TAKIYAMA, Y.; OYANAGUI, S.; KAWASHIMA, S.; SAKAMOTO, H.; SAITO, K.; YOSHIDA, M.; TSUJI, S.; MIZUNO, Y.; NISHIZAWA, M. – A clinical and pathologic study of a large Japanese family with Machado-Joseph disease tightly linked to the DNA markers on chromosome 14q. *Neurology*, **44**: 1302-1308, 1994.
- TANIWAKI, T.; SAKAI, T.; KOBAYASHI, T.; KUWABARA, Y.; OTSUKA, M.; ICHIYA, Y.; MASUDA, K.; GOTO, I. – Positron emission tomography (PET) in Machado-Joseph disease. *J Neurol Sci*, **145**: 63-67, 1997.
- TUITE, P.J.; ROGAEVA, E.A.; ST. GEORGE-HYSLOP, P.H.; LANG, A.E. – Dopa-responsive parkinsonism phenotype of Machado-Joseph disease : confirmation of 14q CAG expansion. *Ann Neurol*, **38** : 648-687, 1995.
- VERBRUGGEN, A.M. – Lipophilic tracers for the study of regional cerebral blood flow. In: MURRAY, I.P.C.; ELL, P.J., ed. *Nuclear Medicine in Clinical Diagnosis and Treatment*. New York, Churchill Livingstone, 1995, p 465-482.
- WOODS, B.T. & SCHAUMBURG, H.H. – Nigro-spino-dentatal Degeneration with Nuclear Ophtalmoplegia. *J Neurol Sci*, **17** : 149-166, 1972.
- YEN, T.; LU, C.; TZEN, K.; WEY, S.; CHOU, Y.W.; WENG, Y.; KAO, P.; TING, G. – Decreased dopamine transporter binding in Machado-Joseph disease *J Nucl Med*, **41**: 994-998, 2000.
- ZHOU, Y.X.; TAKIYAMA, Y.; IGARASHI, S.; LI, Y.F.; ZHOU, B.Y.; GUI, D.C.; ENDO, K.; TANAKA, H.; CHEN, Z.H.; ZHOU, L.S.; FAN, M.Z.; YANG, B.X.; WEISSENBAACH, J.; WANG, G.H.; TSUJI, S. – Machado-Joseph disease in four Chinese pedigrees: molecular analysis of 15 patients including two juvenile cases and clinical correlation. *Neurology*, **48**: 482-485, 1997.



11. ANEXOS E APÊNDICES



Título do projeto: Estudos Genéticos em Ataxias Espinocerebelares

Investigador principal: Dra. Iscia Lopes Cendes

OBJETIVO DA PESQUISA:

Eu entendo que fui convidado (a) a participar em um projeto de pesquisa envolvendo pacientes com ataxia espinocerebelar. O objetivo geral do estudo é o de determinar a frequência e as características moleculares das diferentes formas de ataxia espinocerebelar. Esses estudos poderão levar a identificação do defeito genético que causa a forma de ataxia da qual sou portador. Além de levantar dados que possibilitarão um conhecimento mais aprofundado das ataxias espinocerebelares. Tanto as amostras de DNA, de linhas celulares e a informação médica a meu respeito bem como a respeito de minha família que forem obtidas para esse estudo, poderão ser compartilhadas com outros pesquisadores que trabalham com ataxias espinocerebelares. Podendo assim ser utilizadas eventualmente para outros fins de pesquisa sobre as ataxias. O sigilo será mantido em todos os estudos colaborativos através da utilização de um número de código para a identificação dos indivíduos participantes.

PROCEDIMENTO:

Eu entendo que se concordar em participar desse estudo, os pesquisadores participantes farão perguntas a respeito dos meus antecedentes médicos e familiares. Eu serei submetido a um exame físico neurológico para confirmação do meu estado clínico. Além disso, poderei ser submetido a uma tomografia computadorizada ou uma ressonância magnética de crânio. Uma amostra de sangue venoso será colhida (20 a 30 ml, o equivalente a duas colheres de sopa). Hospitalização não será necessária. Os procedimentos mencionados acima, com exceção da coleta da amostra de sangue, fazem parte dos cuidados médicos de rotina para um paciente com ataxia. Os procedimentos mencionados acima serão realizados dentro do primeiro ano após o meu consentimento em participar no estudo, porém a pesquisa laboratorial utilizando as amostras de sangue poderão ser feitas durante um período máximo de 30 anos após a coleta. As células que por ventura forem isoladas do meu sangue serão preservadas para utilização durante todo o estudo e depois que ele se completar serão destruídas.

RISCO E DESCONFORTO:

Uma coleta de 20 a 30 ml de sangue venoso será efetuada. Os riscos associados a esse procedimento são mínimos, podendo ocorrer dor e manchas roxas (equimoses) no local da coleta do sangue. O desconforto será mínimo pois se trata de uma coleta de sangue geralmente da veia do braço que será realizada por profissional treinado e devidamente habilitado para realizar esse procedimento.



Título do projeto: Estudos Genéticos em Ataxias Espinocerebelares

Investigador principal: Dra. Iscia Lopes Cendes

VANTAGENS:

Eu entendo que não obterei nenhuma vantagem direta com a minha participação nesse estudo e que o meu diagnóstico e o meu tratamento provavelmente não serão modificados. Os resultados dos testes moleculares obtidos, serão disponíveis através do meu acompanhamento no Ambulatório de Neurogenética que funciona toda segunda-feira das 8:30 as 12:00hs no 2º andar do Hospital de Clínicas (HC) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), tel. (019) 788-8908. Esse Ambulatório oferece um atendimento multidisciplinar com a participação de geneticista clínico, neurologista, psicólogo(a), assistente social e fisioterapeuta. É importante salientar que qualquer membro da minha família que desejar obter orientação genética poderá ser atendido Ambulatório de Neurogenética do HC-UNICAMP.

SIGILO:

Eu entendo que toda informação médica, e os resultados dos testes genéticos decorrentes desse projeto de pesquisa, farão parte do meu prontuário médico e serão submetidos aos regulamentos do HC- UNICAMP referentes ao sigilo da informação médica.

Se os resultados ou informações fornecidas forem utilizados para fins de publicação científica, nenhum nome será utilizado.

FORNECIMENTO DE INFORMAÇÃO ADICIONAL:

Eu entendo que posso requisitar informações adicionais relativas ao estudo a qualquer momento. A Dra. Iscia Lopes Cendes, tel (019) 788-8907 estará disponível para responder minhas questões e preocupações. Em caso de recurso, dúvidas ou reclamações contactar a secretaria da comissão de ética da Faculdade de Ciências Médicas-UNICAMP, tel. (019) 788-7232.

RECUSA OU DESCONTINUAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO:

Eu entendo que a minha participação é voluntária e que eu posso me recusar a participar ou retirar meu consentimento e interromper a minha participação no estudo a qualquer momento (incluindo a retirada da amostra de sangue) sem comprometer os cuidados médicos que recebo atualmente ou receberei no futuro no HC- UNICAMP. Eu reconheço também que a Dra. Iscia Lopes Cendes pode interromper a minha participação nesse estudo a qualquer momento que julgar apropriado.



Universidade Estadual de Campinas
Departamento de Genética Médica

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO PARA PESQUISA MÉDICA, Página 3 de 3

Título do projeto: Estudos Genéticos em Ataxias Espinocerebelares

Investigador principal: Dra. Iscia Lopes Cendes

Eu confirmo que o(a) Dr(a). _____
me explicou o objetivo do estudo, os procedimentos aos quais serei submetido e os riscos,
desconforto e possíveis vantagens advindas desse projeto de pesquisa. Eu li e/ou me foi
explicado, assim como compreendi esse formulário de consentimento e estou de pleno acordo em
participar desse estudo.

Nome do participante ou responsável

Assinatura do participante ou responsável

data

Nome da testemunha

Assinatura da testemunha

data

RESPONSABILIDADE DO PESQUISADOR:

Eu expliquei a _____
o objetivo do estudo, os procedimentos requeridos e os possíveis riscos e vantagens que poderão
advir do estudo, usando o melhor do meu conhecimento. Eu me comprometo a fornecer uma
cópia desse formulário de consentimento ao participante ou responsável.

Nome do pesquisador ou associado

Assinatura do pesquisador ou associado

data

Faculdade de Ciências Médicas - Cidade Universitária "Zeferino Vaz" - Distrito de Barão Geraldo -
Campinas - SP - Brasil - CEP 13081-970 - C. P. 6111 - Fone (019) 788-8210 - FAX: (019) 239-3114

**SERVIÇO DE MEDICINA NUCLEAR
DO DEPARTAMENTO DE RADIOLOGIA**

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO PARA PESQUISA MÉDICA

Título do Projeto: Avaliação da Função Cerebral com SPECT Cerebral e Ressonância Magnética nas Ataxias Espinocerebelares Autossômicas Dominantes

Investigador(a) Principal: Dra. Elba Cristina Sá de Camargo Etchebehere

Objetivo da Pesquisa:

Eu entendo que fui convidado(a) a participar de um projeto de pesquisa envolvendo pacientes com ataxia espinocerebelar. O objetivo geral deste estudo é de avaliar as diferentes características perfusionais e neuronais nas diversas formas de ataxia espinocerebelar. Esses estudos poderão levar a identificação de alterações cerebrais tanto anatômicas quanto funcionais ligadas à doença da qual sou portador(a), além de possibilitar um conhecimento mais aprofundado das ataxias espinocerebelares. Os estudos de neuroimagem e a informação médica a meu respeito bem como a respeito da minha família que forem obtidas para este estudo poderão ser compartilhadas com outros pesquisadores que trabalham com ataxias espinocerebelares, podendo assim serem utilizadas para outros fins de pesquisa sobre ataxias. O sigilo será mantido em todos os estudos colaborativos através da utilização de um código para a identificação dos indivíduos participantes.

Procedimento:

Eu entendo que se concordar em participar do estudo, os pesquisadores participantes poderão fazer perguntas a respeito dos meus antecedentes médicos e familiares. Serei submetido(a) a uma cintilografia de perfusão cerebral (SPECT cerebral) e a uma ressonância magnética.

O procedimento do SPECT cerebral é semelhante ao de uma tomografia computadorizada de crânio. Eu fui informado(a) que serei colocado(a) em uma maca, em repouso, em um ambiente de pouca luminosidade e ruídos e receberei uma punção venosa no braço para obter uma via de acesso venoso onde será conectado um frasco contendo soro fisiológico. Após 15 minutos em repouso receberei uma pequena quantidade de material radioativo, denominado CERETEC, por esta via de acesso venoso.

Em seguida, serei colocado(a) em outra maca e serei movido(a) lentamente para o aparelho (gama câmara) que fará as imagens cintilográficas da perfusão cerebral.

Durante todo o estudo o pessoal médico e paramédico estará no mesmo ambiente e eu poderei ser removido(a) se for preciso. As imagens podem durar de 20 a 40 minutos.

O procedimento da ressonância magnética também é semelhante ao de uma tomografia computadorizada de crânio. Eu fui informado(a) que serei colocado(a) em uma maca e serei movido(a) lentamente para dentro do aparelho de ressonância magnética. Um alto falante dentro do campo magnético possibilita a minha constante comunicação com as pessoas responsáveis pelo exame. Durante todo o tempo o pessoal médico e paramédico pode me ver e ouvir, e eu posso ser removido(a) se for preciso. O procedimento pode durar entre 45 a 90 minutos. Durante a primeira parte do exame irei ouvir ruídos por alguns minutos enquanto o aparelho faz as imagens do meu cérebro. O restante do exame será relativamente silêncio.

Risco e Desconforto :

Para o exame de SPECT cerebral não é necessário jejum. O único desconforto será o de uma punção venosa. Os riscos associados a esse procedimento são mínimos, podendo ocorrer dor e manchas roxas no local da punção. O desconforto será mínimo pois se trata de uma punção realizada por profissionais treinados e habilitados para realizar este procedimento. Ainda no exame de SPECT cerebral, haverá a injeção de pequena quantidade de material radioativo. Não existem efeitos nocivos descritos associados com o SPECT cerebral dentro das condições utilizadas atualmente. As imagens da função cerebral são obtidas graças à transformação dos raios gama pelo cristal em um computador.

No exame de ressonância magnética, o único desconforto é o ruído intermitente durante os primeiros 15 minutos do exame. Depois disto o ruído será muito menor. O

pessoal técnico providenciará tapa-ouvidos para me deixar mais confortável. As imagens são obtidas graças a um campo magnético, um transmissor e um receptor de ondas de radio e um computador que é utilizado para obter as informações da anatomia interna. Não existem efeitos nocivos associados com a ressonância magnética dentro das condições utilizadas atualmente. **REQUERIMENTO:** É muito importante informar aos médicos e técnicos caso eu tenha um marca-passo cardíaco, um clipe de cirurgia para aneurisma cerebral ou qualquer outro objeto em meu corpo, que tenha sido implantado durante cirurgia ou alojado durante um acidente pois estes podem parar de funcionar ou causar acidentes devido ao forte campo magnético que funciona como imã muito forte. Eu também devo remover todos os objetos metálicos que estiverem comigo (relógios, canetas, brincos, colares, anéis, etc.) pois estes também podem se movimentar ou aquecer dentro do campo magnético.

Vantagens:

Eu entendo que posso ou não obter vantagens com a minha participação nesse estudo e que o meu diagnóstico e tratamento provavelmente não serão modificados. Os resultados destes exames serão disponíveis através do meu acompanhamento no ambulatório de Neurogenética que funciona toda a segunda-feira das 9:00 às 12:30hs no 2º andar do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), tel. (019) 788 8908. O resultado do SPECT cerebral também estará disponível no Serviço de Medicina Nuclear e o da Ressonância Magnética no Departamento de Radiologia do HC-UNICAMP. Ambos funcionam de segunda a sexta das 8:00 às 18:00hs. É importante salientar que qualquer membro de minha família que desejar realizar estudos de SPECT cerebral e Ressonância Magnética poderão fazê-lo após a obtenção de orientação genética no ambulatório de neurogenética de HC-UNICAMP.

Sigilo:

Eu entendo que toda a informação médica, os resultados dos testes genéticos e de neuroimagem (SPECT cerebral e Ressonância Nuclear Magnética) decorrentes deste projeto de pesquisa farão parte do meu prontuário médico e serão submetidos aos regulamentos do HC-UNICAMP referentes ao sigilo de informação médica. Se os

resultados ou informações fornecidas forem utilizados para fins de publicação científica, nenhum nome será utilizado.

Fornecimento de Informação Adicional:

Eu entendo que posso requisitar informações adicionais relativas aos estudos de neuroimagem a qualquer momento. A Dra. Elba Cristina Sá de Camargo Etchebehere, tel (019) 788 7772 ou (019) 236 1166 #1904636 estará disponível para responder minhas questões e preocupações. Em caso de recurso, dúvidas ou reclamações contatar a secretaria da Comissão de Ética da Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP, tel (019) 788 7232.

Recusa ou Descontinuação da Participação:

Eu entendo que a minha participação é voluntária e que posso me recusar a participar ou retirar meu consentimento e interromper a minha participação no estudo a qualquer momento sem comprometer os cuidados médicos que recebo atualmente ou receberei no futuro no HC-UNICAMP. Eu reconheço também que a Dra. Elba Cristina Sá de Camargo Etchebehere pode interromper a minha participação nesse estudo a qualquer momento que julgar apropriado.

Eu confirmo que o Dr(a). _____
me explicou o objetivo do estudo, os procedimentos aos quais serei submetido(a) e riscos, desconforto e possíveis vantagens advindas desse projeto de pesquisa. Eu li e/ou me foi explicado, assim como compreendi esse formulário de consentimento e estou de pleno acordo em participar deste estudo.

Nome do participante ou responsável

Assinatura do participante ou responsável

Data

Nome da Testemunha

Assinatura da Testemunha

Data

Responsabilidade do Pesquisador:

Eu expliquei a(o) _____
o objetivo do estudo, os procedimentos requeridos e os possíveis riscos e vantagens que
poderão advir do estudo, usando o melhor do meu conhecimento. Eu me comprometo a
fornecer uma cópia desse formulário de consentimento ao participante ou responsável.

Nome do Pesquisador ou associado

Assinatura do Pesquisador ou associado

Data

ANEXO 3 – Valores obtidos nas análises visuais dos córtices cerebral e cerebelar no SPECT cerebral e na RM dos pacientes DMJ/AEC3

Pac	FI		FS		TL		TM		P		C		VE		PO		NB		OL
	SC	RM	SC	RM	SC	RM	SC	RM	SC	RM	SC	RM	SC	RM	SC	RM	SC	RM	
1	2	1	2	2	2	1	2	1	2	2	3	2	3	3	1	2	2	2	2
2	2	1	1	2	1	1	1	1	2	2	3	2	3	3	3	2	2	2	2
3	2	1	1	2	1	1	1	1	2	3	1	2	3	3	1	2	1	1	1
4	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	2	1	1
5♦	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	2	4	4	1	2	1	2	2
6	2	1	1	1	2	1	2	1	1	1	3	1	2	2	1	1	2	1	1
7	1	1	1	2	1	1	1	1	2	2	1	2	3	3	1	2	1	2	2
8	2	1	2	1	1	1	1	1	2	1	2	2	3	3	1	3	2	2	4
9	3	2	3	3	3	2	3	2	2	3	3	3	3	4	2	4	2	3	3
10	2	1	2	2	1	1	1	1	2	2	2	1	2	2	1	1	1	1	1
11	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2	2	1	1	2	1	1
12	2	1	1	2	1	1	1	1	2	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2

1 = Perfusão ou volume normais ou discretamente alterados ; 2 = Perfusão ou volume discretamente a moderadamente alterados ; 3 = Perfusão ou volume moderadamente a acentuadamente alterados ; 4 = Perfusão ou volume acentuadamente alterados. Pac. = paciente ; SC = SPECT cerebral; FI = frontal inferior, FS = frontal superior, TL = temporal lateral, TM = temporal medial, P = parietal, C = cerebelo, VE = vérmis, PO = ponte, NB = núcleos da base, OL = olivas ; ♦ = hipoperfusão no córtex visual.

ANEXO 4- SPECT cerebral semiquantitativo do grupo-controle

Controle	SEXO	IDADE	FID	FIE	FSD	FSE	TLD	TLE	TMD	TME
1	F	25	1,02	0,93	1,08	0,96	0,97	0,94	0,90	0,89
2	F	25	0,99	0,90	0,96	0,94	0,99	0,97	0,73	0,76
3	F	27	1,09	1,04	1,10	1,03	1,15	0,96	0,90	0,88
4	M	26	0,83	0,82	0,90	0,89	0,74	0,70	0,80	0,82
5	F	32	1,06	1,07	1,10	1,09	1,08	1,03	0,87	0,86
6	M	26	1,02	0,99	1,04	1,02	0,99	0,94	0,83	0,90
7	M	25	0,92	0,84	0,95	0,95	0,91	0,89	0,78	0,78
8	M	25	1,10	1,07	1,11	1,13	1,01	1,02	0,86	0,81
9	F	29	1,03	0,93	1,05	0,99	1,11	1,06	0,87	0,86
10	M	27	0,92	0,98	1,08	0,99	0,93	0,87	0,87	0,93
11	F	26	0,83	0,90	0,89	0,96	0,78	0,79	0,72	0,71
12	F	66	0,96	0,88	0,91	0,89	1,09	0,93	0,71	0,76
13	F	26	0,89	0,92	0,97	0,90	0,95	0,86	0,76	0,81
14	M	27	1,04	0,97	1,03	1,00	1,08	1,13	0,89	0,94
15	F	42	0,94	0,91	0,94	0,94	0,95	0,97	0,85	0,87
16	F	29	0,99	0,96	1,03	0,96	1,01	0,98	0,93	0,96
17	F	34	1,01	1,05	1,01	1,02	1,07	1,01	0,97	0,96
18	M	27	0,84	0,84	0,87	0,91	0,89	0,86	0,76	0,83
19	M	30	0,92	0,80	0,92	0,97	0,91	0,85	0,85	0,80
20	M	25	0,89	0,86	1,02	0,99	0,97	0,86	0,77	0,77
21	M	47	0,81	0,85	0,82	0,90	0,84	0,85	0,80	0,75
22	F	44	1,05	1,04	0,98	1,03	1,02	1,03	0,85	0,91
23	F	22	0,91	0,97	1,02	1,00	0,95	0,90	0,83	0,83
24	F	31	1,00	0,99	1,00	0,91	0,85	0,89	0,86	0,76
25	M	26	0,90	0,88	0,92	0,95	0,88	0,84	0,84	0,89
26	F	29	1,02	1,08	1,00	1,10	0,95	1,09	0,88	0,96
27	M	26	1,05	1,03	1,04	1,04	1,07	0,98	0,87	0,97
28	M	26	0,90	0,87	0,88	0,91	0,95	0,89	0,92	0,86
29	F	31	0,98	0,93	1,05	0,96	0,98	0,92	0,82	0,84
30	F	42	0,88	0,81	0,88	0,86	0,95	0,83	0,99	0,91
31	F	44	0,88	0,90	0,81	0,82	0,93	0,90	0,68	0,87
32	M	32	0,85	0,91	0,92	0,92	0,87	0,83	0,88	0,78
33	M	26	0,94	0,96	0,93	0,97	0,91	0,90	0,89	0,82
34	M	27	0,93	1,01	0,97	1,00	0,94	0,88	0,75	0,80
35	M	25	0,82	0,77	0,92	0,83	0,89	0,83	0,77	0,78
36	F	27	0,91	0,96	0,95	1,05	1,02	0,92	0,97	0,89
37	F	32	0,98	0,86	0,93	0,97	0,98	0,79	0,87	0,81
38	M	28	1,01	0,93	1,08	1,02	1,05	1,00	0,83	0,86
39	M	47	0,84	0,80	0,85	0,82	0,87	0,79	0,81	0,79
40	F	30	1,06	0,97	1,04	1,06	1,03	1,07	0,90	0,85
41	M	64	0,89	0,89	1,02	1,00	0,92	0,88	0,79	0,75
42	F	66	0,92	0,91	1,01	0,95	0,95	0,92	0,80	0,74

Continuação: SPECT cerebral semiquantitativo do grupo-controle

Controle	PD	PE	CD	CE	NBD	NBE	GC	AV	VE	Ponte
1	0,87	0,90	1,18	1,19	1,02	1,00	1,06	1,00	1,11	0,93
2	0,90	0,91	1,10	1,10	0,99	1,05	1,14	1,06	1,00	0,92
3	1,01	1,03	1,22	1,22	1,07	1,12	1,10	0,97	1,18	1,04
4	0,74	0,83	1,01	0,96	0,98	0,96	0,97	0,80	0,99	0,91
5	1,11	1,09	1,24	1,21	0,97	1,06	1,14	1,18	1,24	0,96
6	1,01	0,91	1,01	1,10	1,12	1,06	1,06	0,97	1,12	1,04
7	0,85	0,98	0,97	0,91	0,94	0,99	0,91	0,89	1,05	1,04
8	1,03	1,04	1,11	1,10	1,08	1,07	1,16	1,10	1,14	1,18
9	1,02	1,03	1,12	1,10	1,12	1,13	1,02	1,18	1,12	0,80
10	0,92	0,90	1,12	1,05	1,11	0,97	1,05	1,00	1,02	0,93
11	0,75	0,78	0,95	0,94	0,89	0,91	1,01	0,90	0,94	0,88
12	1,03	1,02	1,39	1,32	0,98	1,04	0,92	1,18	1,28	1,03
13	0,79	0,83	1,01	0,99	0,93	0,99	0,98	0,95	1,00	0,93
14	1,03	1,03	1,17	1,10	1,16	1,12	1,12	1,08	1,17	1,14
15	0,89	0,89	1,07	1,03	1,06	1,04	1,03	0,98	1,11	0,99
16	0,95	0,90	1,17	1,11	1,12	1,08	1,01	1,05	1,10	0,99
17	0,94	0,93	1,08	1,14	1,04	1,07	1,20	0,90	1,14	1,11
18	0,81	0,86	0,97	0,98	0,92	0,97	0,97	0,94	1,03	1,01
19	0,88	0,84	1,19	1,05	1,02	0,98	0,89	0,98	1,03	1,09
20	0,94	0,91	1,05	1,00	1,03	1,03	1,03	1,00	1,14	0,97
21	0,83	0,80	0,90	1,02	0,97	1,00	0,93	1,01	0,86	0,84
22	1,00	0,99	1,06	1,03	1,00	1,05	1,02	1,09	1,11	0,98
23	1,01	0,94	1,04	1,09	1,08	1,08	1,02	0,97	1,04	1,02
24	0,93	0,88	1,00	0,97	1,05	0,98	1,09	1,00	0,98	0,99
25	0,79	0,73	1,04	1,11	0,97	1,05	1,07	0,88	0,97	0,89
26	0,98	1,01	1,10	1,08	1,08	0,97	1,04	1,05	1,21	1,05
27	1,07	1,00	1,23	1,21	1,13	1,11	1,11	1,11	1,24	1,06
28	0,97	0,97	1,11	1,05	1,05	1,09	1,03	1,02	1,02	0,91
29	0,93	0,89	1,01	1,02	1,04	1,07	1,09	1,01	1,08	1,04
30	0,87	0,90	1,02	0,98	0,98	1,00	0,94	0,95	0,96	0,81
31	0,89	0,89	1,05	1,05	1,03	1,00	0,97	1,05	1,00	0,88
32	0,75	0,76	0,97	0,96	0,91	0,93	0,92	0,91	1,02	0,90
33	0,87	0,85	1,02	1,13	1,07	1,04	1,07	0,96	1,08	0,95
34	0,87	0,81	1,12	1,10	1,04	1,10	1,08	0,96	1,15	1,15
35	0,85	0,84	1,01	1,04	0,94	1,01	0,89	0,95	1,10	1,01
36	0,98	0,92	1,18	1,13	1,09	1,03	1,08	1,06	1,17	0,99
37	0,98	0,90	1,09	1,04	1,01	1,07	1,01	1,00	1,01	0,89
38	0,98	0,83	1,07	1,00	1,09	1,08	1,14	0,97	1,05	0,98
39	0,82	0,86	1,00	0,97	1,10	0,90	0,88	1,00	1,01	0,73
40	0,92	0,95	1,08	1,10	1,09	0,95	1,13	1,06	1,04	1,02
41	0,91	0,89	1,19	1,12	1,04	0,99	1,08	1,26	1,14	1,20
42	0,96	0,92	1,22	1,18	1,08	1,10	1,03	1,06	1,13	1,00

F = feminino, M = masculino, D = direito, E = esquerdo, FI = porção inferior dos lobos frontais, FS = porção superior dos lobos frontais, TL = porção lateral dos lobos temporais, TM = porção mesial dos lobos temporais, P = parietal, C = cerebelo, NB = núcleos da base, GC = giros do cíngulo, AV = área visual, VE = vérmis.

ANEXO 5 - SPECT cerebral semiquantitativo dos pacientes.

Paciente	FID	FIE	FSD	FSE	TLD	TLE	TMD	TME	GC
1	0,83	0,85	0,91	0,89	0,88	0,73	0,86	0,90	1,02
2	0,75	0,75	0,82	0,77	0,84	0,87	0,82	0,81	0,97
3	0,87	0,79	0,84	0,78	0,97	0,87	0,86	0,75	1,02
4	0,86	0,94	0,94	0,99	1,02	0,92	0,96	0,92	1,09
5	1,05	1,02	1,00	0,98	0,98	0,98	0,83	0,81	1,13
6	0,87	0,81	0,88	0,88	0,88	0,68	0,79	0,77	0,99
7	0,84	0,84	0,88	0,86	0,93	0,84	0,82	0,90	0,99
8	0,82	0,86	0,86	0,86	0,86	0,84	0,81	0,82	0,96
9	0,65	0,67	0,81	0,80	0,80	0,67	0,95	0,71	0,92
10	0,86	0,84	0,87	0,86	0,95	0,83	0,91	0,91	0,96
11	0,83	0,78	0,89	0,89	0,82	0,83	0,82	0,75	1,02
12	0,77	0,72	0,84	0,80	0,83	0,85	0,75	0,76	0,92

Paciente	PD	PE	CD	CE	NBD	NBE	AV	VE	PO
1	0,74	0,78	0,92	0,86	1,09	1,07	1,09	0,74	0,93
2	0,78	0,76	0,85	0,85	0,85	0,86	1,04	0,82	0,85
3	0,73	0,74	1,00	1,04	1,04	0,97	1,06	0,72	1,10
4	0,94	0,94	1,05	1,05	1,00	1,00	1,00	0,94	0,99
5	0,60	0,65	0,97	0,97	1,14	1,09	0,64	0,72	1,06
6	0,89	0,84	1,03	1,02	0,89	0,92	0,98	0,77	0,93
7	0,75	0,74	0,94	0,98	1,04	0,93	0,96	0,84	1,02
8	0,72	0,72	0,92	0,84	1,06	0,92	0,92	0,86	0,76
9	0,61	0,62	0,88	0,64	1,03	1,00	1,01	0,69	0,81
10	0,71	0,70	0,92	0,95	1,02	0,99	1,04	0,70	1,06
11	0,74	0,76	0,95	0,94	1,04	1,07	1,04	0,85	0,78
12	0,71	0,76	0,92	0,90	0,78	0,85	0,92	0,74	0,75

D = direito , E = esquerdo, FI = porção inferior dos lobos frontais, FS = porção superior dos lobos frontais,

TL = porção lateral dos lobos temporais, TM = porção mesial dos lobos temporais, P = parietal, C =

cerebelo, NB = núcleos da base, GC = giros do cíngulo, AV = área visual, VE= vérmis, PO = ponte.

ANEXO 6 – Volumes do vérmis e do cerebelo do grupo-controle obtidos pela RM.

Grupo Controle	Sexo	Idade	Volume (cm ³)	
			Vérmis	Cerebelo
1	M	25	16,65	155,27
2	F	27	17,56	141,78
3	F	62	14,73	108,00
4	F	26	14,66	131,60
5	M	35	15,48	139,59
6	F	34	15,08	141,13
7	F	24	12,31	125,38
8	F	23	16,71	148,89
9	M	24	15,32	153,03
10	F	35	14,59	139,42
11	F	52	13,76	133,46
12	F	27	13,84	132,63
13	F	21	13,90	146,77
14	F	30	15,15	123,30
15	M	22	13,93	157,68
16	F	52	15,06	124,96
17	F	29	14,59	103,06
Média	-----	32,2	14,90	135,64
Desvio-padrão	-----	12,0	1,26	15,41
Mediana	-----		14,73	139,42

ANEXO 7– Volumes do vérmis e do cerebelo dos pacientes obtidos pela RM.

Paciente	Volume (cm ³)	
	Vérmis	Cerebelo
1	12,96	106,49
2	12,72	104,60
3	12,58	115,17
4	16,68	123,09
5	12,46	128,31
6	13,85	126,12
7	11,14	114,49
8	11,56	129,10
9	10,24	98,57
10	15,40	128,47
11	11,00	102,97
12	13,75	121,05
Média	12,86	116,54
Desvio-padrão	1,86	11,08
Mediana	12,65	118,11



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

✉ Caixa Postal 6111
13083-970 Campinas-S.P.
☎ (019) 289.3749 ou 7232
(019) 289.3114 fax
🌐 barbie@turing.unicamp.br

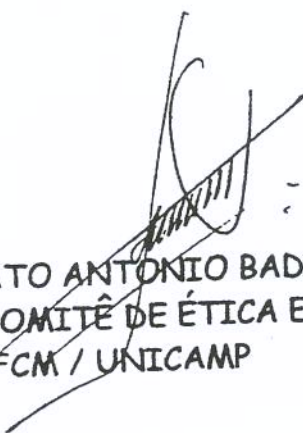
PARECER: Nº 055/98

PESQUISA: DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA E DAS CARACTERÍSTICAS
MOLECULARES DAS MUTAÇÕES RESPONSÁVEIS PELAS ATAXIAS
ESPINOCEREBELARES

PESQUISADOR: Dra. Iscia Lopes Cendes

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores, aprova a pesquisa supracitada bem como o Consentimento Pós-Informação por estarem contempladas as Resoluções 196/96 e 251/97.

CEP/FCM, 25/06/98


Prof. Dr. FORTUNATO ANTONIO BADAN PALHARES
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP



**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

☒ Caixa Postal 6111
13083-970 Campinas-S.P.

☎ (019) 7888936

fax (019) 7888925

☒ cep@head.fcm.unicamp.br

PARECER: N° 072/99

**P. DE PESQUISA: SPECT CEREBRAL E RESSONÂNCIA NUCLEAR MAGNÉTICA NAS
ATAXIAS ESPINOCEREBELARES**

PESQUISADOR: Elba Cristina de Sá de Camargo Etchebehere

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e 251/97, bem como ter aprovado os termos do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

Homologado na VI Reunião Ordinária do CEP em 13/julho/1999


Prof. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo
1ª SECRETÁRIA do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP